



# ENEPEX

ENCONTRO DE ENSINO,  
PESQUISA E EXTENSÃO

8° ENEPE UFGD • 5° EPEX UEMS

## INFECTIVIDADE E REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne javanica* EM PLÂNTULAS DE SOJA ORIUNDAS DE SEMENTES TRATADAS

**Rodrigo Keiti Arakava<sup>1</sup>; Walber Luiz Gavassoni<sup>2</sup>; Cassia de Carvalho<sup>3</sup>; Jefferson de Oliveira Barizon<sup>1</sup>; Bruno César Alvaro Pontim; Tatiane Sanches Jeromini<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Graduando em Agronomia UFGD, Bolsista PIBIC/CNPq, e-mail: arakava@hotmail.com; <sup>2</sup>Orientador, Professor Associado FCA/UFGD, e-mail: walbergavassoni@ufgd.edu.br; <sup>3</sup>Doutorando em Produção Vegetal

### RESUMO

O gênero *Meloidogyne*, denominado nematoide das galhas, é causador de danos em diversas culturas. Na cultura da soja a espécie *M. javanica* é a mais disseminada em áreas do Brasil Central. Neste trabalho foi avaliada a eficácia de produtos utilizados em tratamento de sementes de soja na infectividade e reprodução de *M. javanica*. O experimento foi conduzido no Laboratório de Microbiologia Agrícola e Fitopatologia da Universidade Federal da Grande Dourados. Foram utilizadas sementes de soja cultivar BMX Magna RR ‘Don Mario 7.0i’, seis tratamentos, sendo estes, uma testemunha e cinco produtos comerciais, Avicta Completo<sup>®</sup>, Poncho<sup>®</sup>, Poncho/Votivo<sup>®</sup>, Standak Top<sup>®</sup> e Cropstar<sup>®</sup>. Cem sementes de soja de cada tratamento foram mantidas por 24h em funis contendo 400 g de areia fina e umedecida. Nas 24h seguintes foi recolhida a solução de cada tratamento. Juvenis infectivos e ovos de *M. javanica*, separadamente, foram então transferidos para a solução do exsudato obtido da exposição das sementes tratadas por um período de 24h. Plantas de soja foram inoculadas com 5.000 ovos ou com 2.500 juvenis infectivos e mantidas em casa de vegetação por 76 dias. Procedeu-se a extração dos ovos e calculou-se o fator de reprodução. Avicta Completo<sup>®</sup>, Poncho<sup>®</sup> e Poncho Votivo<sup>®</sup> apresentaram efeito sobre os dois tipos de inoculo utilizados e afetou supressivamente a reprodução do nematóide.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Glycine max*, nematoide das galhas, tratamento de sementes.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de soja, com produção de 86,3 milhões de toneladas e produtividade média de 2.865 kg ha<sup>-1</sup> na safra 2013/2014. A maioria dos estados brasileiros produz soja, com destaque para os estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio Grande do Sul e Goiás, que juntos somam 81% de toda a produção nacional (CONAB, 2014).

No entanto, o ataque de nematóides constitui fator limitante à produção da soja, levando a grandes perdas econômicas (YORINORI, 2000). Dentre os fitonematóides que ocorrem no Brasil, os do gênero *Meloidogyne* estão entre os maiores causadores de danos em áreas agricultáveis no Brasil (CARNEIRO et al., 2006). Neste gênero está a espécie *M. javanica*, considerada a mais importante devido as perdas causadas em extensas áreas cultivadas com soja, em diversas regiões do país (INOMOTO et al., 2008), além de apresentar, como marcante atributo, o alto grau de polifagia, dificultando o manejo em áreas infestadas e aumentando sua importância econômica.

O manejo de nematóides pode ser feito por diferentes métodos, destacando-se os métodos químicos e biológicos, atuando como nematicidas ou alterando a reprodução e orientação do parasita em direção às raízes da planta hospedeira no solo (ARAUJO et al., 2002).

O controle químico das meloidoginoses em soja, com o uso de carbofurano, já foi considerado um eficiente método no controle de *M. javanica* (NOVARETTI et al., 1982). Contudo, os nematicidas químicos têm seu uso cada vez mais restrito, por sua alta toxicidade e baixa eficácia de controle, após repetidas aplicações (DONG ;ZHANG 2006). Assim, a busca por novos métodos de controle são cada vez mais importantes e dentro deste cenário o tratamento de sementes tem se mostrado uma ferramenta agrônômica eficiente, cujos benefícios tangem quanto ao seu método de controle preventivo expresso em diferentes modos de ação, variando conforme o agroquímico utilizado.

A utilização do tratamento de sementes ainda reduz impactos ambientais quando comparados a manejos curativos, reduzindo o número de operações mecanizadas e minimizando os custos de produção. Todavia, as pesquisas nesta área necessitam de maiores investimentos e devem ser ampliadas.

Desta forma o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito direto de cinco agroquímicos, utilizados no tratamento de sementes, sobre ovos e juvenis de *M. javanica*.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola e em casa de vegetação na Universidade Federal da Grande Dourados. O experimento foi arranjado em esquema fatorial 6 x 2 com seis repetições, sendo os fatores: seis tratamentos (Testemunha, Avicta completo<sup>®</sup>, Poncho<sup>®</sup>, Poncho/Votivo<sup>®</sup>, Standak Top<sup>®</sup> e Cropstar<sup>®</sup>) e duas formas de inóculo (juvenis e ovos), em delineamento de blocos casualizados. A análise estatística foi realizada com auxílio do software Sisvar-UFLA e para normalização dos dados foi feita a transformação  $\log(x+1)$ .

Populações de *M. javanica* obtidas de área naturalmente infestada foram purificadas e multiplicadas em tomateiro (*Solanum lycopersicum* 'Santa Clara') em vasos com capacidade para 5000 mL, contendo como substrato a mistura de solo + areia grossa + substrato comercial (1:1:1), autoclavado três dias consecutivos (120°C/1atm durante 60 minutos) e mantidos em casa de vegetação conforme Figuras 1 e 2.



**Figura 1.** Vasos contendo plantas de tomateiro infestadas com nematoide das galhas.



**Figura 2.** Sistema radicular do tomateiro apresentando galhas causadas por *Meloidogyne javanica*.

Para obtenção dos ovos, as raízes foram trituradas em liquidificador em meio a uma solução de hipoclorito de sódio 0,5% conforme metodologia proposta por Boneti e Ferraz (1981). Quando utilizados ovos para a inoculação estes foram apenas quantificados em câmara de contagem de Peters e utilizados em meio à suspensão aquosa. No entanto, quando no experimento houve a necessidade de utilizar juvenis, após esse procedimento, a solução contendo os ovos obtida, foi vertida em câmaras de eclosão como pode ser visto na Figura 3, constituídas de peneira plástica coberta com duas folhas de lenço de papel acondicionadas em almofariz de porcelana com capacidade para 250mL, as quais foram mantidas em câmara de incubação B.O.D., com temperatura de aproximadamente 26°C, sem fotoperíodo. A cada 24 horas de incubação (até 72 horas) a solução contendo os juvenis de segundo estágio (J2), eclodidos no período, foi recolhida e armazenada em geladeira, separadamente.

Para o preparo do inóculo e posterior inoculação, foram utilizados J2, preferencialmente, com eclosão em ordem cronológica decrescente (72, 48 e 24 horas), até a obtenção da população necessária para inoculação. As quantificações foram realizadas com o auxílio de câmaras de contagem de Peters sob microscópio óptico,

calibrando-se a suspensão de acordo com a população proposta de 2500 J2/planta, enquanto que na fração de plantas destinadas à inoculação com ovos, utilizou-se a população de 5000 ovos/planta.



**Figura 3.** Câmaras de eclosão.

As sementes de soja (*Glycine max* L.) da cultivar BMX Magna RR ‘Don Mario 7.0i’, após serem tratadas com cinco produtos agroquímicos (cujos nomes comerciais, ingredientes ativos e doses encontram-se descritos no quadro 1) e água destilada (600 mL.100kg sementes<sup>-1</sup>) para o tratamento testemunha, foram separadas em dois lotes de 100 sementes de cada tratamento.

**Quadro 1.** Produtos, ingredientes ativos e doses utilizadas no tratamento de sementes de soja para os experimentos.

<b>Produto Comercial</b>	<b>Ingrediente ativo</b>	<b>Dose p.c. (mL.100 kg sementes<sup>-1</sup>)</b>
Avicta Completo <sup>®</sup>	Abamectina + Thiamethoxam + Fludioxonil + Metalaxil-M	(*)
Poncho <sup>®</sup>	Clotianidina	100
Poncho/Votivo <sup>®</sup>	Clotianidina + <i>Bacillus firmus</i>	70
Standak Top <sup>®</sup>	Fipronil + Piraclostroquina + Tiofanato-metílico	200
Cropstar <sup>®</sup>	Imidacloprido + Tiodicarbe	600

(\*) Avicta Completo<sup>®</sup>: Avicta<sup>®</sup> (Abamectina 500 g.L<sup>-1</sup>) + Cruiser<sup>®</sup> (Thiamethoxam 350 g.L<sup>-1</sup>) + Maxim XL<sup>®</sup> (Fludioxonil 25 g.L<sup>-1</sup> + Matalaxil-M 10 g.L<sup>-1</sup>), nas doses de 100, 200 e 100 mL p.c. 100 kg sementes<sup>1</sup>, respectivamente.

Cada lote de semente foi depositado em 400 gramas de areia fina, acondicionadas em funis de garrafa PET, baseado na metodologia de Baermann contendo papel filtro, demonstrado na Figura 4.



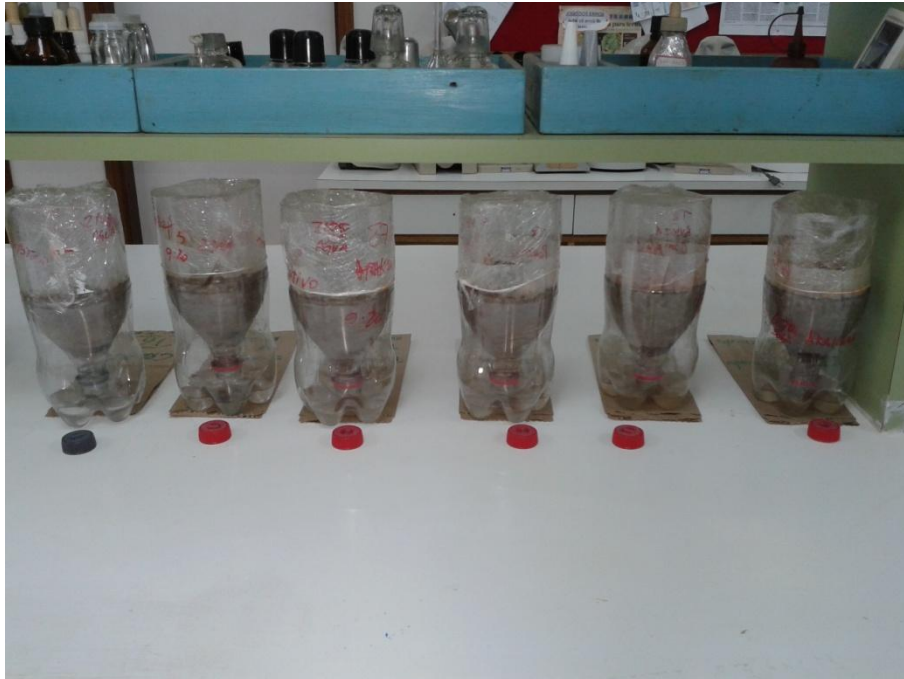
**Figura 4.** Funis em garrafas PET

As garrafas PET foram cortadas ao meio e a parte superior foi virada de boca para baixo, de maneira tal a se encaixar com o restante da garrafa.

Em cada funil acrescentou-se 210 gramas de água destilada e a extremidade superior do funil foi vedada com filme plástico para evitar evaporação. Decorridas 24 horas foi aberta a tampa da metade da garrafa para a retirada da solução tratamento resultante, a qual foi constituída de exsudados das sementes e dos produtos químicos provenientes dos tratamentos de sementes, aguardando-se novamente um período de 24 horas para que toda a solução contida no funil pudesse ser recolhida, observada na Figura 5. Ao final desse período cada solução tratamento recebeu 10mL de água contendo os juvenis/ovos, nas quantidades mencionadas.

Após a adição dos juvenis/ovos em meio à solução tratamento permaneceram por 24 horas e ao término do período as soluções foram passadas uma a uma em peneira

com malha de 500 mesh e lavadas em água corrente para obter juvenis/ovos livres de resíduos dos produtos utilizados, a fim de isolar um efeito do produto posterior ao período proposto.



**Figura 5.** Coleta dos exsudatos das sementes com seus respectivos tratamentos.

A suspensão de juvenis/ovos final, recolhida da peneira, foi calibrada de modo a obter-se a população de 2500 J2 e 5000 ovos em 10mL de água, desta forma, cada planta foi inoculada com 10mL da suspensão, sendo esta depositada em dois orifícios com profundidade variando de 2 a 3 cm, equidistantes 0,5 cm do caule das plantas.

Sementes de soja da cultivar BMX Magna RR ‘Don Mario 7.0i’ sem tratamento foram semeadas em copos plásticos com capacidade para 700mL, contendo uma mistura de solo + areia grossa + substrato comercial (1:1:1), autoclavado três dias consecutivos (120°C/1atm durante 60 minutos). Quando as plantas iniciaram a emissão do primeiro trifólio, estas foram inoculadas conforme descrito anteriormente e levadas para a casa de vegetação, conforme Figura 6.

Aos 76 dias após a inoculação iniciaram-se as avaliações, para tanto, o sistema radicular de cada planta, depois de separado do substrato, foi lavado em água corrente e, após secar sobre papel jornal, foi pesado e processado para a extração de ovos e eventuais juvenis de *M. javanica* (COOLEN e D’ HERDE, 1972) que posteriormente

foram quantificados em câmara de contagem de Peters em microscópio óptico. De posse dos resultados, foi calculado o número de nematoides por grama de raiz e estimado o fator de reprodução ( $FR = \text{população final} / \text{população inicial}$ ).



**Figura 6.** Soja a ser inoculada e posteriormente levada a casa de vegetação.

## **RESULTADO E DISCUSSÃO**

Não houve efeito do tipo de inoculo, ovos ou juvenis infectivos, utilizado no presente trabalho (Quadro 2). O efeito da exposição do inoculo, independente se ovo ou juvenil, foi demonstrado 76 dias após a inoculação. Quando ovos foram expostos aos exsudados de sementes tratadas com Avicta Completo<sup>®</sup> e Poncho Votivo<sup>®</sup> ocorreu uma redução do número de ovos por grama de raiz em 90% e 82%, respectivamente. No caso da exposição de juvenis infectivos a redução proporcionada por Avicta Completo<sup>®</sup> foi superior a 95%. Standak Top<sup>®</sup> também teve efeito sobre o número de ovos recuperados de plantas inoculadas com juvenis infectivos.

Para sementes inoculadas com juvenil de nematóide, não foram observadas diferenças estatísticas para quantidade de ovos entre sementes tratadas e testemunha.



Porém, houve redução na quantidade de J2 em sementes tratadas com Avicta Completo<sup>®</sup>.

Avicta Completo<sup>®</sup> apresentou efeito sobre o número de juvenis infectivos por grama de raiz quando as plantas haviam sido inoculadas com juvenis expostos aos exsudatos da semente tratada. A redução chegou a 89%.

Os dados do número total (ovos + juvenis) por grama de raiz de acordo com o tipo de inoculo são apresentados na Figura 7. O efeito da aplicação de produtos nas sementes sobre o fitonematóide fica evidente. A ação de todos os produtos, exceto Cropstar<sup>®</sup>, sobre os ovos do nematóide em relação ao tratamento testemunha variou de 71 a 89%. O efeito sobre juvenis infectivos foi significativo para Avicta Completo<sup>®</sup>, Standak Top<sup>®</sup> e Cropstar<sup>®</sup>.

**Quadro 2.** Número de ovos e juvenis infectivos (J2) de *M. javanica* por grama de raiz de soja aos 76 dias após a inoculação de plantas com inoculo exposto a soluções aquosas de extratos de sementes expostos a solução aquosa de exsudatos de sementes de soja tratadas com diferentes produtos.

Tratamentos	Ovos g raiz <sup>-1</sup>		J2 g raiz <sup>-1</sup>	
	Tipo de Inoculo		Tipo de Inoculo	
	Ovos	J2	Ovos	J2
Testemunha	6199 aA*	4902 aA	255 aA	221 aA
Avicta Completo <sup>®</sup>	602 cA	220 cA	104 aA	24 bA
Poncho <sup>®</sup>	1201 abcA	2873 aA	214 aA	146 abA
Poncho/Votivo <sup>®</sup>	1121 bcA	2573 aA	124 aA	256 abA
Standak Top <sup>®</sup>	1683 abcA	583 bcA	174 aA	131 abA
Cropstar <sup>®</sup>	4474 abA	1562 abA	346 aA	231 aA
CV(%)	20,2		45,0	

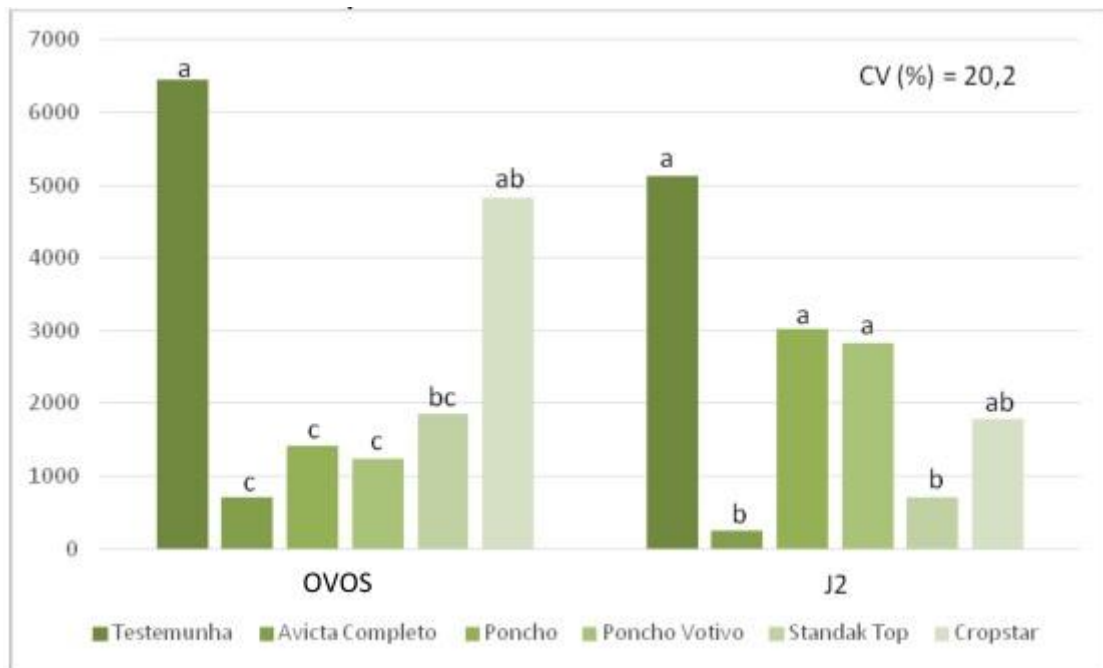
\*Média seguidas por letras iguais minúsculas na coluna e de maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste LSD de Fisher a 5% de probabilidade. Os dados foram transformados em Log de (x+1).

O fator de reprodução do nematoide foi inferior a 1,0, nos tratamentos com Avicta Completo<sup>®</sup>, Poncho<sup>®</sup> e Poncho Votivo<sup>®</sup>. A aplicação dos produtos via tratamento de sementes, reduziu a população final, aos 76 dias, a níveis inferiores á época da inoculação (Quadro 3). Os resultados não foram tão consistentes quando juvenis foram utilizados como inoculo.

**Quadro 3.** Fator de reprodução\* de *M. javanica* com inóculo, ovos ou juvenis infectivos, expostos a solução aquosa de sementes de soja tratadas com diferentes produtos.

Tratamento	Tipo de Inoculo	
	Ovos	Juvenis
Testemunha	3,53 aA	3,54 aA
Avicta Completo®	0,47 cA	0,35 bA
Poncho®	0,93 bcA	2,75 aA
Poncho/Votivo®	0,70 bcA	3,01 aA
Standak Top®	1,08 bcA	0,75 bA
Cropstar®	2,84 abA	1,67 abA

CV(%)  
 Fator de reprodução = população final/população inicial  
 Média seguidas por letras iguais minúsculas na coluna e de maiúsculas na linha não diferem entre si pelo teste LSD de Fisher a 5% de probabilidade. Os dados foram transformados em Log de (x+1).



**Figura 7.** Número total de ovos+juvenis por grama de raiz de soja cv. BMX Magna RR 'Don Mario 7.0i' aos 76 dias da inoculação de ovos e juvenis expostos a exsudatos de sementes tratadas com diferentes produtos.

Trabalhos avaliando os efeitos da aplicação de nematicidas via tratamento de sementes são relativamente escassos na literatura. Espindola e Oliveira (2013) trabalhando com inoculação de *Meloidogyne javanica* em sementes de soja observaram

que o produto Standak 0,10 + BAS 503 proporcionaram incrementos positivos na massa fresca do sistema radicular. Ao realizar trabalho com tratamento de sementes de algodão, observou que o tratamento com abamectina (Avicta® 500 FS), resultou em uma melhor proteção do sistema radicular de cultivares de algodão (LOVATO et al., 2007).

## AGRADECIMENTOS

A minha família, amigos, professores do curso de Agronomia, aos membros do laboratório de Microbiologia e Fitopatologia Agrícola da FCA- UFGD, e todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

E em especial ao CNPQ / UFGD por conceder a bolsa e possibilitar a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, F.F.; SILVA, J.F.V; ARAUJO, A.S.F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**. v.32, n.2, p.197-202, 2002.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, n.3, p.553, 1981.

CARNEIRO, R.G.; MÔNACO, A.P.A.; MORITZ, M.P.; NAKAMURA, K.C.; SCHERER, A. Identificação de *Meloidogyne mayaguensis* em goiabeira e em plantas invasoras, em solo argiloso, no Estado do Paraná. **Nematologia Brasileira**. v. 30 n. 3, p.293-298. 2006.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, **Acompanhamento safra brasileira de grãos**, v. 1 - Safra 2013/14, n. 8 - Oitavo Levantamento, Brasília, maio 2014. Disponível em:<[http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_05\\_08\\_10\\_11\\_00\\_boletim\\_graos\\_mai\\_2014.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_05_08_10_11_00_boletim_graos_mai_2014.pdf)>. Acesso em: Maio de 2014.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: **State Nematology and Entomology Research Station**, 1972, 77 p.

DONG, L.Q.; ZHANG, K.Q. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. **Plant and Soil**. v. 288, n1-2, p.31-45. 2006.

ESPINDOLA, D.L.; OLIVEIRA, W.H.. **Tratamento de sementes de soja e parasitismo por *Meloidogyne javanica***. 2013. 20f. Monografia (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados-MS.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: 45a Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, SP. p. 255-258. Julho de 2000.

INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, G. C. Avaliação em casa de vegetação do uso de sorgo, milho e crotalaria no manejo de *Meloidogyne javanica*. **Tropical Plant Pathology**, v.33, p.125-129, 2008.

LOVATO, B.V. ; NASCIMENTO JUNIOR, A.C.; BUZZERIO,N,F.; MARTINHO,L. Avaliação da eficiência do nematicida Avicta® 500 FS para o controle de *Meloidogyne incógnita* em diferentes cultivares de algodoeiro *Gossypium hirsutum* através do tratamento de sementes. In.: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO,6.,2007, Uberlândia. **Anais...**Campina Grande, PB: Embrapa Algodão, 2007. 1 CD-ROM.

NOVARETTI , W.R.T.; MIRANDA, M.A.C.; ALCÂNTARA , V.S.B. Tratamento químico visando o controle de nematoides em soja. **Nematologia Brasileira**. v. 5, n. 2, p. 247-255, 1982.

YORINORI, J. T. Riscos de surgimento de novas doenças na cultura da soja. In: CONGRESSO DE TECNOLOGIA E COMPETITIVIDADE DA SOJA NO MERCADO GLOBAL, 2000, Cuiabá. **Anais...** Cuiabá: Fundação MT, 2000. p. 165-169.