

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS/ AGRONOMIA

**COMPATIBILIDADE DE ESTRATÉGIAS PARA O MANEJO DE  
FITONEMATOIDES NA CULTURA DA SOJA**

Autor: Jefte Figueirêdo de Barros  
Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Alaerson Maia Geraldine

Rio verde - GO

Março– 2018

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS/ AGRONOMIA

## **ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DE FITONEMATOIDES NA CULTURA DA SOJA**

Autor: Jefte Figueirêdo de Barros

Orientador: Alaerson Maia Geraldine

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS/ AGRONOMIA, ao Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS AGRÁRIAS/ AGRONOMIA, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde – Área de Tecnologias sustentáveis em sistemas de produção e uso do solo e água.

Rio Verde – GO

Março – 2018

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

de Barros, Jefté  
dB223c COMPATIBILIDADE DE ESTRATÉGIAS PARA O MANEJO DE  
FITONEMATOIDES NA CULTURA DA SOJA / Jefté de  
Barros;orientador Alaerson Geraldine; co-orientador  
Aurélio Rubio Neto. -- Rio Verde, 2018.  
74 p.

Dissertação (Mestrado em Pós Graduação em Ciências  
Agrárias - Agronomia) -- Instituto Federal Goiano,  
Campus Rio Verde, 2018.

1. geoprocessamento. 2. Glycine max. 3. controle  
biológico. I. Geraldine, Alaerson , orient. II. Rubio  
Neto, Aurélio, co-orient. III. Título.

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE  
DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
AGRÁRIAS-AGRONOMIA**

**COMPATIBILIDADE DE ESTRATÉGIAS PARA O  
MANEJO DE FITONEMATOIDES NA CULTURA DA SOJA.**

Autor: Jefté Figueirêdo de Barros  
Orientador: Dr. Alaerson Maia Geraldine

TITULAÇÃO: Mestre em Ciências Agrárias-Agronomia - Área de  
Concentração em Produção Vegetal Sustentável no Cerrado

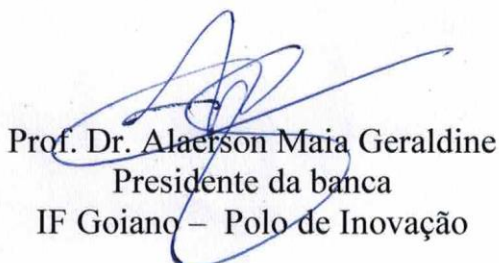
APROVADA em, 23 de março de 2018.



Prof.ª Dra. Ednalva Patrícia de Andrade Silva  
Avaliadora externa  
IF Goiano – Campus Rio Verde



Prof. Dr. Leonardo de Castro Santos  
Avaliador externo  
IF Goiano – Polo de Inovação



Prof. Dr. Alaerson Maia Geraldine  
Presidente da banca  
IF Goiano – Polo de Inovação

## **DEDICATÓRIA**

A Deus, meus pais e Francielly e Adeliane. Só tenho a agradecer a existência de vocês.

## AGRADECIMENTOS

À Adeliane, Francielly, Eide, Janison, Gabriel Jesus, Lucas, Suellen e Francisco, por me ajudarem em todas as pesquisas realizadas, com parcerias muito frutíferas, pessoal e profissionalmente.

À professora Ednalva, pelas parcerias e boas e dúvidas sanadas.

Agradeço à Tâmara, Álefe e Gabriel Bressiani, por me ajudarem em diversas etapas do mestrado, em tudo que eu precisasse, tirando dúvidas e me motivando.

Ao Celso Mattes, por ter me inserido na nematologia e apoiado em minhas escolhas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (Fapeg), pelo incentivo à pesquisa.

Ao professor Alaerson Maia, pela orientação e ensinamentos para como proceder em campo e laboratório, com muita paciência e compreensão para com todos os seus orientados, o meu muito obrigado.

## BIOGRAFIA DO AUTOR

Jefté Figueirêdo de Barros, filho de Iraquitã Rodrigues de Barros e Gilcélia Maria Figueirêdo de Barros, nasceu em Goiana, Estado de Pernambuco, em 5 de maio de 1991. Em março de 2006, iniciou o curso técnico em Agropecuária no Instituto Federal de Pernambuco-Campus Vitória de Santo Antão, formando-se em dezembro de 2008.

Graduou-se em Agronomia pelo Instituto Federal Goiano-Campus Rio Verde, em dezembro de 2015.

Em março de 2016, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - Agronomia, em nível de Mestrado, na linha de pesquisa Tecnologias sustentáveis em sistemas de produção e uso do solo e água, submetendo-se à defesa da dissertação, requisito indispensável para a obtenção do título de Mestre em Ciências Agrárias - Agronomia, em março de 2018.

**SUMÁRIO**

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIACÕES E UNIDADES .....	8
ÍNDICE DE TABELA .....	8
ABSTRACT .....	12
1. INTRODUÇÃO .....	13
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 Contextualização da Interação Planta-Patógeno.....	15
2.2 Importância do Gênero <i>Pratylenchus</i> .....	16
2.3 Manejo de Fitonematoides.....	17
3. OBJETIVOS.....	21
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	22
5. ARTIGO CIENTÍFICO I .....	27
6. ARTIGO CIENTÍFICO II.....	47



## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIACÕES E UNIDADES

BDA	Batata Dextrose Ágar
ha	Hectare
RGB	Red, Green e Blue
ChNRGB	Índice de clorofila estimado por imagens RGB
kg	Quilograma
MCARI	Índice de absorção da clorofila modificada
mL	Mililitro
MPRI	Centímetros
NDVI	Índice de vegetação por diferença normalizada
RVI	Índice de vigor relativo
RVIADAP	Índice de vigor relativo adaptado
TCARI	Índice de reflectância de absorção de clorofila transformada
UFC	Unidade Formadora de Colônia
VANT	Veículo aéreo não tripulado

## ÍNDICE DE TABELA

CAPÍTULO I página

**Tabela 1.** Populações de *Pratylenchus* sp nos dias 30, 60 e 90 após o plantio e produtividade por parcela.....33

**Tabela 2.** Matriz de correlação das variáveis relacionadas s tendo como referência dados da safra 15-16 aos 90 dias. As dimensões da análise de componentes principais foram feitas com significância de  $p < 0.05$ .....36

**Tabela 3.** Matriz de correlação das variáveis relacionadas s tendo como referência dados da safra 16-17 aos 45 dias. As dimensões da análise de componentes principais foram feitas com significância de  $p < 0.05$ .....39

CAPÍTULO II

<b>Tabela 1.</b> Bactérias rizosféricas que atuam no controle de fitonematoides.....	49
<b>Tabela 2.</b> Fungos que atuam no controle de fitonematoides.....	49
<b>Tabela 3.</b> Porcentagem de esporos germinados 0 hora após a inoculação.....	53
<b>Tabela 4.</b> Porcentagem de esporos germinados 24 horas após a inoculação.....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I	página
<b>Figura 1.</b> Imagem aérea feita aos 45 dias da safra (2015/2016) com câmera com sensores na faixa do visível. Detalhe das microparcelas no interior de cada parcela experimental.....	32
<b>Figura 2.</b> Imagem aérea feita aos 30 dias da safra (2016/2017) com câmera com sensores na faixa do visível. Detalhe das microparcelas no interior de cada parcela experimental.....	32
<b>Figura 3:</b> Análise de Componentes principais tendo como referência dados da safra 15-16, aos 90 dias após o plantio, com Índice de Vigor Relativo (RVI), Índice de Reflectância Fotoquímica Modificada (MPRI), Produtividade em sacas por hectare (scha), com Índice de Vigor Relativo Adaptado (RVIADAP), somatório de clorofila A e B obtido com clorofilômetro (clorofila), índice de clorofila (ChNRGB), Bandas obtidas pela câmera RGB nas faixas do vermelho (red), verde (green) e azul (blue), população de nematoides presentes na raiz aos 90 dias (PR90), População presente no solo e na raiz aos 90 dias após o plantio (SR90), População total dos somatórios de 30, 60 e 90 dias obtidos da raiz (CNR), População total dos somatórios de populações aos 30, 60 e 90 dias obtidos no solo e na raiz (RST). DIM 1 refere-se à primeira dimensão ou primeiro componente e DIM 2 refere-se ao segundo componente principal.....	35
<b>Figura 4:</b> Relação do Índice de clorofila (ChNRGB) com a população de nematoides na raiz aos 90 dias após o plantio (A). Relação do ChNRGB com a somatória das populações de nematoides no solo e na raiz encontradas aos 90 dias após o plantio (B). Relação do ChNRGB com a população de nematoides acumulada na raiz aos 30, 60 e 90 dias após o plantio (C). Relação do ChNRGB com o número total de nematoides ao fim do ciclo da cultura (D).....	37
<b>Figura 5.</b> Análise de Componentes principais tendo como referência dados da safra 16-17, aos 45 dias após o plantio com Índice de Vigor Relativo (RVI), Índice de Reflectância	

Fotoquímica Modificada (MPRI), Produtividade em sacas por hectare (scha), com Índice de Vigor Relativo Adaptado (RVIADAP), somatório de clorofila A e B obtido com clorofilômetro (clorofila), índice de clorofila (ChNRGB), Bandas obtidas pela câmera RGB nas faixas do vermelho (red), verde (green) e azul (blue), população de nematoides presentes na raiz aos 90 dias (PR90), População presente no solo e na raiz aos 90 dias após o plantio (SR90), População total dos somatórios de 30, 60 e 90 dias obtidos da raiz (CNR), População total dos somatórios de populações aos 30, 60 e 90 dias obtidos no solo e na raiz (RST). DIM 1 refere-se à primeira dimensão ou primeiro componente e DIM 2 refere-se ao segundo componente principal.....38

**Figura 6.** Relação do Índice de Reflectância Fotoquímica Modificada (MPRI) com a população de nematoides na raiz aos 90 dias após o plantio (A). Relação do MPRI com a somatória das populações de nematoides no solo e na raiz encontradas aos 90 dias após o plantio (B). Relação do MPRI com a população de nematoides acumulada na raiz aos 30, 60 e 90 dias após o plantio (C). Relação do MPRI com o número total de nematoides ao fim do ciclo da cultura (D). Todas as variáveis analisadas para a safra 2016-2017.....40

## CAPÍTULO II

**Figura 1.** Visualização de esporos contáveis, divididos em três categorias: germinado, viável e inviável.....51

**Figura 2.** Número de Unidades Formadoras de Colônia para os tempos 0, 8, 16 e 24 horas no primeiro ano do experimento com os tratamentos Onix<sup>®</sup> (a), Rizos<sup>®</sup> (b), Orgasol<sup>®</sup> (c), Nemix<sup>®</sup> (d). S e C representam as populações com e sem cadusafós, respectivamente.....55

**Figura 3.** Número de Unidades Formadoras de Colônia para os tempos 0, 8, 16 e 24 horas no segundo ano do experimento, com os tratamentos Onix<sup>®</sup> (a), Rizos<sup>®</sup> (b), Orgasol<sup>®</sup> (c), Nemix<sup>®</sup> (d).....56

## RESUMO

BARROS, JEFTÉ FIGUEIRÊDO DE. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, março de 2018. **Compatibilidade de estratégias de manejo de nematoides na cultura da soja.** Orientador: Dr. Alaerson Maia Geraldine. Coorientador: Dr. Aurélio Rubio Neto.

Os fitonematoides atualmente representam um dos grandes fatores de risco na busca de alta produtividade das grandes culturas, causando perdas consideráveis. Estes organismos atuam de diversas formas, sendo de difícil erradicação. O Brasil, na qualidade de um dos maiores produtores de diversas culturas, entre elas a soja, tem investido em estratégias de controle destes organismos, utilizando os princípios básicos da fitopatologia. Entre os principais métodos de controle, o presente trabalho se baseia no uso de fotos obtidas com veículos aéreos não tripulados (VANTS) e testes de compatibilidade entre fungos e bactérias que colonizam os nematoides, na adequação de formas de manejo, baseadas no conhecimento e viabilidade das formas de controle, mediante a biologia e o comportamento do fitopatógeno.

**Palavras-chave:** geoprocessamento, nematoide das lesões radiculares, controle biológico.

## ABSTRACT

BARROS, JEFTÉ FIGUEIRÊDO DE. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano (Goiano Federal Institute of Education, Science, and Technology), Rio Verde Campus, Goiás State, Brazil. March 2018. **Compatibility of nematode management strategies in soybean crop.** Advisor: Dr. Geraldine, Alaerson Maia. Co-advisor: Dr. Rubio Neto, Aurélio.

Phytoematoids currently represent one of the major risk factors in the search for high productivity of large crops, causing substantial losses. These organisms work in many ways, making difficult their eradication. Brazil, as one of the largest producers of various crops, including soybeans, has invested in strategies to control these organisms, using the phytopathology basic principles. Among the main control methods, this study is based on the use of photos obtained with unmanned aerial vehicles (UAVs) and compatibility tests of fungi and bacteria that colonize the nematodes in the adjustment of management practices, considering the knowledge and viability of the means of control through the phytopathogen biology and behavior.

**Keywords:** Geoprocessing. Root lesion nematoid. Biological control.

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de soja compreende atualmente 120,95 milhões de hectares, com destaque para Estados Unidos e Brasil, atualmente os maiores produtores, com uma produção de 117,21 e 113,92 milhões de toneladas, respectivamente (SEAB 2015).

Fatores limitantes da produção devem ser controlados ou ter seu impacto amenizado, tornando-se então primordial a caracterização isolada desses fatores, sejam eles bióticos ou abióticos. Entre os fatores bióticos, o estudo das doenças tem grande importância pela diversidade de agentes patogênicos, com infecções causadas por fungos, vírus e bactérias e nematoides, isoladamente ou agindo em conjunto.

Nematoides são animais de corpo cilíndrico alongado, que podem ser de vida livre ou parasita de outros seres vivos, como as plantas. Entre os agentes causadores de fitodoenças, os nematoides têm destaque por provocar perda na agricultura mundial estimada entre US\$ 78 – 125 bilhões (SASSER E FRECKMAN, 1987; MCCARTER, 2009). Atualmente, os gêneros de maior importância no país são *Meloidogyne*, *Heterodera* e *Pratylenchus*, que atuam sob formas diferentes nas plantas, com sintomas específicos para cada gênero.

O gênero *Pratylenchus* Filipjev, 1936, tem catalogadas atualmente 104 espécies de maior importância para a agricultura brasileira, destacando-se as espécies *P. brachyurus* Godfrey, 1929, (FILIPJEV & SCHUUMARMAN STELKHOVEN, 1941), *P. zaeae* Grahman, 1951, *P. penetrans* COBB, 1917, (CHITWOOD & OOTEIFA, 1952), e *P. coffee* Zimmermann, 1898, (GOODEY, 1959), por causarem doenças em culturas de grande interesse agrícola no país. Entre as espécies desse gênero, *P. brachyurus* é a que apresenta maior polifagia e, conseqüentemente, um controle mais oneroso e difícil, pois, além de parasitar plantas de interesse agrônômico, como algodão, cana-de-açúcar, milho e soja, esse nematoide também infecta plantas daninhas (TAVARES-SILVA et al., 2017).

Neste âmbito, o manejo integrado surge como uma ferramenta que combina bom manejo cultural, resistência genética e controle químico e/ou biológico, para isso, faz-se necessário o acompanhamento das populações de nematoides nas lavouras. Por outro lado, as geotecnologias evoluíram muito nos últimos anos e vêm contribuindo de forma sinérgica com

a agricultura, visando a otimizar gastos e garantir um acompanhamento detalhado de vários aspectos dentro da cadeia produtiva.

A agricultura de precisão torna-se crucial no sentido de proporcionar maior compreensão do progresso da doença, através de um acompanhamento tanto espacial, com o aumento das reboleiras, quanto temporal, com os mapas de variabilidade, que auxiliam na visualização dos sintomas na lavoura de uma safra para outra. Portanto, faz-se necessário o uso de sensores e, mais recentemente, de imagens aéreas, obtidas por VANTs ou satélites, disponibilizando, desta forma, mais uma ferramenta no controle destes patógenos, visualizando a área como um sistema heterogêneo, assim, trabalhando, de forma diferenciada, cada parte separadamente.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Contextualização da Interação Planta-Patógeno.

A soja é uma cultura grande relevância econômica no mundo. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de soja, com uma área plantada de 33,89 milhões de hectares na safra 2016/2017. A produção brasileira chegou a 113,92 milhões de toneladas com uma produtividade média de 3362 kg por hectare (CONAB, 2017). Um dos problemas fitossanitários que afetam a produtividade da soja são as doenças. Patógenos de solo como fungos e nematoides podem persistir durante muito tempo, causando perdas anuais significativas na produtividade de soja.

Os fitonematoides são animais do Filo Nematoda (Nemata), essencialmente aquáticos, que apresentam um pseudoceloma com formato vermiforme em pelo menos uma fase da vida. Os fitonematoides compreendem cerca de 4.100 espécies (DECRAEMER & HUNT, 2006) e têm como principal característica a presença de estilete bucal, que serve tanto para a injeção de substâncias tóxicas quanto para a sucção de conteúdo celular (CASTILLO & VOVLAS, 2007).

Grande parte destes animais parasita essencialmente as raízes, mas alguns gêneros podem parasitar a parte aérea, como o gênero *Aphelenchoides*, que causa doenças em algumas culturas como a ponta branca do arroz (*Oryza sativa*) (TULEK, 2016).

O conhecimento do ciclo e biologia dos nematoides como um todo é de suma importância na estruturação de formas de controle mais adequadas. Fisiologicamente, a atração dos nematoides ocorre pelos exsudatos liberados pelas raízes, com entrada através das células da epiderme (DRIOUCH et al., 2013). Antes da penetração do estilete, ocorre uma sondagem para a seleção da célula na qual irá penetrar e da qual irá se nutrir, ocorrendo, desta forma, as etapas de inserção do estilete, salivação e ingestão de nutrientes (ZUNKE, 1990).

Uma das características que permitiram aos fitonematoides se sobressair em áreas cultivadas foi sua capacidade de sobreviver em condições adversas pelo uso de variadas estratégias de sobrevivência, além de especificidade ao hospedeiro. Nematoides do gênero *Meloidogyne* não lesionam as estruturas das raízes, todavia formam sítios de alimentação causando hiperplasia e hipertrofia nestas células nutridoras (ALMEIDA et al., 2017). Em contrapartida, alguns gêneros se caracterizam por apresentarem menores graus de especificidade, sendo evolutivamente mais recentes que os anteriormente citados. Os



nematoides pertencentes a estes gêneros são classificados como endoparasitas migratórios, sendo sua quantificação mais complexa, portanto menos precisa pelo fato de os endoparasitas migratórios depositarem seus ovos tanto nas raízes, como no solo (DEBIASI et al., 2016). Os gêneros *Pratylenchus* e *Aphelenchoides* são exemplos de endoparasitas migratórios. Ainda dentro das características que tornaram o filo tão importante a nível de agricultura mundial, destaca-se o efeito sinérgico, que se refere ao dano resultante de a interação do nematoide com outro patógeno superar o dano resultante do somatório dos efeitos individuais de cada um (MANZANILLA LÓPEZ et al., 2004).

## 2.2 Importância do Gênero *Pratylenchus*

O gênero *Pratylenchus* Filipjev, 1936, é considerado atualmente o terceiro gênero mais importante, em relação a danos, a nível mundial, sendo catalogadas, atualmente, dentro do gênero, 104 espécies (JONES et al., 2013). Sua polifagia e sobrevivência em restos culturais possibilitaram que se estabelecesse nesta posição relevante, pois parasita diversas culturas de importância agrônômica, além de plantas daninhas, aumentando, desta forma, o critério de seleção de plantas para rotação de culturas (CASTILLO & VOVLAS, 2007).

As principais características morfológicas do gênero *Pratylenchus* são estilete do tipo estomatostílio e comprimento médio do corpo entre 0,35 e 0,5 mm. Alguns aspectos como disponibilidade de água, temperatura e umidade do solo podem influenciar diretamente nessas características. Além disso, nematoides extraídos de dentro das raízes geralmente são maiores que os indivíduos extraídos do solo (LOOF, 1991).

A identificação do gênero *Pratylenchus* ocorre levando em consideração algumas características. São vermiformes em todos os estádios, com região labial baixa e esclerotizada, campo lateral normalmente com quatro linhas e sobreposição ventral das glândulas esofagianas sobre o intestino (OLIVEIRA et al., 2016). Todas as espécies dentro do gênero são monodelfas, prodelfas, com a vulva situada no terço posterior do corpo (MAI & MULLIN, 1996). Entretanto, dentro do gênero, algumas espécies são mais polífagas que outras, sendo sua identificação primordial para formulação de estratégias de controle e manejo.

Para efeito de separação por espécie dentro do Gênero *Pratylenchus*, Gonzaga (2006) sugere 25 características em um estudo morfológico e morfométrico, que vão desde o comprimento do corpo até a distância da extremidade anterior à vulva, como porcentagem do comprimento total do corpo.

Existem, atualmente, duas formas de identificação de nematoides desde gênero: molecular e clássica. As técnicas moleculares de identificação se baseiam em sequências do genoma, como a reação em cadeia de polimerase (PCR), onde há uma amplificação de regiões do DNA por meio do uso de oligonucleotídeos específicos. A taxonomia clássica de nematoides utiliza como critérios as características anatômicas e morfológicas desses animais (LIRA et al., 2014). Esse sistema de chaveamento e classificação utiliza chaves dicotômicas extensas e microscópios de luz, requerendo uma vasta experiência por parte do nematologista. Em situações específicas como identificação de nematoides de importância quarentenária, o uso de técnicas moleculares através de marcadores apresenta maior precisão. Por se complementarem, ambas as técnicas podem ser utilizadas em conjunto, assim como acontece na taxonomia polifásica, em que a classificação de muitos organismos é feita com base em caracteres morfológicos e moleculares. Todavia, o uso de características morfológicas ainda é considerado uma opção viável por ter um menor custo de aquisição quando comparado às técnicas moleculares (OLIVEIRA et al., 2016). Uma correta identificação permite que o produtor tome medidas de controle apropriadas e mais eficientes tendo como base o ciclo biológico, hospedeiro e formas de infestação e latência no solo. Tendo esses conhecimentos como referência, sabendo as características destes fitopatógenos, um manejo integrado no controle é imprescindível para uma diminuição da população deste nematoide nas áreas afetadas.

### **2.3 Manejo de Fitonematoides**

O manejo integrado de nematoides compreende diversas medidas, que atuam em harmonia para um controle efetivo, priorizando a diminuição dos gastos, associando-se a várias técnicas disponíveis que gerem o menor impacto possível ao meio ambiente (RITZINGER & FANCELLI, 2006). Técnicas utilizadas em agroecossistemas vêm sendo utilizadas em conjunto com novas alternativas promovidas pela biotecnologia e ferramentas de sensoriamento remoto, como, por exemplo, o uso de veículos aéreos não tripulados (VANTS).

O manejo de nematoides através de nematicidas químicos ainda é uma forma de controle amplamente utilizada, mas fatores como custos elevados e diminuição da eficácia por uso inadequado do produto vêm possibilitando cada vez mais uma abertura a outras alternativas de controle com custos mais baixos (DONG & ZANG, 2006)

Técnicas de manejo do solo utilizadas em sistemas de agricultura, predominantes para grandes culturas no Brasil, podem aumentar a população de algumas espécies ou gêneros. Goulart (2008) ressalta a importância e manejo do gênero *Pratylenchus*, que, ao contrário dos demais gêneros de importância para a cultura da soja, se multiplicam melhor em sistemas de plantio direto, onde o solo mantém condições de umidade elevadas (BRIDGE, 1996).

A rotação de culturas é atualmente uma das técnicas mais utilizadas no manejo de nematoides, intercalando culturas suscetíveis com culturas não suscetíveis ou com baixo fator de reprodução, sendo importante, antes de tudo, uma correta identificação das espécies presentes para que seja elaborado um plano de manejo com base nas espécies de plantas hospedeiras das espécies identificadas (HALBRENDT & La MONDIA, 2004). Essa técnica confere alguns benefícios pela sua praticidade e, com o devido planejamento, um retorno nas safras seguintes com a diminuição da população de nematoides no solo. A rotação de culturas, quando bem esquematizada, promove a melhoria das condições físicas e químicas do solo, controle de pragas, doenças e plantas daninhas pela interrupção do ciclo biológico de pragas e patógenos. O controle, de forma indireta, da erosão, pela conservação da matéria orgânica e da cobertura do solo, também circula entre os benefícios advindos da técnica de rotação de culturas, juntamente com a preservação de predadores e outros organismos que exerçam algum controle, parasitando, inibindo ou predando os nematoides (SOUZA & PIRES 2007).

A técnica de inundação dos solos, que se baseia em tornar a umidade do solo adequada, favorece o desenvolvimento embrionário do patógeno dentro do ovo, levando à sua eclosão e liberação. O princípio desta forma de controle se baseia no gasto das reservas energéticas dos nematoides e, conseqüentemente, na sua morte pela falta de hospedeiras no campo (VAN GUNDY et al., 1967, citado por DUTRA et al., 2003).

O manejo do solo por meio de irrigação, seguida pelo seu revolvimento, é exemplo de duas medidas de controle consorciadas, com a ativação do metabolismo dos nematoides, em seguida, sua exposição das camadas inferiores do solo ao contato direto com os raios solares (DUTRA & CAMPOS, 2003).

Outra forma de controle, com base em medidas fitossanitárias e preventivas, é a quarentena, conforme descreveram Marinho et al. (2003). Para uma quarentena eficiente, o primeiro passo é a correta caracterização do organismo quarentenário para que, assim, sejam formuladas medidas que impeçam sua disseminação. Para isso, a certificação de material

propagativo e portarias estaduais e federais são ferramentas fundamentais no monitoramento de fitonematoides (LEHMAN, 2004). O uso de cultivares resistentes a nematoides também surge como uma alternativa viável, quando integrada a outras, porém, para *P.brachyurus*, por ainda não existirem variedades resistentes, são cultivadas apenas variedades com baixo fator de reprodução, associadas a outros métodos de controle (BELLÉ et al., 2017).

Uma alternativa viável é a utilização de biocontroladores, que atuam na microbiota do solo, juntamente com o uso da rotação de culturas e variedades tolerantes (SILVA et al., 1952; TAKAHASHI, 2015; SILVA et al., 2016). O aperfeiçoamento de técnicas de multiplicação em larga escala de agentes de biocontrole tem comprovado sua eficiência, sendo utilizadas algumas espécies de fungos e bactérias que apresentam características que possibilitam sua viabilidade a longo prazo, além da sua reprodução no ambiente em foi aplicado. Exemplo disso é o fungo *Paecilomyces lilacinus*, que produz metabólitos tóxicos e parasita ovos e fêmeas de *Meloidogyne* sp., podendo ser alternativamente saprófita e crescer em vários substratos presentes no solo (KHAN et al., 1984; BAIDOO et al., 2017; ). Algumas rizobactérias do gênero *Bacillus* apresentam bom uso por utilizarem, para sua nutrição, exsudatos das plantas, colonizando as raízes após a emergência das plântulas, produzindo compostos com atividade antimicrobiana. Para o gênero *Bacillus*, sua eficiência foi comprovada inicialmente para os nematoides *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis*, com reduções populacionais entre 60 e 65% (SIKORA, 1988; ARAÚJO, 2002; FERREIRA 2017). No entanto, a substituição de um sistema consolidado com produtos químicos por um com controle biológico deve ser gradual visando a um sistema de cultivo sustentável cada vez menos dependente do uso de nematicidas químicos (MORANDI & BETTIOL., 2009)

Outra alternativa recente que pode auxiliar no controle de *Pratylenchus* é o sensoriamento remoto, que pode ser obtido de três formas: terrestre, se estiverem instalados em mastros ou dentro de laboratórios; suborbital, geralmente em aeronaves; e orbital, em que se empregam os satélites não tripulados e/ou balões (MOREIRA, 2007). Estresses de plantas podem ser caracterizados por meio de respostas espectrais da luz visível (VIS), infravermelho próximo (NIR) e infravermelho de ondas curtas (SWIR). Isso torna possível a detecção e o mapeamento das respostas das plantas a diferentes agentes estressores como os nematoides, possibilitando um direcionamento e uma otimização das aplicações de nematicidas, maximizando, assim, seu efeito (SANKARAN et al., 2010).

A identificação de bandas específicas ou de assinaturas espectrais sensíveis aos agentes estressores constitui um dos passos essenciais para o uso do sensoriamento remoto no campo. A reflectância, em determinados comprimentos de onda, é um excelente indicador para detecção e distinção de doenças (YUAN et al., 2014), podendo também categorizar os diferentes graus de infestação por nematoides (MARTINS., et al. (2017).

As análises agronômicas, juntamente com a coleta de índices nos diferentes comprimentos de onda, são formas práticas de correlacionar os danos exteriorizados com as populações e medidas quantificáveis em plantas. A utilização de coletas nas escalas orbitais e terrestres, além de pontos como baixa mobilidade e ocorrência agrupadas, torna os nematoides alvos ideais para a detecção por sensoriamento remoto (HILLNHÜTTER, 2011).

### **3. OBJETIVOS**

O presente estudo visa a estimar níveis de infestação de nematoides das lesões radiculares (*P. brachyurus*) em áreas cultivadas com soja por meio de imagens aéreas obtidas com veículo aéreo não tripulado (VANT). Concomitantemente, objetiva-se avaliar a viabilidade dos principais nematicidas biológicos utilizados em conjunto com cadusafós.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, F. A.; CARVALHO, R. M.; LEITE, M. L. T.; FONSECA, W. L.; PEREIRA, F. F. P.F. Reação de cultivares de soja aos nematoides das galhas. **Revista de Ciências Agrárias/Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v.59 (3), p.228-234, 2017.

ARAÚJO, F. F. D., SILVA, J. F. V., & ARAÚJO, A. S. F. D. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, p.197-203, 2002.

BAIDOO, R., MENGISTU, T., MCSORLEY, R., STAMPS, R. H., BRITO, J., & CROW, W. T. Management of Root-knot Nematode (*Meloidogyne incognita*) on *Pittosporum tobira* Under Greenhouse, Field, and On-farm Conditions in Florida. **Journal of nematology**, v.49 (2), p.133, 2017.

BELLÉ, C.; KUHN, P.R.; KASPARY, T. E.; SCHMITT, J. Reação de cultivares de soja a *Pratylenchus brachyurus*. **Agrarian**, v.10, (36), p.136-140, 2017.

BRIDGE, J. Nematode management in sustainable and subsistence agriculture. **Annual Review of Phytopathology**, v.34, (1), p.201-225, 1996.

CASTILLO, P; VOVLAS, N. ***Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management**. Brill, 2007.

DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; JUNIOR, E. U. R.; JUNIOR, A. A. B. (2016). Práticas culturais na entressafra da soja para o controle de *Pratylenchus brachyurus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, (10), p.1720-1728, 2016.

DECRAEMER, W; HUNT, D. J. Structure and classification. In: **Plant nematology**. CABI, p.3-32, 2006.

DRIOUICH, A.; FOLLET-GUEYE, M. L.; VICRÉ-GIBOUIN, M.; HAWES, M. Root border cells and secretions as critical elements in plant host defense. **Current opinion in plant biology**, v.16, (4), p.489-495, 2013.

DONG, L. Q.; ZHANG, K. Q. Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. **Plant Soil**, v.288 (1), p.31-45, 2006.

DUTRA, M. R; CAMPOS, V.P. Manejo do solo e da irrigação como nova tática de controle de *Meloidogyne incognita* em feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.28 (6), p.1-7, 2003.

DUTRA, M.R.; CAMPOS, V.P.; TOYOTA, M. Manejo do solo e da irrigação para o controle de *Meloidogyne javanica* em alface. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.27 (1), p.29-34, 2003.

FERREIRA, R. J., SOARES, P.L. M., DE CARVALHO, R. B., DOS SANTOS, J. M., BATISTA, E. S. P., & BARBOSA, J. C. Espécies de *Bacillus* no controle dos nematoides das galhas e no desenvolvimento de cana-de-açúcar. **Nematropica**, v.47 (2), p.106-113, 2017.

GONZAGA, VILMAR. **Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação *in vitro* das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus* Filipjev, 1936, que ocorrem no Brasil**. 2006. 79 f. Tese (Doutorado em Agronomia (Produção vegetal)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP, Câmpus de Jaboticabal, Jaboticabal, 2006.

GOULART, A. M. C. **Aspectos gerais sobre nematoides-das-lesões-radiculares (gênero *Pratylenchus*)**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008.

HALBRENDT, J. M; LaMONDIA, J. A. Crop rotation and other cultural practices. In: CHEN, S.; DICKSON, D.W (Eds.). **Nematology**- Advances and perspectives. V II: Nematode Management and Utilization. Beijing: Tsinghua University Press; Wallingford; CABI Publishing, 2004. p.909-30.



HILLNHÜTTER, C., MAHLEIN, A. K., SIKORA, R. A., & OERKE, E. C. Remote sensing to detect plant stress induced by *Heterodera schachtii* and *Rhizoctonia solani* in sugar beet fields. **Field Crops Research**, v.122 (1), p.70-77, 2011.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G.; GAUR, H. S.; HELDER, J.; JONES, M. G.; PERRY, R. N. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v.14, n. 9, p.946-961, 2013.

KHAN, A., AZAM, M. F.; HUSAIN, S. I. Effect of fungal filtrates of *Aspergillus niger* and *Rhizoctonia solani* on penetration and development of root-knot nematodes and the plant growth to tomato var. Marglobe. **Indian Journal of nematology**, v.14, p.106-9, 1984.

LEHMAN, P.S. Cost benefits of nematode management through regulating programs. In: CHEN, Z.; CHEN S.; DICKSON, D. W. (Eds.). **Nematology: advances and perspectives**. V.II: Nematode management and utilization. Beijing: Tsinghua University Press; Wallingford: CABI Publishing, p.1133-77. 2004

LIRA, V.L.; ROSA, M. O.; DE OLIVEIRA, S. A.; DE OLIVEIRA, C. M. G., DE MOURA, R. M. Análises morfológica e molecular de isolados de *Pratylenchus coffeae*, ocorrentes no estado de Pernambuco, Brasil, em inhame. **Nematropica**, v.44 (2), p.152-165, 2014.

LOOF, P.A. A. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. **Manual of agricultural nematology**. New York, NY, USA, Marcel Dekker, p.363-421, 1991.

MAI, W. F.; MULLIN, P.G. **Plant-parasitic nematodes: a pictorial key to genera**. Comstock Publishing Associates, 1996.

MANZANILLA-LOPEZ, R. H.; EVANS, K.; BRIDGE, J. Plant diseases caused by nematodes. **Nematology advances and perspectives**, v.2, p.637-716, 2004.

MARINHO, V.D. A., MENDES, M. A. S., TENENTE, R. C. V., BATISTA, M. D. F., de OLIVEIRA, M. R. V., MARQUES, A. D. A., ... & Gonzaga, V. Procedimentos e métodos utilizados no intercâmbio e quarentena de germoplasma vegetal. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Documentos**, 2003.

MARTINS, G. D., GALO, M. D. L. B. T., & VIEIRA, B. S. Detecting and Mapping Root-Knot Nematode Infection in Coffee Crop Using Remote Sensing Measurements. **IEEE Journal of Selected Topics in Applied Earth Observations and Remote Sensing**, v.10 (12), p.5395-5403, 2017.

McCARTER, J. Molecular approaches toward resistance to plant-parasitic nematode. In: BERG, R.; TAYLOR, C. (Eds). **Cell Biology of Plant Nematode Parasitism**. v.15. Berlin/Heidelberg: Springer, p.239-267. 2009.

MORANDI, M. A. B., BETTIOL, W. Controle biológico de doenças de plantas no Brasil. **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, p.7-14, 2009.

MOREIRA, M. A. **Fundamentos do sensoriamento remoto e metodologias de aplicação**. Viçosa: UFV.3.ed., 320p.2007.

OLIVEIRA, C. M. G. de; SANTOS, M. A. dos; CASTRO, L, H. S. e. **Diagnose de fitonematoides**. São Paulo: Millenium, 2016. 368p.

RITZINGER, C. H. S. P; FANCELLI, M. Integrated management of nematodes in the banana tree culture. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.2, 2006.

SANKARAN, S., MISHRA, A., EHSANI, R., DAVIS, C.. A review of advanced techniques for detecting plant diseases. **Computers and Electronics in Agriculture** v.72, p.1–13. 2010.

SASSER, J. N.; FRECKMAN, D. W.; VEECH, J. A.; DICKSON, D. W. **Society of Nematologists, Hyattsville, USA**, 1987.

SEAB. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Economia Rural. Disponível em: [http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/Soja\\_2014\\_15.pdf/](http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/Soja_2014_15.pdf/). Acesso em 05 de jan. 2018.

SILVA, J., LORDELLO, L. G. E., & MIYASAKA, S. Observações sobre a resistência de algumas variedades de soja ao nematoide das galhas. **Bragantia**, v.12, p.59-63, 1952.

SIKORA, R. A. Interrelationship between plant health promoting rhizobacteria, plant parasitic nematodes and soil microorganisms. **Rijksuniversiteit Faculteit Landbouwwetenschappen, Gent**, 1988.

SOUZA, C. M.; PIRES, F.R. **Adubação verde e rotação de culturas**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2007. 72p.(Cadernos didáticos, 96).

TAKAHASHI, V.dos S. P.; **Inter-relações entre nematoides, fungo e a cultura da seringueira**. 2015. xi, 96 p.Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, 2015.

TAVARES-SILVA, C. A., Dias-Arieira, C. R., Puerari, H. H., Silva, E. J. D., & Izidoro Junior, A. Crambe–soybean succession on the management of *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne javanica*. **Summa Phytopathologica**, v.43 (4), p.316-320, 2017.

TULEK, A. (2016). Effect of white-tip nematode, *Aphelenchoides besseyi*, on grain yield and yield traits of some japonica rice cultivars under field conditions. **Nematropica**, v.46 (1), p.8-13, 2016.

ZUNKE, U. Observations on the invasion and endoparasitic behavior of the root lesion nematode *Pratylenchus penetrans*. **Journal of Nematology**, v.22 (3), p.309, 1990.

YUAN, L., HUANG, Y., LORAAMM, R.W., NIE, C., WANG, J., ZHANG, J. Spectral analysis of winter wheat leaves for detection and differentiation of diseases and insects. **Field Crops Research**, v.156, p.199-207, 2014.

## 5. ARTIGO CIENTIFÍCO I

### RELAÇÃO ENTRE ÍNDICES RADIOMÉTRICOS E POPULAÇÃO DE *Pratylenchus brachyurus* EM SOJA.

**RESUMO:** Na agricultura, um dos maiores desafios é a associação de danos causados por um agente patogênico a uma alteração na reflexão eletromagnética em determinado comprimento de onda, para isso, formas de manejo baseadas em medidas radiométricas tornam-se uma técnica de auxílio no monitoramento destes patógenos. O objetivo do presente trabalho foi a utilização de índices radiométricos na faixa do visível para a identificação de danos causados por *Pratylenchus brachyurus*. O experimento foi conduzido em duas safras, tendo sido testados em campo os níveis populacionais e, dentro de cada parcela, foram analisadas microparcels para obtenção das medidas espectrais. O delineamento foi em blocos ao acaso com 4 repetições, tendo sido analisados os diferentes níveis populacionais e correlacionados aos índices radiométricos. Os dados foram avaliados pela análise de componentes principais. Não foi possível observar correlação significativa entre os índices mpri e rvi adaptados com os danos causados por *Pratylenchus brachyurus*, servindo este resultado de base para futuros trabalhos.

**Palavras-chave:** *Glycine max*, agricultura de precisão, estresse.

## 5 SCIENTIFIC ARTICLE I

### RELATIONSHIP BETWEEN RADIOMETRIC INDEXES AND *Pratylenchus brachyurus* POPULATION IN SOYBEAN

**ABSTRACT:** In agriculture, one of the greatest challenges is the related damage caused by a pathogenic agent to a change in the electromagnetic reflection at a certain wavelength. For this reason, management methods based on radiometric measurements become a technique to aid monitoring these pathogens. This study aimed to use radiometric indexes in the visible range to identify damages caused by *Pratylenchus brachyurus*. The experiment was carried out in two crops and the population levels were tested in the field, and microparcels within each plot were analyzed to obtain the spectral measurements. The experiment used a

randomized complete block design with four replicates, and the different population levels were analyzed and correlated to radiometric indexes. Data were evaluated by the analysis of the main components. It was not possible to observe a significant correlation between the Modified Photochemical reflectance Index (mpri) and Relative Vigor Index (rvi) adapted to the damage caused by *Pratylenchus brachyurus*, and this result can be used as basis for future studies.

**Keywords:** *Glycine max.* Precision agriculture. Stress.

## INTRODUÇÃO

O uso de técnicas que identificam algum tipo de estresse em plantas, associado a condições ambientais desfavoráveis, tem sido amplamente explorado na agricultura. Tendo em vista o conhecimento de que as plantas emitem e refletem radiação eletromagnética, foram desenvolvidos sensores para captação destas informações, que estão relacionadas diretamente a aspectos fitossanitários ou a estresses abióticos (LAMPARELLI et al., 2001). A análise da reflectância foliar no comprimento de onda do visível pode fornecer informações como pigmentação da folha e aspectos fisiológicos (HUANG et al., 2007).

Na região do visível, com ondas cujos comprimentos vão de 400 a 700 nanômetros, a faixa espectral do verde reflete maior comprimento de onda, sendo a maior reflectância nessa região associada a plantas mais saudáveis. Isto ocorre em razão de os pigmentos fotossintéticos terem maior absorção na faixa do vermelho e do azul (EPIPHANIO, 1996).

Graças a informações obtidas por leituras radiométricas em fotos aéreas, os índices de vegetação (VI) podem ser calculados utilizando operações algébricas que envolvem faixas de reflectância específicas. Desse modo, é possível estabelecer e mensurar a cobertura e a densidade vegetal, índice de área foliar, biomassa e fração radiativa (YUAN et al., 2014).

O sensoriamento remoto pode ser usado para tipificar a condição fitossanitária de plantas (HATFIELD et al., 2008; MIRIK et al., 2012). Essa ferramenta se caracteriza pela obtenção de informações e imagens da superfície terrestre, através da captação e armazenamento de informações acerca da energia refletida ou emitida pela superfície da terra nos seus diferentes componentes, sendo que este processo se caracteriza por ser do conhecimento de áreas específicas como física, ciências da terra e da computação (DE CARVALHO & MENESES, 2000).

Para nematoides, o uso do sensoriamento remoto se aplica atualmente ao monitoramento de regiões cloróticas ou de reboleiras (TIHOHOD, 1996). As reboleiras são caracterizadas segundo as formas de distribuição de determinada doença. Elas foram descritas inicialmente por Goodell & Ferris (1980) como distribuição agregada e distribuição contagiosa. Esta última se caracteriza por não apresentar uma distribuição uniforme, mas pontos concêntricos, com o crescimento da infecção ocorrendo do centro para as bordas.

Assim, o uso veículos aéreos não tripulados (VANTs) pode auxiliar na identificação de áreas infestadas com *Pratylenchus* spp. bem como estimar a população desse patógeno na soja, permitindo uma amostragem mais eficiente e representativa. O objetivo deste trabalho foi a utilização de índices radiométricos na faixa do visível na identificação de danos causados por *Pratylenchus* spp.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Instalação do Experimento em Campo**

A área experimental é localizada no município de Montividiu (Latitude 17°29'43"S e Longitude 51°11'15" W), com altitude média de 857 m. Nessa região, o tipo climático dominante, segundo a classificação de Köppen, é o AW (Clima Tropical com estação seca de inverno, temperatura média anual de 23°C e pluviosidade de 1512 mm). A instalação do primeiro experimento foi feita em outubro/2015 (início da safra no estado de Goiás). A colheita ocorreu em fevereiro/2016 (safra 2015/2016). O segundo experimento foi iniciado no dia 22 de novembro para a safra 2016/2017, com final da safra ocorrendo no início de fevereiro de 2017.

O solo é do tipo latossolo vermelho distroférrico (EMBRAPA, 1999). As parcelas no primeiro ano foram distribuídas em faixas de 250 metros, com 10 linhas de plantio e espaçamento entre linhas de 0,50 metros. Para o segundo ano, as parcelas foram delineadas em blocos ao acaso, com cada parcela medindo 3,5 metros de largura por 5 metros de comprimento e sete linhas de plantio por parcela. A área está infestada naturalmente e vem sendo utilizada como área experimental para estudos em nematologia. A variedade de soja utilizada para este experimento foi a TMG 7062<sup>®</sup>, com população de 240.000 plantas/ha. A adubação de plantio foi feita com base na análise do solo. Demais tratamentos culturais seguiram as recomendações técnicas para cultivo da soja na Região Centro-Oeste.

## Tratamentos e Delineamento Experimental

Dois experimentos foram conduzidos nas safras 2015/2016 e 2016/2017. O primeiro experimento consistiu de sete faixas com quatro parcelas por faixa. As parcelas foram formadas por dez linhas de 5 m lineares, espaçadas por 0,50 m, bordadura de 1 m e área útil foi de 17,5 m<sup>2</sup>. O segundo experimento foi composto por microparcels formadas por cinco linhas de 5 m linear, bordadura de 1 m e área útil de 1 m<sup>2</sup>. As parcelas apresentavam infestação natural de *P.brachyurus*. Os diferentes níveis foram utilizados para ajustar modelo de detecção de *P.brachyurus* em soja. Para ambos os experimentos, o delineamento foi em blocos ao acaso.

## Quantificação dos Nematoides

Todas as quantificações descritas nos tópicos abaixo foram feitas aos 30, 60 e 90 dias após o plantio da soja. Antes do plantio, também foram coletadas amostras de solo para estimar o nível de infestação de cada parcela.

Para caracterização de cada parcela, foram avaliadas altura de plantas aos 30 dias, matéria seca de parte aérea, massa fresca e seca de raiz. A extração de nematoides do solo foi feita seguindo método de Jenkins (1964), com adaptações, usando flotação em centrífuga em solução de sacarose. Os nematoides também foram extraídos das raízes (COOLEN & D' HERDE, 1972). Ambas as extrações foram feitas nos dias 0, 30, 60 e 90 após o plantio.

### *Nematoides extraídos do solo*

Para o método de Jenkins, as amostras foram levadas ao laboratório, onde foram quebrados os torrões nas amostras. Após, foram separados 100 cm<sup>3</sup> em um béquer, onde se adicionou água com um volume de oito a dez vezes o do solo, homogeneizando as amostras. Em seguida, as amostras foram despejadas em uma peneira de 20 meshes (malha de 0,84 mm) para separação de resíduos e em uma peneira de 400 meshes (malha de 0,037 mm), com cuidado para evitar que o material sedimentado no fundo do béquer não fosse arrastado e passasse pela peneira. Com o auxílio de uma pisseta, foi lavada a peneira de 400 meshes, recuperado o material nela retido em água e transferido para um recipiente de 50 mL. Em seguida, o conteúdo do béquer foi transferido para tubos de ensaio e centrifugado a 1800 rpm durante 4 minutos. Ao fim desse procedimento, descartou-se o sobrenadante e se adicionou

uma solução de sacarose de densidade 1,15 (400 gramas de açúcar em 750 mL de água), tendo as amostras sido homogeneizadas com o auxílio de um liquidificador, por 15 minutos. Em seguida, elas foram levadas novamente à centrífuga (1800 rpm) por 1 min. Logo após, foi feito um último peneiramento em peneira de 500 meshes (malha de 0,025), vertendo o sobrenadante com o auxílio de uma pisseta para eliminação de resíduos da solução açucarada. O material retido na peneira foi levado para contagem em câmara de Peters com o auxílio de microscópio de luz.

#### *Nematoides extraídos das raízes*

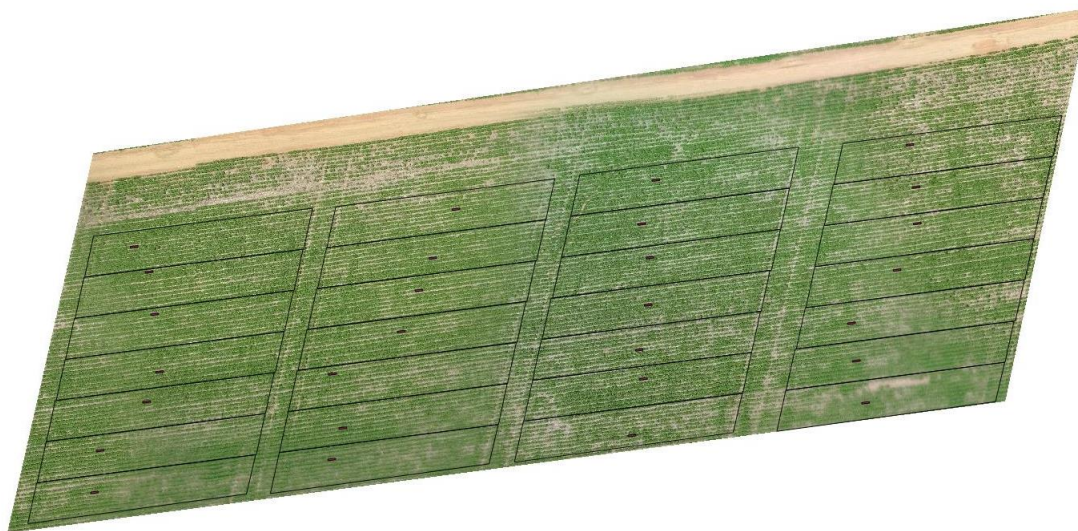
As radículas foram lavadas em água corrente e cortadas em pedaços de 1 centímetro de comprimento. Após isso, elas foram pesadas e trituradas em liquidificador contendo 250 mL de água por 30 segundos. Para separar os resíduos grosseiros, as amostras foram despejadas numa peneira de 20 meshes (malha de 0,84 mm) e depois em uma peneira de 400 meshes (malha de 0,037 mm) com cuidado para que o material sedimentado no fundo do béquer não passasse pela peneira. A peneira de 400 meshes foi lavada com auxílio de uma pisseta para recuperar o material nela retido em água. Esse material foi transferido para um recipiente de 50 mL. Em seguida, o conteúdo do béquer foi transferido para tubos de ensaio e levados para centrífuga (1800 - 2000 rpm por 4 min). Ao fim desse procedimento, foi descartado o sobrenadante, adicionou-se a solução de sacarose (descrita acima), e as amostras foram levadas à centrífuga (1800 rpm) por um minuto. Logo após isso, foi feito um último peneiramento em peneira de 500 meshes (malha de 0,025). O sobrenadante foi vertido com o auxílio de uma pisseta para eliminação de resíduos da solução açucarada. O material retido na peneira foi levado para contagem em câmara de Peters com o auxílio de microscópio de luz.

#### *A partir de padrões espectrais*

O teor de clorofila A e B e clorofila total foi avaliado aos 60 dias, quando as plantas se encontravam em R3 (final da floração: flores e vagens com até 1,5cm.), com auxílio de um clorofilômetro de campo. Foi utilizado o último trifólio de cinco plantas em cada parcela. As avaliações de refletância foram estimadas com o auxílio de um VANT (Ebee – Sensifly), equipado com câmera RGB. Os voos foram feitos aos 30, 60 e 90 dias após o plantio (Figuras 1 e 2). O software Emotion foi utilizado para gerar os pontos georreferenciados com latitude e longitude (geotagging). A ortofoto foi feita no PIX4D e, na sequência, foi utilizado o software QGIS para o cálculo dos índices de vegetação.



Os índices de Clorofila (CHnRGB) foram estimados pela fórmula  $(\text{VERDE} - \text{VERMELHO} / 2 - \text{AZUL} / 2)$  (ALI et., 2013). O índice reflectância fotoquímica modificada MPRI, pela fórmula  $((\text{VERDE} - \text{VERMELHO}) / (\text{VERDE} + \text{VERMELHO}))$  (YANG, WILLIS E MULLER, 2008). O índice de vegetação de proporção adaptado (RVI adaptado)  $(\text{RED} / \text{GREEN})$  e o índice de autoria da equipe foram estimados por adaptação do índice de vegetação de proporção.



**Figura 1.** Imagem aérea feita aos 45 dias da safra (2015/2016) com câmera com sensores na faixa do visível. Detalhe das microparcelas no interior de cada parcela experimental.



**Figura 2.** Imagem aérea feita aos 30 dias da safra (2016/2017) com câmera com sensores na faixa do visível. Detalhe das microparcelas no interior de cada parcela experimental.

## **Análise Estatística**

Os valores de reflectância obtidos pelo VANT e os índices foram estimados com auxílio do software Postflight Terra 3D<sup>®</sup>. Os resultados das imagens aéreas foram analisados por meio de regressões lineares com os resultados obtidos no solo e raiz, através das análises nematológicas. Os dados obtidos nos dois experimentos foram submetidos a análises multivariadas de componentes principais (PCA) e análises de regressões.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados coletados em campo nas parcelas foram analisados com as variáveis populacionais usadas de forma isolada, além do efeito acumulado, com as produtividades expressas em quilos por hectare (Tabela 1).

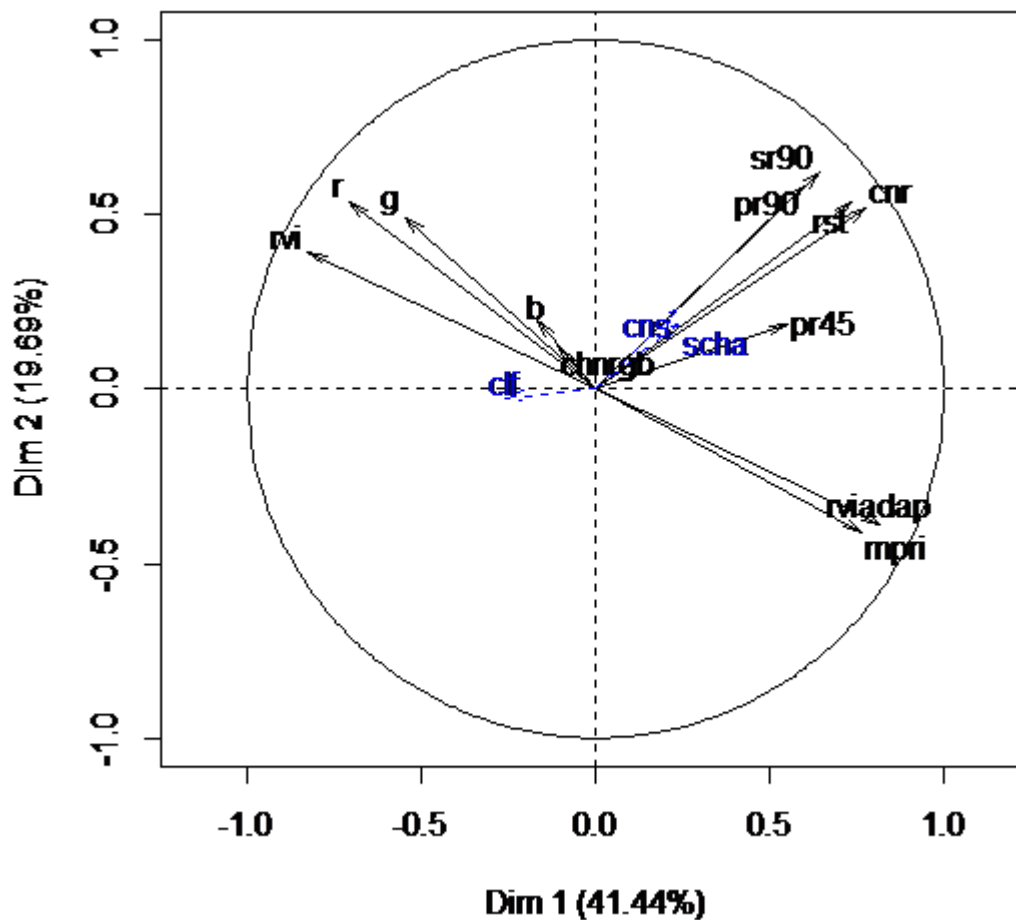
**Tabela 1.** Populações de *Pratylenchus* sp nos dias 30, 60 e 90 após o plantio e produtividade por parcela.

pr30	pr60	pr90	Nematoides acumulados na raiz	Produtividade
108	7	93	208	2551,078947
20	1067	243	1330	2550,089286
111	133	32	276	2645,219828
0	220	53	273	2228,233051
0	30	93	123	2721,195455
67	78	79	224	2070,418103
0	277	225	503	2168,947368
86	1827	528	2441	1877,292035
36	139	375	550	3234,793578
6	490	336	832	2562,788991
213	27	120	360	2588,625
191	20	528	739	2352,578704
45	28	288	361	2800,878261
87	108	140	335	2056,530973
30	337	187	554	2105,013393
146	27	144	317	2173,052632
60	83	600	743	1882,641593
0	40	128	168	2282,650442
181	240	180	601	1935,403509
6	1333	168	1508	1392,915179
163	33	25	222	1556,133621
127	91	243	460	1819,600877
50	1400	17	1467	2263,197368
36	33	184	253	2568,900862
84	6	205	295	3200,577586
113	12	147	271	2046,977679
206	53	17	277	2756,644144
0	144	30	174	2703,77193
14	27	230	271	2595,879464
57	440	253	751	3152,556034
29	80	410	519	1977,610619
0	3	107	109	2316,241379
140	117	312	569	2364,318966

55	27	84	166	2064,411504
180	152	131	463	2013,004386

Devido ao efeito de distribuição das reboleiras entre as parcelas, houve variação das populações por parcelas, sendo seu efeito avaliado individualmente por parcela e relacionado à produtividade. Observou-se tendência no aumento da produtividade quando a população total (número acumulado) de nematoides era elevada (Tabela 1). Tal efeito é suficiente para afetar a produtividade. A alta população de espécies de *Pratylenchus* em diferentes hospedeiras suscetíveis também afetou a produtividade e outros parâmetros vegetativos como peso seco e quantidade de raiz (INOMOTO et al., 2004; BORTOLINI et al., 2013).

A análise de PCA mostrou que, juntos, os três primeiros componentes explicaram 77,05% da variância observada, cujos valores foram 41,44; 19,69 e 15,92, respectivamente (Tabela 2). As variáveis R, G e RVI foram negativamente correlacionadas com RVIADAP e MPRI e todas elas contribuíram bastante para a variância observada (Figura 3, Tabela 2). Tanto o índice de clorofila (chnrgb) e como o índice de reflectância fotoquímica modificada (MPRI) não apresentaram correlação com os variáveis relacionadas com os nematoides no solo e/ou na raiz. Quilogramas por hectare e clorofila total não foram explicados pelos dois primeiros planos dimensionais, indicando que suas variâncias estejam em outro plano dimensional não apresentado. As variáveis relativas à população tiveram comportamento semelhante, estando todas no mesmo plano e no mesmo eixo, indicando uma relação diretamente proporcional, Figura 3, podendo ser interpretada como variáveis redundantes.



**Figura 3.** Análise de Componentes principais feita dos dados da safra 15-16 aos 90 dias após o plantio. Índices de Vigor Relativo (RVI), Índice de Reflectância Fotoquímica Modificada (MPRI), Produtividade em sacas por hectare (scha), com Índice de Vigor Relativo Adaptado (RVIADAP), somatório de clorofila A e B obtido com clorofilômetro (clorofila), índice de clorofila (ChNRGB), Bandas obtidas pela câmera RGB nas faixas do vermelho (red), verde (green) e azul (blue), população de nematoides presentes na raiz aos 45 dias (PR45), população de nematoides presentes na raiz aos 90 dias (PR90), População presente no solo e na raiz aos 90 dias após o plantio (SR90), População total dos somatórios de 30, 60 e 90 dias obtidos da raiz (CNR), População total dos somatórios de populações aos 30, 60 e 90 dias obtidos no solo e na raiz (RST). DIM 1 refere-se à primeira dimensão ou primeiro componente e DIM 2 refere-se ao segundo componente principal.

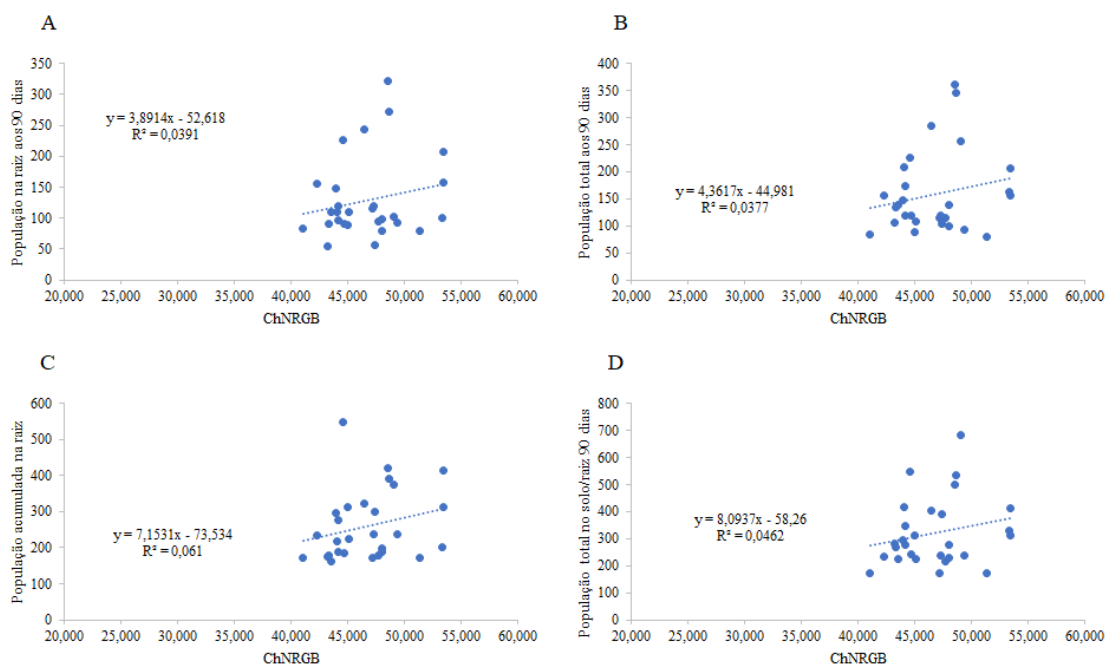
Para a análise de regressão na safra 2015/16 aos 30, 60 e 90 dias, com os fatores isolados do índice de clorofila (ChNRGB), em relação às populações de nematoides nas raízes (A), população total (B), população acumulada na raiz (C) e população total no solo e na raiz aos 90 dias, foram constatados comportamentos semelhantes entre si, porém, em todos os quatro gráficos, foram encontrados baixos coeficientes de regressão, com relação abaixo de 0,1, o que indica baixa relação entre as variáveis analisadas, nas populações presentes no solo e na raiz, influenciando no índice de clorofila (Figura 4). A faixa do visível pode exibir

respostas espectrais que possibilitam a identificação de estressores bióticos na parte aérea da planta, visto, muitas vezes, causarem o colapso de cloroplastos e sintomas foliares característicos, entretanto, quando se trata de patógenos de solo como a maioria dos fitonematoides, nem sempre refletem com exatidão as alterações encontradas na planta. Seu hábito alimentar de furar e sugar os conteúdos de células das raízes produz menos injúria aparente nas folhas (YUAN et al., 2014). Susič et al. (2018) não observaram modificações na faixa do visível que possibilitassem a separação de plantas de tomate infestadas com *Meloidogyne incognita* daquelas que estavam em situação de estresse hídrico (seca). A fluorescência de clorofila é sensível às primeiras reações de estresse da planta, mas, em alguns casos, pode não fornecer informação suficiente para identificar doenças (MAHLEIN, 2016), sendo necessário o monitoramento desses índices nos dias iniciais de infecção. Os resultados aqui encontrados corroboram Susič et al. (2018), que não encontraram diferenças significativas nos níveis de atividade fotossintética aos 52 dias após a infecção.

**Tabela 2.** Matriz de correlação das variáveis relacionadas tendo como referência dados da safra 15-16 aos 90 dias. As dimensões da análise de componentes principais foram feitas com significância de  $p < 0.05$ .

Variáveis	Dim 1	Dim 2	Dim 3
r	-0.706	ns	ns
g	-0.546	ns	ns
b	ns	ns	-0.728
mpri	0.764	ns	ns
chnrgb	ns	ns	0.981
rvi	-0.825	ns	ns
rviadap	0.814	ns	ns
pr45	0.547	ns	ns
pr90	0.598	0.579	ns
sr90	0.640	0.622	ns
cnr	0.776	0.519	ns
rst	0.735	0.535	Ns
Variância Explicada	41,44	19,69	15,92
Variância Acumulada	41,44	61,13	77,05

ns = não significante a  $p < 0,05$ .



**Figura 4.** Relação do Índice de clorofila (ChNRGB) com a população de nematoides na raiz aos 90 dias após o plantio (A). Relação do ChNRGB com a somatória das populações de nematoides no solo e na raiz encontradas aos 90 dias após o plantio (B). Relação do ChNRGB com a população de nematoides acumulada na raiz aos 30, 60 e 90 dias após o plantio (C). Relação do ChNRGB com o número total de nematoides ao fim do ciclo da cultura (D).

A análise de componentes principais da safra 2016-2017 constatou que os três primeiros eixos principais puderam explicar 80,39% da variância total, com o primeiro, segundo e terceiro eixo apresentando variância de 46,82; 33,51 e 07,36%, respectivamente (Tabela 3). Na referida safra, a correlação entre as variáveis R, G e B contribuiu para a variância do primeiro componente e, assim, como na safra anterior, foram negativamente correlacionados com RVIADAP e MPRI, que também dão suporte à variância observada nessa análise (Figura 5, Tabela 3). O índice RVI se aproxima mais do eixo y e mostra uma relação inversa ao MPRI e RVI adaptado (RVIADP). A produtividade, representada em quilogramas por hectare, obteve um comportamento semelhante ao índice RVI adaptado, MPRI e ao índice de clorofila, estando ambos no mesmo plano. As variáveis relativas à população tiveram um comportamento semelhante, estando todas no mesmo plano e no mesmo eixo, indicando uma relação diretamente proporcional, Figura 5, não tendo sido observada correlação significativa entre as variáveis relativas aos nematoides e os índices de clorofila (chnrgb) e de reflectância fotoquímica modificada (mpri) (Figura 5, Tabela 3).



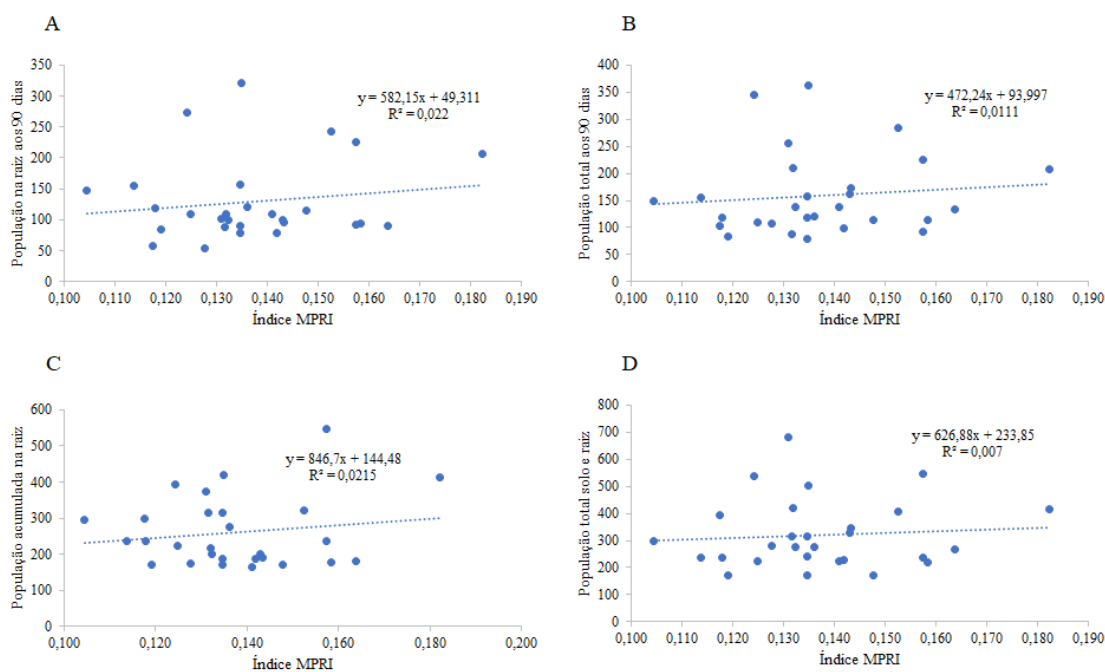


*incognita* (SUSIČ et al., 2018). O uso do índice MPRI (Índice de Reflectância Fotoquímica Modificada) proposto Yang & Muller (2008) baseia-se na diferença entre o verde e o vermelho. Entretanto, para que este e outros índices sejam formados, alguns erros de procedimentos constatados por Linhares (2016) não podem ocorrer no momento de aquisição das imagens. Susic et al. (2018) mostraram que, à medida que a planta amadurece e as infestação de *M. incognita* se tornam mais estabelecidas, a detecção começa a ser possível, pois as faixas espectrais relevantes começam a mudar para a faixa do visível. Problemas comuns na obtenção de imagens ocorrem na altura de voo acima da adequada para a obtenção das imagens para alvos pequenos, sendo que este mesmo autor utilizou a mesma sobreposição utilizada neste trabalho, que foi de 60%, com isso foram possíveis o estudo da ortofoto e a geração do índice MPRI. Diversas influências ao nível do dossel da planta podem comprometer algumas características espectrais e, conseqüentemente, dificultar a identificação de possíveis agentes estressores. *Background* do solo, influência dos órgãos da planta que ficam acima das folhas, morfologia foliar, como o ângulo da folha, podem influenciar as características espectrais do dossel das plantas (YUAN et al., 2014).

**Tabela 3.** Matriz de correlação das variáveis relacionadas tendo como referência dados da safra 16-17 aos 45 dias. As dimensões da análise de componentes principais foram feitas com significância de  $p < 0.05$ .

Variáveis	Dim 1	Dim 2	Dim 3
r	-0.930	ns	ns
g	-0.796	ns	ns
b	-0.913	ns	ns
mpri	0.864	-0.452	ns
chnrgb	0.795	-0.505	ns
rvi	-0.865	ns	ns
rviadap	0.860	-0.451	ns
sha	ns	-0.467	ns
pr90	ns	0.454	0.427
srt	ns	0.859	ns
csr60	0.551	0.802	ns
cn60r	0.543	0.809	ns
cnr90	ns	0.866	ns
pr30	ns	ns	0.860
pr60	0.537	0.809	ns
Variância Explicada	46,82	33,51	07,36
Variância Acumulada	46,82	80,34	87,70

ns = não significante a  $p < 0,05$ .



**Figura 6.** Relação do Índice de Reflectância Fotoquímica Modificada (MPRI) com a população de nematoides na raiz aos 90 dias após o plantio (A). Relação do MPRI com a somatória das populações de nematoides no solo e na raiz encontradas aos 90 dias após o plantio (B). Relação do MPRI com a população de nematoides acumulada na raiz aos 30, 60 e 90 dias após o plantio (C). Relação do MPRI com o número total de nematoides ao fim do ciclo da cultura (D). Todas as variáveis analisadas para a safra 2016-2017.

Na busca das diferenças espectrais com o índice de vegetação por diferença normalizada (NDVI), os resultados permitiram assumir que *H. glycines* influenciou a resposta espectral das plantas de soja, utilizando técnicas de sensoriamento remoto por espectrorradiometria (SANTOS JUNIOR et al., 2002).

Alves et al. (2015), avaliando danos causados por *Aphis glycines*, não encontraram interferência do efeito acumulativo de pulgões sobre a reflectância do vermelho. Neste trabalho, também não foi evidenciada essa interferência (Figura 3). Salientando a importância de um diagnóstico mais completo de doenças de plantas, Garcia –Ruiz et al. (2013) obtiveram êxito para os primeiros resultados promissores no monitoramento de Huanglongbing (*Candidatus liberibacter asiaticus*/ *Candidatus liberibacter americanus*), com interferência na região do verde (560 nm), sendo este o primeiro grande passo para a validação e patenteamento de assinaturas espectrais no controle de doenças de plantas de citros.

O desafio para a pesquisa ainda está na obtenção de índices espectrais que associem determinando banda ao dano de um patógeno específico. Martins & Galo (2015) ressaltam a importância da obtenção dessas assinaturas com base nos índices NDVI, MCARI e TCARI,

sendo que, para este estudo, estes autores encontraram diferenças apenas para plantas saudáveis e infectadas, não diferenciando qual o patógeno que atacava as plantas. O uso de pesquisas de índices para situações determinadas mostra-se indispensável para os diversos patógenos.

## CONCLUSÕES

Medições do teor de clorofila não são indicadas para diagnosticar e distinguir plantas de soja infestadas com *Pratylenchus brachyurus* de plantas não infestadas, usando faixas visíveis da luz como assinatura espectral. Não foram obtidas relações entre os índices de clorofila, MPRI e RVI adaptado com os danos causados por *Pratylenchus brachyurus*, servindo de base para futuros trabalhos a utilização de outros índices na faixa do visível e infravermelho..

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, M. M., AL-ANI, A., EAMUS, D., & TAN, D. K. An algorithm based on the RGB colour model to estimate plant chlorophyll and nitrogen contents. In: **2013 International Conference on Sustainable Environment and Agriculture**. International Association of Computer Science & Information Technology Press, 2013.

ALVES, T. M., MACRAE, I. V., & KOCH, R. L. Soybean aphid (Hemiptera: Aphididae) affects soybean spectral reflectance. **Journal of economic entomology**, v.108, n. 6, p.2655-2664, 2015.

BORTOLINI, G. L., ARAÚJO, D. V., ZAVISLAK, F. D., JUNIOR, J. R., KRAUSE, W. Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de semente de soja. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, p.818-830, 2013.

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**, 77p., 1972.

DE CARVALHO, O. A., & MENESES, P.R. Spectral correlation mapper (SCM): an improvement on the spectral angle mapper (SAM). In: **Summaries of the 9th JPL Airborne Earth Science Workshop, JPL Publication 00-18**. JPL Publication Pasadena, CA, 2000.

EPIPHANIO, J. C., GLERIANI, J. M., FORMAGGIO, A. R., & RUDORFF, B. F. Índices de vegetação no sensoriamento remoto da cultura do feijão. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.31, n. 6, p.445-454, 1996.

GARCIA-RUIZ, F., SANKARAN, S., MAJA, J. M., LEE, W. S., RASMUSSEN, J., & EHSANI, R. Comparison of two aerial imaging platforms for identification of Huanglongbing-infected citrus trees. **Computers and Electronics in Agriculture**, v.91, p.106-115, 2013.

GOODELL, P.; FERRIS, H. Plant-parasitic nematode distributions in an alfalfa field. **Journal of Nematology**, v.12, n. 2, p.136, 1980.

HATFIELD, J. L., GITELSON, A. A., SCHEPERS, J. S., & WALTHALL, C. L. Application of spectral remote sensing for agronomic decisions. **Agronomy Journal**, v.100, n. Supplement\_3, p.S-117-S-131, 2008.

HUANG, W., LAMB, D.W., NIU, Z., ZHANG, Y., LIU, L., WANG, J. Identification of yellow rust in wheat using in-situ spectral reflectance measurements and airborne hyperspectral imaging. **Precision Agriculture**. v.8, p.187–197, 2007.

INOMOTO, M.M., SILVA, R.A. & PIMENTEL, J.P. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* e *P. coffeae* em quiabeiro. **Fitopatologia Brasileira**, n.29, p.551-554, 2004.

JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Report**, v.48, p.692.

LAMPARELLI, R. A. C., ROCHA, J. V., BORGHI, E. **Geoprocessamento e agricultura de precisão: Fundamentos e Aplicações**. Livraria e editora agropecuária Ltda., Guaíba-RS, 2001 118p.

LINHARES, M. M. de A., **Uso de veículo aéreo não tripulado na determinação de índice de vegetação em área de pastagem em Nova Mutum-MT**. 2016. 121 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

MARTINS, D. M.; GALO, M. de L. B. T. Caracterização espectral da cana-de-açúcar infectada por nematoides e *Migdolus fryanus* por espectrorradiometria de campo. **Boletim de Ciências Geodésicas**, v.21, p.783-796, 2015.

MAHLEIN, A.-K. Plant disease detection by imaging sensors – parallels and specific demands for precision agriculture and plant phenotyping, **Plant Disease**, v.100, p.241–251, 2016.

MIRIK, M., A., R. J., MICHELS, G. J., & ELLIOTT, N. C. Spectral vegetation indices selected for quantifying Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia*) feeding damage in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Precision agriculture**, v.13, n. 4, p.501-516, 2012.

SANTOS JUNIOR, R. F., SANTOS, J. M., RUDORFF, B. F. MARCHIORATO, I. A. Detecção de *Heterodera glycines* em plantio de soja mediante espectrorradiometria no visível e infravermelho próximo. **Fitopatologia Brasileira**, p.355-360, 2002.

SUSIČ, N., ŽIBRAT, U., ŠIRCA, S., STRAJNAR, P., RAZINGER, J., KNAPIČ, M., VONČINA, A., UREK, G., STARE, B.G. Discrimination between abiotic and biotic drought stress in tomatoes using hyperspectral imaging. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v.273, p.842-852, 2018.

TEMPONI BOECHAT, L., DE CARVALHO PINTO, F. D. A., DE PAULA JÚNIOR, T. J., MARÇAL QUEIROZ, D., & TEIXEIRA, H. Detecção do mofo-branco no feijoeiro, utilizando características espectrais. **Revista Ceres**, v.61, n. 6, 2014.

TIHOHOD, D., 1996. **Caracterização morfobiométrica e bioquímica de populações brasileiras de *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952 e *Heterodera fici* Kirjanova, 1954.** Jaboticabal. 110p.Tese de livre Docência, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista.

VARELLA, C. A. A. **Análise de componentes Principais.** Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro- Rio de Janeiro. 2008, Disponível em: <http://www.ufrj.br/institutos/it/deng/varella/Downloads>. Acessado em 15 de janeiro de 2018.

YANG, Z.; WILLIS, P.; MUELLER, R. Impact of Band-Ratio Enhanced AWIFS Image to Crop Classification Accuracy. In: Pecora – The Future of Land Imaging. Going Operational, 17. 2008, Denver, Colorado, USA. **Proceedings...** Maryland: (ASPRS), 2008. Disponível em: Acesso em: 15 dez. 2017.

YUAN, L., HUANG, Y., LORAAMM, R.W., NIE, C., WANG, J., ZHANG, J. Spectral analysis of winter wheat leaves for detection and differentiation of diseases and insects. **Field Crops Research**, v.156, p.199-207, 2014.

## 6. ARTIGO CIENTÍFICO II

### COMPATIBILIDADE DE PRODUTOS COMERCIAIS COM BACTÉRIAS E FUNGOS E NEMATICIDA QUÍMICO CADUSAFÓS

**RESUMO:** Pela importância econômica dos nematoides nos cereais, mais particularmente na soja, estratégias de manejo baseadas em práticas sustentáveis são atualmente uma demanda evidente para essa cultura. O uso de nematicidas químicos, pelas possíveis intoxicações agudas e crônicas, além de contaminação de lençóis freáticos, vem possibilitando abertura a outras estratégias com princípios embasados no controle biológico, que ocorre naturalmente no solo, sendo este controle otimizado. Todavia, a utilização de nematicidas químicos em conjunto com estes fungos e bactérias, a longo prazo, pode inviabilizar a funcionalidade desses organismos biológicos. O objetivo deste trabalho foi testar a viabilidade de três produtos comerciais à base de bactérias (Onix<sup>®</sup>, Rizos<sup>®</sup>, Orgasol<sup>®</sup> e Nemix<sup>®</sup>) e quatro à base de fungos (Quality<sup>®</sup>, Trichodermax<sup>®</sup>, Profix Max<sup>®</sup> e Nemat<sup>®</sup>) no controle de fitonematoides, na presença e ausência do nematicida químico Cadusafós<sup>®</sup>. O trabalho foi desenvolvido no laboratório de fitopatologia do IFGoiano, Campus Rio Verde. O delineamento foi inteiramente casualizado com três repetições por tratamento, consistindo de dois fatoriais 4x2 para fungos e mais dois fatoriais 4x2 para bactérias. O experimento foi repetido duas vezes para confirmação do comportamento e análise conjunta. Para bactérias, não houve correlação para as duas vezes em que o experimento foi desenvolvido, sendo analisados os resultados de forma separada. Para fungos, após 24 horas de contato com o nematicida, não houve esporos sobreviventes, com o Profix Max<sup>®</sup> e Nemat<sup>®</sup>, houve maior porcentagem de sobrevivência para os tratamentos sem a presença do químico. Concluiu-se que o nematicida químico Cadusafós apresenta compatibilidade com os produtos biológicos testados.

**Palavras-chave:** Nematoides, biocontrole, sobrevivência.



## 6 SCIENTIFIC ARTICLE II

### COMPATIBILITY OF COMMERCIAL PRODUCTS WITH BACTERIA AND FUNGI AND CADUSAFOS CHEMICAL NEMATOCIDE

**ABSTRACT:** Due to the economic importance of nematodes in cereals, more specifically in soybeans, management strategies based on sustainable practices are currently an evident demand for this crop. The use of chemical nematicides, due to the possible acute and chronic intoxications, as well as contamination of groundwater, has allowed the opening to other strategies based on the biological control that naturally occurs in the soil, which is optimized. However, the use of chemical nematicides with these fungi and bacteria in the long term may render the functionality of these biological organisms unfeasible. This study aimed to test the viability of three commercial bacteria-based products (Onix<sup>®</sup>, Rizos<sup>®</sup>, Orgasol<sup>®</sup>, and Nemix<sup>®</sup>) and four fungus-based products (Quality<sup>®</sup>, Trichodermax<sup>®</sup>, Profix Max<sup>®</sup>, and Nemat<sup>®</sup>) to the phytoematoid control in the presence and absence of the Cadusafos<sup>®</sup> chemical nematicide. This experiment took place in the phytopathology laboratory of the Instituto Federal Goiano (IFGoiano) (Goiano Federal Institute) Rio Verde Campus, Goiás State, Brazil. The design was completely randomized with three replicates per treatment, consisting of two 4x2 factorial designs for fungi and two 4x2 factorial designs for bacteria. The experiment was repeated twice for confirmation of the behavior and joint analysis. There was no correlation for the two times the experiment was carried out for the bacteria, and the results were analyzed separately. There were no surviving spores for fungi after 24 hours of contact with the nematicide with Profix Max<sup>®</sup> and Nemat<sup>®</sup>, and there was a higher survival percentage for treatments without the chemical presence. It was concluded that the cadusafos chemical nematicide is compatible with the biological products tested.

**Keywords:** Nematodes. Biocontrol. Survival.

## INTRODUÇÃO

Pela importância a nível de agricultura mundial, medidas de controle de fitonematoides, que visem a impedir sua entrada em determinada região ou estabilizar suas populações, são necessárias e ao mesmo tempo desafiadoras. O manejo integrado utilizando diferentes formas de controle deve ser bem delineado, de maneira que se complementem, sendo essa uma situação ideal no combate a esses patógenos (MENDES LOPES 2017).

Atualmente, algumas formas de controle de nematoides mais comuns são baseadas em medidas legislativas que incluem desde limpeza de equipamentos até procedimentos quarentenários, culturais, além do controle químico, sendo cada uma com suas particularidades e cuidados para sua viabilização (KERRY, 1989; ASMUS et al., 2008). Embora o uso de nematicidas químicos seja efetivo, matando em pouco tempo os nematoides, seu uso tem sido questionado pelo aumento na preocupação de contaminações ambientais e riscos à saúde humana, custos elevados de aplicação e ação dependente das condições do solo (NOLLING & BECKER, 1994). Em muitos países, preocupações com o meio ambiente e com a segurança alimentar criaram uma pressão social e legal para a diminuição e, em muitos casos, remoção destes químicos dos mercados (CALVER et al., 1998).

Com a perda de espaço dos nematicidas químicos, novas estratégias ecologicamente corretas têm sido desenvolvidas. O controle embasado em inimigos naturais surgiu como alternativa à pressão social pela diminuição de nematicidas químicos. Este controle se baseia no uso de um organismo que parasite ou prede o nematoide. Fungos como *Pochonia chlamydosporia* (TOBIN et al., 2008) e bactérias, como *Bacillus subtilis* (HIGAKI, & ARAÚJO 2012) têm sido utilizados como agentes de biocontrole de nematoides.

A atual conjuntura do manejo de fitonematoides tem levado à integração das medidas de controle como incorporar o uso de bioagentes com práticas culturais adequadas, plantas resistentes, plantas nematicidas ou antagonistas e, quando viável, com uso de nematicidas (DESAEGER & RAO, 2000). O sucesso de um microrganismo no controle biológico de nematoides depende de algumas características, como ser geneticamente estável; não ser fastidioso; fácil de ser multiplicado, armazenado e dispersado; adaptável às condições ambientais adversas; efetivo contra uma ampla gama de patógenos; e resistentes e

compatíveis com defensivos (JATALA, 1986; STIRLING, 1991; ETHUR et al., 2008). A forma como uma determinada espécie atua influencia na escolha do seu uso. As formas mais comuns de atuação de agentes de biocontrole de nematoides são predação, endoparasitismo, parasitismo de ovos e fêmeas sedentárias, além de produção de metabólitos tóxicos (STIRLING, 1991).

O uso de fungos dos gêneros *Trichoderma* e *Purpureocillium* tem se mostrado promissor no controle biológico de fitonematoides. *Paecilomyces lilacinus* são parasitas de ovos e fêmeas de espécies de *Meloidogyne*. Esses microrganismos agem na degradação da quitina que compõe essas estruturas (SAHEBANI & HADAVI 2008; LOPEZ & SWORD. 2015).

O gênero *Trichoderma* atua dentro do grupo dos produtores de metabólitos tóxicos aos nematoides, juntamente com os gêneros *Penicillium* e *Aspergillus* (GONÇALVES, 2016). Algumas espécies de *Trichoderma* atuam de forma indireta no controle de fitonematoides, induzindo resistência. Além disso, a aplicação de *Trichoderma* spp. pode aumentar a disponibilidade de nutrientes por serem eles solubilizados por esses fungos, o que promove o crescimento das plantas, permitindo que tenham uma melhor absorção e distribuição desse nutrientes em diferentes órgãos (HARMAN et al., 2000; HWANG & BENSON, 2003; LÓPEZ-BUCIO et al., 2015; CONTINA et al., 2017).

Bactérias obtidas da região rizosférica também vêm sendo amplamente utilizadas na composição de nematicidas biológicos (ZHOU et al., 2016). A aplicação das bactérias, sobretudo do gênero *Bacillus*, pode ser dar por microbiolização, por meio do tratamento de sementes, sendo uma potencial forma de controle na aplicação. Os exsudatos liberados poderão ser utilizados como fonte de alimento por estas bactérias que, por sua vez, colonizarão suas raízes desde sua emergência (VAZ et al., 2011). A maioria dos produtos comercializados são disponibilizados na forma líquida ou pó, sendo misturados a outros produtos químicos para aplicação em sulco de plantio (KUBO et al, 2012).

Pontos práticos e pontuais na agricultura, como a mistura de produtos biológicos com nematicidas químicos e biológicos num mesmo tanque de aplicação, hoje são uma necessidade da agricultura. Entretanto, há uma incógnita na sua combinação quanto ao fato de os nematicidas químicos diminuïrem a viabilidade dos nematicidas biológicos. O principal questionamento é se a mistura em calda pode comprometer a viabilidade das bactérias e fungos a longo prazo. O objetivo deste trabalho foi simular combinações entre bactérias e

fungos rizosféricos com o nematicida químico à base de cadusafós em função do tempo, para compreender a dinâmica de interação entre esses grupos.

## METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Fitopatologia - Ecologia Microbiana, localizado no Instituto Federal de Ciência e Tecnologia Goiano- Campus Rio Verde- GO. As amostras foram encaminhadas ao laboratório pelos fabricantes e armazenadas à temperatura de 4 °C em câmara fria até a realização do experimento.

### Testes de Compatibilidade entre Nematicidas Biológicos e Cadusafós

#### *Descrição dos produtos*

Em condições de plantio, todos os produtos são usualmente misturados e aplicados em volume de calda de 20L ha<sup>-1</sup>. Os produtos biológicos à base de bactérias e fungos, além do nematicida químico à base de cadusafós, foram padronizados em um único volume de calda de 20L ha<sup>-1</sup>. Foram definidos quatro produtos à base de bactérias e quatro fungos que atuam impedindo a propagação e desenvolvimento de nematoides do gênero *Meloidogyne* e *Pratylenchus*, conforme descrito nas Tabelas 1 e 2.

**Tabela 1.** Produtos à base de bactérias usados no controle de fitonematoides.

Nome comercial	Formulação	Ingrediente ativo	Modo de ação
Onix <sup>®</sup>	sc	<i>Bacillus methilotrophicus</i>	nematicida microbiológico
Rizos <sup>®</sup>	sc	<i>Bacillus subtilis</i>	contato
Orgasol <sup>®</sup>	sc	Mix de bactérias	-
Nemix <sup>®</sup>	wp	<i>B. subtilis</i> / <i>B. licheniformis</i>	contato

SC = Suspensão Concentrada; WP = Pó Molhável.

**Tabela 2.** Produtos à base de fungos usados no controle de fitonematoides.

Nome comercial	Formulação	Ingrediente ativo	Modo de ação
Quality <sup>®</sup>	WG	<i>Trichoderma asperellum</i>	contato
Trichodermax <sup>®</sup>	EC	<i>Trichoderma asperellum</i>	contato
Profix Max <sup>®</sup>	WP		-
Nemat <sup>®</sup>	WP	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Contato/ nematicida microbiológico

WP = Pó molhável; EC = Concentrado emulsionável, WG= Granulado dispersível.

### *Tratamentos e delineamento experimental*

Os experimentos foram conduzidos em condições controladas de laboratório (25°C), inteiramente casualizados, em esquema fatorial de 4x2 para fungos e 4x2 para bactérias. Foram avaliados 4 produtos à base de bactérias rizosféricas, utilizadas comercialmente, além de ausência e presença do nematicida químico cadusafós, em 2 tempos, 0 e 24 horas após formulação da calda em suspensão. Para os fungos, também foram avaliados 4 produtos biológicos e o efeito da interação com o nematicida químico, além da porcentagem de germinação por produto em dois tempos de plaqueamento, 0 e 24 horas após a inoculação.

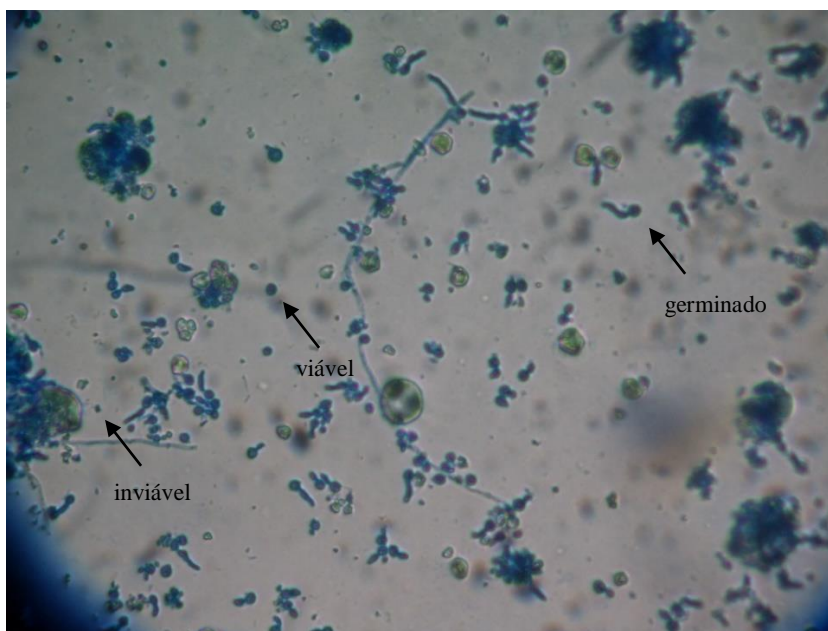
Os tratamentos foram constituídos por 4 produtos à base de bactérias, Tabela 1, e 4 produtos à base de fungos, Tabela 2, combinados ou não com cadusafós (Rugby<sup>®</sup>), totalizando 16 tratamentos. Todos os experimentos foram repetidos duas vezes com 3 repetições. Cada amostra foi plaqueada em meio de cultura em triplicata. As dosagens das bactérias e fungos seguiram as indicações dos rótulos de cada produto. Inicialmente, para cada produto, foi preparada uma suspensão de trabalho na concentração ajustada para  $1 \times 10^9$  células ml<sup>-1</sup>. As suspensões de fungos e bactérias foram individualmente fracionadas em tubos falcon, 40 ml por tubo. Aos tratamentos contendo a mistura de biológicos e químico, foram incorporados 10 mL de cadusafós (Rugby<sup>®</sup>) em forma de suspensão encapsulada, em seguida, as suspensões foram agitadas em vortex por 30s para homogeneizar as amostras.

### *Avaliação*

Os tratamentos foram avaliados logo após a mistura do biológico e do químico (Tempo 0- T0) e 24 horas após (Tempo 24 – T24). Na avaliação de cada parcela, foi retirada uma alíquota de 1 mL, submetida à diluição seriada em tubos de ensaio contendo 9 mL de

solução salina. Para o plaqueamento das parcelas contendo bactérias, foram feitas cinco diluições seriadas até obter concentração de  $1 \times 10^3$  células  $\text{ml}^{-1}$ . Com o auxílio de uma alça de Drigalski, foi feito o plaqueamento em meio ágar nutriente (N.A), onde foram adicionados 100 $\mu\text{l}$  em cada placa contendo meio Nutriente Agar (NA). Ao fim deste processo, as placas foram seladas com filme plástico, identificadas e levadas para estufa bacteriológica a  $35^\circ\text{C}$ , onde permaneceram por 24h para avaliação.

Os tratamentos contendo fungos foram avaliados pelo método da microgota, que consiste no plaqueamento de 5 alíquotas de 10 $\mu\text{l}$  em meio BDA. Nessa metodologia, as amostras foram plaqueadas na concentração de  $1 \times 10^8$  sem espalhamento na placa. Assim, as suspensões contidas nos tubos falcon foram pipetadas diretamente em placas de Petri com 5 pontos de avaliação por placa, não havendo necessidade de diluições seriadas. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em B.O.D a  $25^\circ\text{C}$  na ausência de luz. As placas montadas com os tratamentos no tempo zero (T0), contendo fungos, foram avaliadas 14 horas após o plaqueamento, e as placas montadas no tempo vinte e quatro (T24), também com os fungos, foram avaliadas 56 horas após o plaqueamento, ambos com o auxílio de um microscópio óptico, usando objetiva de 400x. Em cada microgota, foram contados aproximadamente 100 esporos, que serão classificados como esporos germinados, esporos viáveis intumescidos e esporos mortos (Figura 1).



**Figura 1.** Visualização de esporos contáveis, divididos em três categorias: germinados, viáveis e inviáveis.

## **Análise Estatística**

A análise estatística foi feita pelo programa Sisvar (Versão 5.6, Build 86- Dex-UFLA). Foram feitas as verificações das pressuposições da análise de variância com o teste de Shapiro-Wilk ( $\alpha=0,05$ ) para a normalidade dos resíduos, homogeneidade da variância com o teste de Leneve ( $\alpha=0,05$ ), independência dos resíduos pelo teste de Durbin-Watson. ( $\alpha=0,05$ ) e verificação da existência de *outliers*. Procedeu-se às análises de variância e, quando significativas, foi utilizado teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os fungos, quando foram evidenciadas as médias para os dois anos, não foram encontradas diferenças para o tempo 0 entre os produtos utilizados, quando comparado o uso e não uso de cadusafós. Da mesma forma, não foram encontradas diferenças quando comparadas as porcentagens de sobrevivência entre os produtos biológicos, não havendo também efeito da interação (Tabela 1).

No período 24 horas após a inoculação, houve mortalidade em todos os produtos biológicos submetidos à presença do cadusafós. Para os tratamentos que não foram expostos ao cadusafós, o *Paecilomyces lilacinus* e Profix Max<sup>®</sup> não diferiram estatisticamente, com porcentagem de sobrevivência de 84,89% e 78,52%, respectivamente. Alguns defensivos agrícolas como cadusafós são efetivos no controle de nematoides do solo. Entretanto, é difícil encontrar agentes de biocontrole que sobrevivam e mantenham sua eficácia quando aplicados em conjunto com defensivos (SHARMA et al., 2009). Para os dois produtos à base do fungo *Trichoderma asperellum* (Quality<sup>®</sup> e Tricodermax<sup>®</sup>), após 24 horas da inoculação em água, as porcentagens médias de sobrevivência foram de 64,14% e 63,37%, respectivamente, não diferindo entre si, porém diferindo dos demais tratamentos, que se mostraram superiores estatisticamente (Tabela 2). No presente trabalho, o nematicida cadusafós foi utilizado em dose de campo, conforme recomendado pelo fabricante, juntamente com bioagentes, numa mesma calda. Uma saída para essa situação de incompatibilidade é otimizar o uso dos microrganismos antagonistas e dos agrotóxicos. Isso pode ser feito ajustando a concentração do defensivo, usando doses menores em combinação com os agentes de biocontrole. Há algumas formulações desenvolvidas para biocontrole que alcançaram um controle de quase 100% de doenças quando aplicadas em conjunto com defensivos em baixas concentrações (WINIEVISKI et al., 2001); em algumas situações, com resultados melhores do que aqueles observados quando o produto químico é aplicado isoladamente (QUIN & TIAN, 2004). O uso do fungo *Pichia guilliermondii* em frutos de citros em combinação com doses muito baixas de tiabendazol reduziu o bolor verde dos citros (*Penicillium digitatum*) a um nível similar àquele alcançado pela dosagem recomendada pelo fabricante quando aplicado sozinho (DROBY et al., 1993), contribuindo para manter níveis baixos de resíduos do fungicida nos frutos (HOFSTEIN et al., 1994).

A efetividade do microrganismo antagonista quando misturado com agentes químicos depende tanto da concentração do defensivo quanto do período e modo de armazenamento da mistura. Ethur et al., (2008) ressaltaram o efeito das diferentes embalagens e formas de conservação na sobrevivência de *Trichoderma* spp, ponto esse levado em consideração no presente trabalho, com conservação em 25°C para uma garantia da germinação de esporos, aproveitando o potencial dos fungos testados. No tempo 0, não houve diferença na germinação de esporos dos tratamentos com nematicida químico daqueles em que foi testado apenas o fungo na forma isolada (Tabela 3). Esse resultado mostra que os microrganismos utilizados neste trabalho mantêm a sua viabilidade mesmo após serem misturados com cadusafós. Normalmente, quando produtos biológicos e químicos são misturados, recomenda-se que sejam aplicados imediatamente (BARKAI-GOLAN, 2001). Em termos práticos para o produtor, isso significa um tempo de segurança entre a mistura dos dois nematicidas (biológicos e químico) e sua aplicação no campo. É importante conhecer as informações básicas de sobrevivência dos agentes de biocontrole antes de recomendar seu uso, levando em conta também sua resistência a condições adversas, como ausência ou presença de controle químico, qual a dosagem do defensivo bem como sua persistência no solo (SANTIAGO, 2006).

As taxas de germinação de 75,23%, Tabela 3, obtidas para o fungo *P. lilacinus*, quando plaqueado após a inoculação, foram semelhantes às encontradas por Nunes (2008), de 92% e 87% com compatibilidade comprovada de cadusafós com os fungos testados neste trabalho. Esses resultados corroboram os resultados de Nunes (2008) para fipronil em duas formulações, levando a confirmar que tanto o cadusafós, que atua como inibidor de acetil colinesterase, quanto o fipronil, que atua como bloqueador da passagem de íons de cloro através dos receptores GABA e dos canais de glutamato-cloro, apresentam compatibilidade com esses fungos testados.

**Tabela 3.** Porcentagem de esporos germinados 14 horas após a inoculação.

Tempo 0			
Tratamento	Ingrediente ativo	Fungo + Químico (%)	Fungo (%)
Quality®	<i>Trichoderma asperellum</i>	59,91 aA	63,40 aA
Trichodermax®	<i>Trichoderma asperellum</i>	65,27 aA	85,02 aA
Profix Max®		66,92 aA	77,86 aA
Nemat®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	75,23 aA	52,83 aA

Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ( $p=0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ( $p=0,05$ ).

Nos produtos biológicos à base de bactérias, para todas as espécies pertencentes ao gênero *Bacillus*, não houve correlação significativa entre os dois anos analisados. Quando comparados, houve decréscimo na contagem de UFC do primeiro para o segundo ano (Figuras 2 e 3). Isso pode ser reflexo do efeito do ambiente de armazenamento na viabilidade nos microrganismos ou da perda da viabilidade desses agentes quando estocados por longos períodos, mesmo quando essas condições seguem as recomendações dos fabricantes. É fundamental que os agentes biológicos mantenham as células viáveis. Quando estocados em condições ideais, seja em temperatura ambiente, seja em local refrigerado, bioprodutos para controle de fitopatógenos devem permanecer viáveis com uma vida de prateleira de pelo menos 1 ano (DROBY et al., 2009). Isso pode estar relacionado com questões fisiológicas e metabólicas das células após a reidratação. A adição de solventes aos bioagentes é uma etapa de extrema importância, mormente após um período de estocagem (ABADIAS, 2003).

**Tabela 4.** Porcentagem de esporos germinados 56 horas após a inoculação.

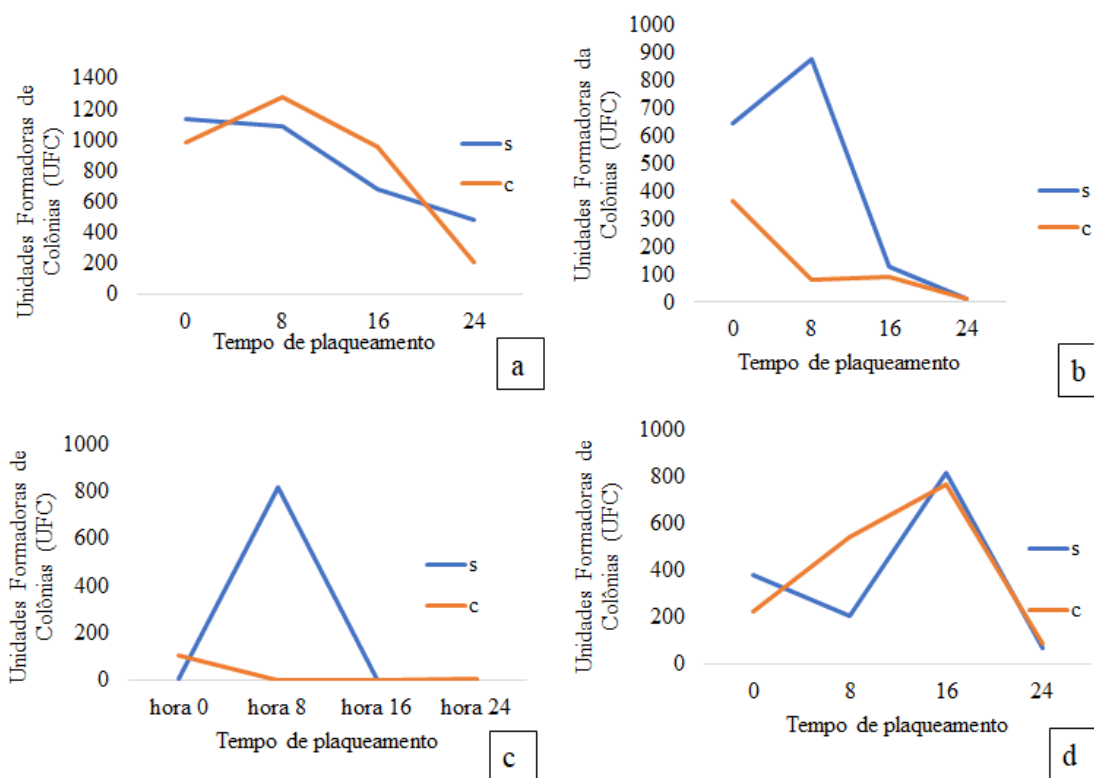
Tempo 24			
Tratamento	Ingrediente ativo	Fungo + Químico (%)	Fungo (%)
Quality <sup>®</sup>	<i>Trichoderma asperellum</i>	0 bA	62,14 aB
Trichodermax <sup>®</sup>	<i>Trichoderma asperellum</i>	0 bA	64,37 aB
Profix Max <sup>®</sup>		0 bA	84,89 aA
Nemat <sup>®</sup>	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0 bA	78,52 aA

Médias seguidas por letras minúsculas iguais não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ( $p=0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ( $p=0,05$ ).

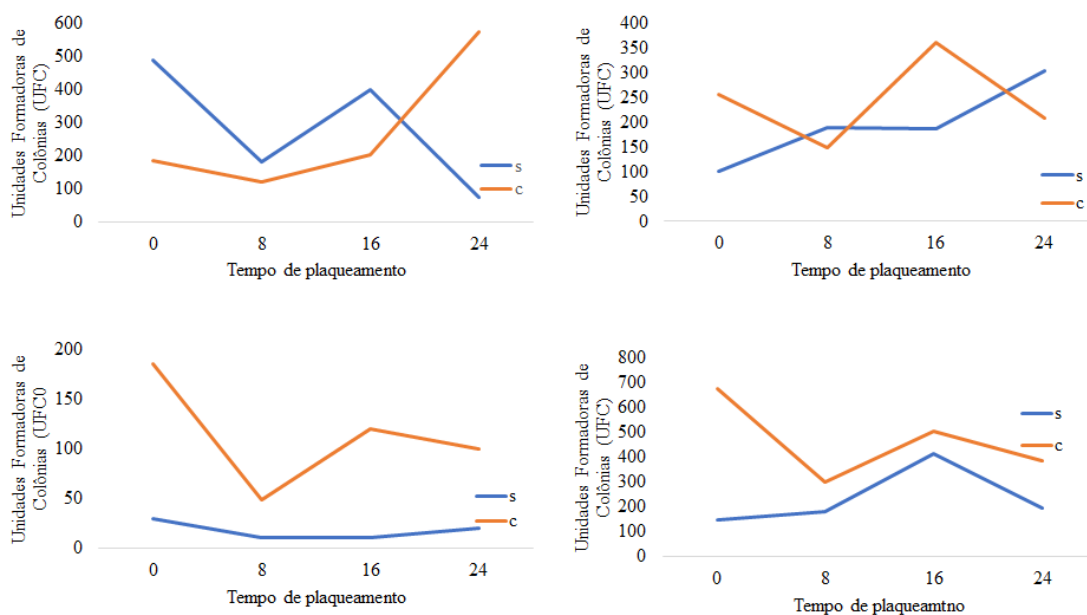
A dinâmica populacional de bactérias por tratamento apresentou comportamentos diferentes quando foram misturadas ao cadusafós. Entretanto, em geral, todos os produtos mantiveram o mesmo comportamento. Quando o bioproduto Onix<sup>®</sup> foi misturado ao nematicida químico, a contagem de UFC foi semelhante à contagem quando o produto foi testado de forma isolada (Figura 2a). Para o Rizos<sup>®</sup>, Figuras 2b e 3b, houve decréscimo nos dois anos para as bactérias com o cadusafós, já a população sem a presença do nematicida apresentou elevação populacional na população inoculada 24 horas depois. Para o complexo

de bactérias Orgasol<sup>®</sup>, o pico de máxima população foi encontrado 8 horas após a inoculação no primeiro ano, com o número de UFC decrescendo nos outros tempos analisados (Figura 2c). Do primeiro para o segundo ano, houve redução significativa da viabilidade de células desse tratamento (Figura 3c). No primeiro ano, Nemix<sup>®</sup> apresentou os picos de maior número de UFCs 16 horas após a inoculação e decréscimo populacional ao tempo de 24 horas (Figuras 2d e 3d). Este cenário se repetiu no segundo ano com dinâmica populacional semelhante, mas os valores absolutos de UFC foram diferentes, com números bem inferiores do segundo ano (Figura 3d).

De maneira idêntica aos fungos, os resultados de UFC de produtos biológicos que tinham como ingrediente ativo bactérias levantam novamente a discussão de encontrar maneiras e doses ideais para aplicação de produtos biológicos e químicos no controle de doenças de plantas. Há poucos trabalhos a respeito na literatura. A mistura de *Pseudomonas syringae* com baixas doses de ciprodinil conferiu controle efetivo de *Penicillium expansum*, causador do bolor azul em pera e maçã (ERRAMPALLI AND BRUBACHER, 2006; SUGAR AND BASILE, 2008) e reduziu em 90% o mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) também em maçã (ZHOU et al., 2002). A integração de espécies de *Bacillus* e outros agentes de biocontrole com defensivos agrícolas, especialmente com nematicidas químicos, não tem sido bem explorada e representa uma maneira viável para desenvolver estratégias de manejo mais efetivas, que contornem outros problemas, como, por exemplo, a resistência a determinados princípios ativos. Isso ocorre pelo fato de os agentes de biocontrole terem modos de ação diferentes daqueles que os fungicidas sistêmicos e nematicidas têm, sendo lógico que eles possam ser usados em conjunto para evitar o aparecimento de indivíduos resistentes (JACOBSEN et al., 2004). Larson (2004) mostrou diminuição no número de conídios de *Cercospora beticola* em relação ao tetraconazol, quando aplicado em conjunto com um produto que continha *Bacillus mycoides* como bioagente.



**Figura 3.** Número de Unidades Formadoras de Colônia para os tempos 0, 8, 16 e 24 horas no primeiro ano do experimento com os tratamentos Onix<sup>®</sup> (a), Rizos<sup>®</sup> (b), Orgasol<sup>®</sup> (c), Nemix<sup>®</sup> (d). S e C representam as populações sem e com cadusafós, respectivamente.



**Figura 4.** Número de Unidades Formadoras de Colônia para os tempos 0, 8, 16 e 24 horas no segundo ano do experimento com os tratamentos Onix<sup>®</sup> (a), Rizos<sup>®</sup> (b), Orgasol<sup>®</sup> (c), Nemix<sup>®</sup> (d). S e C representam as populações sem e com cadusafós, respectivamente.

A aplicação de nematicidas sintéticos tem sido uma das estratégias de controle mais adotadas para manejo desses patógenos. Além da busca por meios de controle mais efetivos de doenças, o aumento da preocupação com as ameaças à saúde e ao meio ambiente impulsiona a busca por métodos alternativos de controle. Outras alternativas de uso de agentes de biocontrole seriam utilizá-los em conjunto com cultivares resistentes, controles culturais e também combinar outros bioagentes, visto poderem agir de maneiras distintas, o que ampliaria o alvo de patógenos e aumentaria a eficiência do biocontrole.

A incorporação de microrganismos em estratégias de manejo de nematoides tem sido ser uma saída viável e sustentável, uma vez que esses agentes de biocontrole geralmente parasitam os fitonematoides assim que entram em contato com o patógeno. Os resultados encontrados no presente trabalho mostram que é possível aplicar bioagentes em conjunto com nematicidas químicos para controle de nematoides.

## CONCLUSÃO

O cadusafós não foi prejudicial às quatro espécies de fungos quando plaqueado e em meio de cultura imediatamente à aplicação, entretanto, 24 horas após o contato, não foram encontrados esporos viáveis em todos os tratamentos. Quando avaliados isoladamente, os fungos *Paecilomyces lilacinus* e Profixs<sup>®</sup> foram superiores em relação à porcentagem de esporos germinados para o plaqueamento feito 24 horas após a inoculação.

Quando aplicadas em conjunto com o cadusafós, as bactérias mantiveram sua viabilidade nas primeiras horas de avaliação. O armazenamento dos bioprodutos à base de bactérias juntamente com o nematicida químico não foi viável no segundo ano de armazenamento. As maiores populações nos dois anos foram encontradas no tratamento Nemix<sup>®</sup> com ou sem a presença do cadusafós.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIAS, M., TEIXIDÓ, N., USALL, J., VIÑAS, I. Optimization of growth conditions of the postharvest biocontrol agent *Candida sake* CPA-1 in a lab-scale fermentor. **Journal of Applied Microbiology**, v.95, p.301–309, 2003.

ASMUS, G. L., INOMOTO, M. M., & CARGNIN, R. A. Cover crops for reniform nematode suppression in cotton: greenhouse and field evaluations. **Tropical Plant Pathology**, v.33, n. 2, p.85-89, 2008.

BARKAI-GOLAN, R., 2001. Postharvest Diseases of Fruit and Vegetables: Development and Control. **Elsevier Sciences**, Amsterdam, The Netherlands

CONTINA, J. B.; DANDURAND, L. M.; KNUDSEN, G. R. Use of GFP-tagged *Trichoderma harzianum* as a tool to study the biological control of the potato cyst nematode *Globodera pallida*. **Applied Soil Ecology**, v.115, p.31-37, 2017.

DESAEGER, J., RAO, M.R. Infection and damage potential of *Meloidogyne javanica* on *Sesbania sesban* in different soil types. **Nematology** v.2, p.169–178, 2000.

DROBY, S., WISNIEWSKI, M., MACARISIN, D., WILSON, C. Twenty years of postharvest biocontrol research: Is it time for a new paradigm? **Postharvest Biology and Technology**, v.52, p.137-145, 2009.

DROBY, S., HOFSTEIN, R., WILSON, C.L., WISNIEWSKI, M., FRIDLENDER, B., COHEN, L., WEISS, B., DAUS, A., TIMAR, D., CHALUTZ, E., 1993. Pilot testing of



*Pichia guilliermondii*: a biocontrol agent for postharvest diseases of citrus fruit. **Biological Control** v.3, p.47–52, 1993.

ERRAMPALLI, D., BRUBACHER, N.R. Biological and integrated control of postharvest blue mold (*Penicillium expansum*) of apples by *Pseudomonas syringae* and cyprodinil. **Biological Control**, v.36 (1), p.49–56, 2006.

ETHUR, L. Z.; NICOLINI, C.; BLUME, E. VIABILIDADE DE FORMULAÇÃO EM PÓ DE *Trichoderma virens* EM DIFERENTES EMBALAGENS E TEMPERATURAS. **Current Agricultural Science and Technology**, v.14, n. 2, 2008.

GONÇALVES, André Henrique. **Eficiência da inoculação de *Trichoderma* e *Purpureocillium* na cultura da soja em Tocantins**. 2016. Tese (Doutorado em Produção vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi.

HARMAN, G.E. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. **Plant Disease**, v.84 (4), p.376–393, 2000.

HIGAKI, W. A., & DE ARAUJO, F. F. *Bacillus subtilis* e abamectina no controle de nematoides e alterações fisiológicas em algodoeiro cultivado em solos naturalmente infestados [*Bacillus subtilis* and abamectin for nematode control and physiological changes in cotton grown in soil naturally infested]. **Nematropica**, v.42, n. 2, p.295-303, 2012.

Hofstein, R., Fridlender, B., Chalutz, E., Droby, S., 1994. Large scale production and pilot testing of biological control agents for postharvest diseases. In: Wilson, C.L., Wisniewski, M.E. (Eds.), *Biological Control of Postharvest Diseases – Theory and Practice*. CRC Press, Boca Raton, pp.89–100.

HWANG, J.; BENSON, D.M. Biocontrol of *Rhizoctonia* stem and root rot of poinsettia with Burkholderia and binucleate *Rhizoctonia*. **Plant Disease**, v.86, p.47-53, 2003.

JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v.26, p.453-89, 1986.

KERRY, B.R. Fungi as biological agents for plant parasitic nematodes. In: WIPPS, J.M. & LUMSDEN, R.D. (ed). **Biotechnology of fungi for improving plant growth**. Cambridge: Cambridge University Press, p.153-170, 1989.

KUBO, R. K., MACHADO, A. C. Z., & OLIVEIRA, C. M. G. Seed treatment for the control of *Rotylenchulus reniformis* on two cotton cultivars. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n. 2, p.239-245, 2012.

LARSON, B. 2004. Integrated management of Cercospora leaf spot. **M.S. thesis**. Montana State University, Bozeman.

LOPEZ, D. C.; SWORD, G. A. The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). **Biological Control**, v.89, p.53–60, 2015.

LOPEZ-BUCIO, J., PELAGIO-FLORES, R., HERRERA-ESTRELLA, A. *Trichoderma* as biostimulant: exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. **Scientia Horticulturae**, v.196, p.109-123, 2015.

MENDES LOPES, A. P., RAGAZZI CARDOSO, M., HIGASHI PUERARI, H., ANTUNES FERREIRA, J. C., & DIAS-ARIEIRA, C. R.. Manejo de *Pratylenchus brachyurus* em soja, usando tratamento de sementes e indutor de resistência. **Nematropica**, v.47, n. 1, 2017.

MORA, A., & EARLE, E. Combination of *Trichoderma harzianum* endochitinase and a membrane-affecting fungicide on control of *Alternaria* leaf spot in transgenic broccoli plants. **Applied microbiology and biotechnology**, v.55, n. 3, p.306-310, 2001.

NOLING, J.W., BECKER, J.O., 1994. The challenge of research and extension to define and implement alternatives to methyl bromide. Supplement to the **Journal of Nematology**. v.26 (4S), p.573–586, 1994.

NUNES, H T. **Agentes microbianos no controle de nematoides e fungos fitopatogênicos de soja e sua compatibilidade com agroquímicos**. 2008. 77f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agropecuária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

PINTO, L. M. N.; DÖRR, N. C.; RIBEIRO, A. P.A.; SALLES, S. M.; OLIVEIRA, J. V.DE; MENEZES, V.G.; FIUZA, L. M. *Bacillus thuringiensis* monogenic strains: screening and interactions with insecticides used against rice pests. **Brazilian Journal of Microbiology**, Ilha do Fundão, v.43, n. 2, p.618-626, 2012.

QIN, G.Z., TIAN, S.P. Biocontrol of postharvest diseases of jujube fruit by *Cryptococcus laurentii* combined with a low doses of fungicides under different storage conditions. **Plant Disease**, v.88 (5), p.497–501, 2004.

SANTIAGO, D. C.; HOMECHIN, M.; SILVA, J. F. V.; RIBEIRO, E. R., GOMES, B. C.; SANTORO, P.H. Selection of isolates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samson to control *Meloidogyne paranaensis* in tomato. **Ciência Rural**, v.36, n. 4, p.1055-1064, 2006.

SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root- knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil & Biochemistry**, v.40, p.2016-2020, 2008.

SCHIPPERS, B., BAKKER, A. W., & BAKKER, P.A.. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. **Annual review of Phytopathology**, v.25, n. 1, p.339-358, 1987.

SHARMA, R.R., SINGH, D., SINGH, R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. **Biological Control**, v.50, p.205-221, 2009.

SHARON, E., BAR-EYAL, M., CHET, I., HERRERA-ESTRELLA, A., KLEIFELD, O., & SPIEGEL, Y. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, v.91, n. 7, p.687-693, 2001.

SUGAR, D., BASILE, S.R. Timing and sequence of postharvest fungicide and biocontrol agent applications for control of pear decay. **Postharvest Biology and Technology**, v.49 (1), p.107–112, 2008.

STIRLING, G. R. **Biological control of plant parasitic nematodes: progress problems and prospects**. Wallingford: CAB International, p.282, 1991.

TOBIN, J. D., HAYDOCK, P.P.J., HARE, M. C., WOODS, S. R., & CRUMP, D. H. Effect of the fungus *Pochonia chlamydosporia* and fosthiazate on the multiplication rate of potato cyst nematodes (*Globodera pallida* and *G. rostochiensis*) in potato crops grown under UK field conditions. **Biological Control**, v.46, n. 2, p.194-201, 2008.

VAZ, M. V., CANEDO, E. J., MACHADO, J. C., VIEIRA, B. S., & LOPES, E. A. Controle biológico de *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* com *Bacillus subtilis*. **Revista do Núcleo Interdisciplinar de Pesquisa e Extensão, Pato de Minas**, v.1, n. 8, p.203-212, 2011.

WISNIEWSKI, M.E., DROBY, S., EL-GHAOUTH, A., DROBY, S. Non-chemical approaches to postharvest disease control. **Acta Horticulturae** v.553, p.407–411, 2001.

ZHANG, S., GAN, Y., & XU, B. BINGLIANG. Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**, v.94, p.21-29, 2015.

ZHOU, T., NORTHOVER, J., SCHNEIDER, K.E., LU, X.W. Interactions between *Pseudomonas syringae* MA-4 and cyprodinil in the control of blue mold and gray mold of apples. **Canadian Journal of Plant Pathology** v.24 (2), p.154–161, 2002.

ZHOU, L., YUEN, G., WNAG, Y., WEI, L., JI, G. Evaluation of bacterial biological control agents for control of root-knot nematode disease on tomato. **Crop Protection**, v.84, p.8-13, 2016.