

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

LEVANTAMENTO E CONTROLE BIOLÓGICO DE
Pratylenchus brachyurus NA CULTURA DO MILHO DOCE

Autor: Sílvio Luís de Carvalho
Orientador: D.Sc. Rodrigo Vieira da Silva

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS MORRINHOS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

LEVANTAMENTO E CONTROLE BIOLÓGICO DE
Pratylenchus brachyurus NA CULTURA DO MILHO DOCE

Autor: Sílvio Luís de Carvalho
Orientador: D.Sc. Rodrigo Vieira da Silva

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM OLERICULTURA, no Programa de Pós-Graduação em Olericultura do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos - Área de Concentração Olericultura.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Morrinhos

C3311 Carvalho, Sílvio Luís de.
Levantamento e Controle Biológico de *Pratylenchus brachyurus* na Cultura do Milho Doce. / Sílvio Luís de Carvalho. – Morrinhos, GO: IF Goiano, 2018.
80 f. : il.

Orientador: Dr. Rodrigo Vieira da Silva.
Coorientadora: Dra. Carine Rezende Cardoso.
Dissertação (mestrado) – Instituto Federal Goiano Campus Morrinhos, Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Olericultura, 2018.

1. Milho-doce. 2. Milho - Doenças e pragas. 3. Pragas - Controle biológico. I. Silva, Rodrigo Vieira da. II. Cardoso, Carine Rezende. III. Instituto Federal Goiano. IV. Título.

CDU 633.15:632

Fonte: Elaborado pela Bibliotecária-documentalista Morgana Guimarães, CRB1/2837

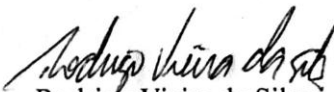
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OLERICULTURA

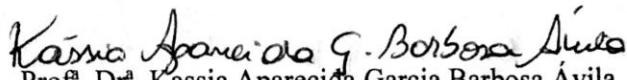
LEVANTAMENTO E CONTROLE BIOLÓGICO DE
Pratylenchus brachiurus NA CULTURA DO MILHO DOCE

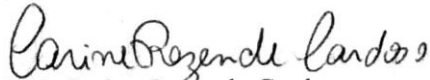
Autor: Sílvio Luís de Carvalho
Orientador: Rodrigo Vieira da Silva

TITULAÇÃO: Mestre em Olericultura-Área de Concentração em Manejo
Fitossanitário em Olerícolas.

APROVADO em 28 de setembro de 2018.


Prof. Dr. Rodrigo Vieira da Silva
Presidente da Banca
IF Goiano – Campus Morrinhos


Prof.^a Dr.^a Kassia Aparecida Garcia Barbosa Ávila
Avaliadora Externa
Centro Universitário de Goiatuba - UNICERRADO


Dr.^a Carine Rezende Cardoso
Avaliadora Externa
Syngenta Brasil

Ofereço este trabalho aos meus pais, Maria Lúcia (*In Memoriam*) e Alberto (*In Memoriam*) como gratidão pelo exemplo de caráter, dedicação e correção para o enfrentamento desta vida adulta, pelo zelo e conforto oferecidos, cuidado e exigências com minha educação, pela retidão na cobrança de responsabilidades, pela alegria e apoio de uma família unida. Aos meus sogros, Elza e José (*In Memoriam*) pelo privilégio de meu ingresso em seu convívio familiar, pelo compartilhamento das conquistas e vitórias, compreensão nos momentos de fraqueza e companheirismo demonstrado pelo apoio constante.

Dedico às minhas filhas, Letícia e Juliana, presentes do Papai do céu, criaturas especiais e a melhor realização de minha vida. Tenho orgulho de vocês e de tudo o que fazem. Amo vocês!

Por fim, ofereço também à minha esposa Mônica, pela imensa alegria de viver, força, determinação, apoio e zelo com as crianças. Exemplo de mãe dedicada! Companheira em absolutamente todos os percursos de nossa jornada! Pelo suporte sempre presente em forma de apoio, carinho, conselhos, paciência, dedicação, esforços incansáveis, compartilhados nos bons e maus momentos e por seu amor incondicional. Por sua compreensão durante minhas freqüentes ausências, devido às constantes viagens e à minha carga excessiva de trabalho. Esta pesquisa de mestrado só se realizou com seu apoio, pois eu nada seria sem você. Foram de extrema importância o seu sorriso, o seu conforto e o seu apoio nos momentos de angústia, bem como sua contagiante alegria nos bons momentos. Obrigado por fazer parte da minha vida. Admiro, amo e sempre amarei você.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder uma vida abençoada, me dar calma, saúde, gratidão, alegria, além de proporcionar-me tranquilidade, força e sabedoria nos momentos turbulentos e de dificuldades enfrentados nesta caminhada, permitindo a realização deste meu trabalho.

À minha família. Meus pais, Maria Lúcia (*In Memoriam*) e Alberto (*In Memoriam*), meus sogros Elza e José (*In Memoriam*). Aos meus irmãos, Márcia Maria, Carlos Alberto e André Fernando. Aos meus cunhados “irmãos” Marcia Regina, Marta Cristina, Maria Danuza e Junior e a todos os meus sobrinhos e sobrinhos “netos”, pela maravilhosa experiência da convivência com vocês, pelo carinho recebido, pela compreensão de meus defeitos e acima de tudo pela oportunidade de uma família unida, de forma simples, harmoniosa e feliz. Amo todos vocês e sempre os terei em minhas lembranças.

Ao meu orientador, professor D.Sc. Rodrigo, pela confiança, acolhimento, amizade sincera, humildade, exemplo de superação, estímulos, conselhos e ensinamentos. Companheiro nas horas de bate papo informal, especialmente quando falamos de café. Sua orientação foi decisiva para que eu pudesse realizar este trabalho, que se resume também na materialização de um sonho. À minha coorientadora, D.Sc. Carine, pela amizade, confiança, simpatia e presença constante, que com sua generosidade e conhecimento me apoiou desde o início deste estudo, fazendo apontamentos e sugestões necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa.

À Engenheira Agrônoma, Sinara Vieira Amaral, meus sinceros e eternos agradecimentos pela participação, orientação, ajuda, ensinamentos e incansável colaboração. Sem sua participação, este trabalho não seria o mesmo. Obrigado pela disposição, confiança, amizade e ajuda nos momentos decisivos desta jornada.

Aos Professores do IF Goiano e demais Instituições parceiras deste programa de Mestrado, na pessoa da Coordenadora do Programa de Pós-Graduação, professora D.Sc.

Clarice Aparecida Megguer, meu cumprimento e agradecimento pelos ensinamentos e dedicação com a formação de novos pesquisadores.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos, por proporcionar um ensino de excelência e condições de desenvolvimento e condução de minhas pesquisas. Aos secretários do Programa de Pós-Graduação em Olericultura do IF Goiano, Brenda, Karina, Thiago e a todos os demais servidores da Instituição.

Aos meus colegas do programa de pós-graduação, pelos bons momentos vividos e compartilhados e, ainda, aos alunos de graduação e pós-graduação do IF Goiano, do grupo de estudos de Fitonematoides, nas pessoas dos alunos Edcarlos e Fabrício. Meus sinceros agradecimentos.

Aos meus colegas do Unicerrado, nas pessoas do professores D.Sc. Riccely, D.Sc. Kássia e M.Sc. Pauletti, expresse minha gratidão pelos momentos de apoio. Também aos alunos Ariane Cândido Teixeira e Kellef Roger de Souza, pelas ajudas com os trabalhos em campo, envolvimento e comprometimento com a ciência.

Ao Laboratório de Biocontrole Farroupilha Lallemand, pela parceria no projeto de pesquisa, apoio constante, irrestrito suporte intelectual, operacional, logístico e laboratorial, e ainda, pela gentileza, solicitude e amizade de seus colaboradores, desde o porteiro até os pesquisadores da Empresa. Um exemplo a ser seguido!

Aos engenheiros agrônomos, M.Sc. Marcos Palhares e D.Sc. Paulo Henrique Nardon Felici e ao engenheiro biotecnológico, D.Sc. Luís Henrique Damasceno Serezino.

Aos agricultores Bento Cândido, César Altomari, Daniel Caldeira, Esterlina Ribeiro de Jesus, Fernando Ricardo de Paiva, Fernando Siqueira Guimarães Netto, Gilsani Naufel, José Jorge de Almeida, Lucas Castilho, Luiz Antonio Fernandes, Manoel Antonio da Silva Branco, Reginaldo Cândido, Nilo Cairo, Sebastião de Souza Alves, Selson Alves Netto, Vinicius Romano Cândido e Vivaldo de Souza Machado.

Aos empresários e profissionais do Grupo Bandeirantes, em especial aos senhores Selson Alves Netto e Fernando Siqueira Guimarães Netto, aos quais agradeço, e estendendo os cumprimentos a todos do grupo pelo exemplo de dedicação, busca incessante pela ciência, busca da perfeição e justiça na condução dos negócios. Muito obrigado pelo apoio, acolhimento e constante incentivo. Outro exemplo a ser seguido!

Por fim, agradeço aos membros da banca examinadora pelas contribuições e ensinamentos, e a todos aqueles que de alguma forma me apoiaram e incentivaram nesta jornada de estudos e muito trabalho.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA DO AUTOR

Sílvio Luís de Carvalho, filho de Maria Lúcia Ribeiro de Carvalho e Alberto de Carvalho, nascido em 31 de dezembro de 1966, na cidade de São João da Boa Vista, estado de São Paulo. Em agosto de 1990, graduou-se em Agronomia pela Faculdade de Agronomia e Zootecnia Manoel Carlos Gonçalves – Unipinhal, obtendo o título de Engenheiro Agrônomo. Em março de 2016 iniciou o curso de Mestrado Profissional em Olericultura no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Morrinhos, sob a orientação do professor D.Sc. Rodrigo Vieira da Silva, que culminou em uma dissertação, defendida em 28 de setembro de 2018.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Aspectos gerais da cultura de milho doce	2
2.2 Fitonematoides	4
2.3 Controle dos fitonematoides	8
2.4 Referências bibliográficas.....	12
3. CAPÍTULO I	17
RESUMO.....	17
ABSTRACT.....	19
3.1 Introdução	20
3.2 Material e Métodos	23
3.2.1 Amostragem	24
3.2.2 Extração de nematoides das raízes	26
3.3 Resultados e Discussão	26
3.4 Conclusões	33
3.5 Referências.....	33
4. CAPÍTULO II.....	37
RESUMO.....	37
ABSTRACT.....	39
4.1 Introdução	40
4.2 Material e Métodos	44
4.2.1 Preparo do inóculo de fungo e bactérias.....	44
4.2.2 Preparo do inóculo do nematoide	45

4.2.3 Inoculação do fitonematoide	45
4.2.4 Condução do bioensaio.....	45
4.2.5 Processamento e análise das amostras de raízes.....	46
4.2.6 Identificação dos tratamentos	46
4.2.7 Análise estatística	46
4.3 Resultados e Discussão	47
4.4 Conclusões	51
4.5 Referências.....	52
5.0 CONCLUSÃO GERAL.....	55
APÊNDICES	56

RESUMO

CARVALHO, SÍLVIO LUÍS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos, setembro de 2018. **Levantamento e Controle Biológico de *Pratylenchus brachyurus* na Cultura do Milho Doce.** Orientador: D.Sc. Rodrigo Vieira da Silva.

O milho (*Zea mays* L.) é um dos principais alimentos produzidos no mundo e, apesar da qualidade de seus valores nutricionais, cerca de 70% do milho produzido é destinado para o consumo animal. Comparado ao milho comum, com 3% de açúcar, o milho doce (*Zea mays* var. *saccharata* Sturt) possui maior acúmulo de açúcar no endosperma, de 9 a 14%, resultado de uma mutação espontânea. A cultura é uma hortaliça de elevada importância econômica para o Brasil, em especial para Goiás, que é o maior produtor nacional. Dentre os diversos fatores limitantes para a produção do milho doce, destacam-se os nematoides fitoparasitas. Diante disso, ressalta-se a necessidade iminente de estudos sobre estratégias sustentáveis de manejo de fitonematoides. Neste contexto, as bactérias do gênero *Bacillus* e fungos do gênero *Trichoderma* estão entre os agentes mais utilizados em biocontrole de doenças de plantas, incluindo os nematoides. A ocorrência e a disseminação de *Pratylenchus brachyurus* (*P. brachyurus*) em milho doce merecem atenção especial nas áreas produtoras. Assim, o objetivo deste estudo foi realizar um levantamento e avaliar a eficiência do controle biológico de *P. brachyurus* na cultura de milho doce. O levantamento foi realizado em áreas de cultivo de milho doce no sul do estado de Goiás. No capítulo 1, o levantamento foi realizado em 29 áreas com 2.561,76 ha⁻¹ de área total de cultivo. No capítulo 2, utilizou-se delineamento experimental de blocos casualizados, com 8 tratamentos e 5 repetições, em que foram avaliados 7 agentes de controle biológico (*Bacillus methilotrophicus*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus firmus*; *Bacillus* spp.; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Trichoderma koningiopsis*;

Bacillus spp.) no cultivo do híbrido de milho doce Seminis 006 (9298) VT PRO[®] em casa de vegetação. Aos 15 dias após emergência, foram inoculados 600 ovos por vaso de *P. brachyurus* e realizada a avaliação 62 dias após a inoculação. O capítulo 1 descreve a avaliação das amostras, em que verificou-se a presença de *Pratylenchus* spp. e *P. brachyurus*, com dominância de 100% deste último, na totalidade das áreas de sequeiro e de 82,4% nas áreas irrigadas, atestando uma infestação generalizada nas áreas amostradas. Os dados deste trabalho indicam que o fitonematoide *P. brachyurus* encontra-se amplamente disseminado em áreas de cultivo de milho doce do Sul de Goiás. No capítulo 2, os tratamentos realizados com os organismos biológicos proporcionaram maior desenvolvimento vegetativo, avaliado pela massa fresca, além de reduzir a reprodução do nematoide. O *Bacillus* spp. (isolado GF 314), reduziu o número de juvenis e adultos de *P. brachyurus*, além de proporcionar maior acúmulo na quantidade de massa da matéria fresca de raiz e da parte aérea. Os resultados indicam um grande potencial de utilização de *Bacillus* spp. (isolado GF 314) no controle de *P. brachyurus* na cultura do milho doce.

PALAVRAS-CHAVE: *Zea mays* var. *saccharata* Sturt., nematoide de lesões, infestação, Fitoparasitas, biocontrole.

ABSTRACT

CARVALHO, SÍLVIO LUÍS. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Morrinhos. September of 2018. **Survey and Biological Control of *Pratylenchus brachyurus* on Sweet Corn Crop.** Advisor: Prof. D. Sc. Rodrigo Vieira da Silva.

Maize (*Zea mays* L.) is one of the main foods produced in the world and, despite the quality of its nutritional values, about 70% of the corn produced is destined for animal consumption. Compared with conventional corn, with 3% of sugar, sweet corn (*Zea mays* var. *saccharata* Sturt) has a higher amount of sugar accumulated in the endosperm, from 9% to 14%, result of a spontaneous mutation of the species. This species is a vegetable of great economic importance for Brazil, especially for Goiás, the largest national producer. Among the several limiting factors for the production of sweet corn are phytoparasite nematodes. There is an increasingly urgent need for studies on more sustainable phytonutrient management strategies. In this context, the bacteria of the genus *Bacillus* and fungi of the genus *Trichoderma* are among the most used agents in biocontrol of plant diseases, including nematodes. The occurrence of *Pratylenchus brachyurus* in sweet corn deserves special attention in the producing areas. Therefore, the objective was to carry out a survey and evaluate the efficiency of the biological control of *P. brachyurus* in the sweet corn crop. The experiment was carried out in areas of sweet corn cultivation in the southern part of the State of Goiás. In Chapter 1, the survey was carried out in 29 areas with 2.561,76 ha⁻¹ of cultivation. In Chapter 2, a randomized block design was used with 8 treatments and 5 replications, 7 biological control agents were evaluated: (*Bacillus methilotrophicus*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus firmus*; *Bacillus* spp.; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Trichoderma koningiopsis*; *Bacillus* spp.) in the cultivation of the sweet corn hybrid Seminis 006 (9298) VT PRO®

in a greenhouse. At 15 days after emergence 600 *P. brachyurus* eggs were inoculated in each vase and 62 days after the inoculation the evaluation was performed. In Chapter 1, the samples were evaluated and the presence of *Pratylenchus* spp. and *P. brachyurus* was verified with 100% dominance of the second in all non-irrigated areas and 82.4% in irrigated areas, attesting to a widespread infestation in the sampled areas. Data from this study, indicates that the phytonematode *P. brachyurus* is widespread in the sweet corn cultivated areas of southern Goias. In Chapter 2, treatments with biological organisms provided greater vegetative growth, measured by the fresh matter weight, and also reduced the reproduction of the nematode. *Bacillus* spp. (GF 314 isolate), reduced number of juveniles and adults of *P. Brachyurus*, besides providing greater accumulation in the amount of mass of fresh matter of root and shoot. Based on the results, it indicates a great potential for the use of *Bacillus* spp. (GF 314 isolate) in the control of *P. brachyurus* in sweet corn.

KEYWORDS: *Zea mays* var. *saccharata* Sturt., root lesion nematode, infestation, phytonematoid, biocontrol.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do milho doce (*Zea mays* var. *saccharata* Sturt) é considerada uma realidade no quesito alimentar, valorizada pela produção similar ou superior ao milho comum, em que pode superar produtividades acima de 15.000 kg/ha⁻¹ em espigas. Dentre os fatores limitantes na produção do milho doce, destacam-se os danos causados por fitonematoides.

No geral, estes danos são resultantes diretos do parasitismo pelos nematoides, aumentando muito as perdas nas culturas atacadas, com destaque a espécie *Pratylenchus brachyurus* (*P. brachyurus*) (GODFREY, 1929; FILIPJEV; SCHUURMANS STEKHOVEN, 1941). Os prejuízos tornaram-se mais evidentes devido ao aumento de população de *Pratylenchus* spp. após a adoção do plantio direto no Cerrado (LOPES et al., 2017).

Diferentes estratégias são usadas para prevenir ou controlar doenças de plantas, dentre elas, o controle biológico, que é definido pelo uso de um ou mais organismos, ou parte deles, para reduzir ou controlar a população de pragas ou espécimes que causam doenças e que geram efeito negativo na cultura (LOUZADA et al., 2016).

A relevância deste estudo decorre do fato da maioria dos cultivos de milho doce e das agroindústrias de processamento de alimentos serem em Goiás, cuja área cultivada é de 32 mil hectares, correspondendo à 85% da produção nacional.

Perdas de produtividade de até 60% na lavoura de milho doce e de 20 a 30% na indústria de beneficiamento, em razão dos grãos fora de padrão industrial, decorrentes do ataque de nematoides, especialmente *P. brachyurus*¹. De posse desta problemática, o objetivo deste estudo foi realizar o levantamento da população de fitonematoides e o controle biológico de *P. brachyurus* na cultura de milho doce na região sul do estado de Goiás.

¹ Informação obtida nas empresas do setor de processamento de alimentos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cultura de milho doce

O milho doce (*Zea mays* var. *saccharata* Sturt) é uma hortaliça de elevada importância econômica no mundo; os maiores produtores são Estados Unidos, México, Nigéria, Indonésia, Hungria, França, África do Sul, Canadá e Peru (FAO, 2016). A área mundial cultivada é estimada em 1,04 milhões de ha, com produtividade de 9,18 milhões de toneladas (SOUZA et al., 2013). No Brasil, com área cultivada de aproximadamente 38 mil hectares, a maioria dos cultivos de híbridos de milho doce estão no estado de Goiás, cuja área cultivada é de 32 mil hectares, correspondendo a aproximadamente 85% da produção nacional. Este fato é devido a concentração de agroindústrias de processamento de alimentos na região, destacando empresas como Goialli, em Goianésia; Heinz, em Nerópolis; Goiás Verde, em Luziânia; Fugini em Cristalina; Oderich em Orizona; Dez e Olé em Morrinhos².

Aproximadamente 100% da produção brasileira de milho doce é destinada para a indústria. Para atender as exigências deste mercado, é necessário observar alguns atributos importantes nesta lavoura: rendimento acima de 30% para cada 100 kg de espigas empalhadas, isto é, o rendimento desejado deverá ser de 30 kg de grãos enlatados; espigas cilíndricas e de grãos profundos; longevidade de colheita (entre cinco e seis dias, com umidade em torno de 69 a 75%); espigas com mais de 16 fileiras de grãos, o que permite maior rendimento industrial (PEREIRA FILHO, 2002).

Outras características importantes a serem observadas são o equilíbrio entre o número de palhas e a perfeita proteção da espiga, uma vez que camadas acima de quatorze palhas prejudicam o rendimento industrial e, abaixo de sete palhas não protegem suficientemente os grãos, facilitando o ataque de pragas e doenças, afetando a qualidade; grãos de coloração amarelo-alaranjada e de pericarpo fino, de 45 a 50

² Informação obtida nas empresas do setor de processamento de alimentos.

micras, conferindo maior maciez ao grão, e finalmente grau brix em torno de 30% (PEREIRA FILHO; TEIXEIRA, 2016). Como comparativo de grau brix excelente para outras hortaliças, cita-se: abacaxi, 22%; banana, 14%; laranja, 20%; maçã, 18%; mamão, 22%; manga, 14%; melancia, 16%; melão, 14%; morango, 16%; pera, 14%; uva, 20% (BORGES FILHO et al., 2016).

A planta de milho doce é botanicamente similar à do milho comum. As plantas de milho possuem altura média de 2,2 metros, caule ereto, cilíndrico, fibroso e separado em porções por gomos, e, geralmente, recoberto pela bainha, que é uma parte da folha. As folhas são de tamanho médio a grande, entre 0,86 a 1,07 m de comprimento, com coloração variando de verde-escura a verde-clara, flexíveis, com nervura central branca, lisa e bem visível (EMBRAPA HORTALIÇAS, 2014).

A colheita de espigas de milho doce é feita quando os grãos estão em estado leitoso, com aproximadamente 75% de umidade. Os grãos maduros e secos ficam totalmente enrugados, devido ao seu baixo teor de amido em sua composição; o cultivo é intensivo, geralmente em pequenas áreas irrigadas e com alto investimento em tecnologia (TEIXEIRA et al., 2014). O manejo do milho doce em relação a densidade, espaçamento, controle de pragas, doenças e plantas daninhas, adubações de plantio e cobertura, escalonamento de plantio e colheita ocorrem de modo similar ao cultivo do milho verde comum (PEREIRA FILHO; CRUZ, 2002).

Por ser considerado uma hortaliça, o milho doce possui caracteres relacionados a qualidade e aos aspectos agronômicos com maior influência na aceitação comercial do que o milho comum (ÁVILA et al., 2017). Possui, além do sabor adocicado, película de grão mais fina, sendo assim, mais macio e de melhor qualidade para consumo humano. Para o consumo, o milho doce pode ser industrializado e enlatado na forma de conserva; ademais, pode ser usado como “*baby corn*” ou minimilho, quando colhido antes da polinização, ou mesmo congelado na forma de espigas ou grãos, podendo ainda ter seus grãos desidratados, ou ser consumido “*in natura*” (SOUZA et al., 1990).

O milho doce difere do milho comum por acumular maior concentração de açúcar no endosperma, sendo respectivamente 3% de açúcar no milho comum e de 9% a 14% no milho doce. Existem também cultivares conhecidas como super doce, com um teor de grãos de 15 a 25% de açúcar. Destaca-se que estas variações são geneticamente controladas, pois os alelos que determinam o fenótipo doce são recessivos para a maioria dos mutantes comercialmente usados, e são eles que alteram a composição do endosperma (TEIXEIRA et al., 2014).

Devido a essas diferenças nas composições químicas, o milho doce não se destina para a produção de pamonha e curau, pois o amido é fundamental para dar a consistência desejável a esses produtos. Essas diferenças são atribuídas à presença de alelos que bloqueiam a conversão de açúcares em amido no endosperma, conferindo aos grãos alto teor de açúcares e baixo teor de amido (ZUCARELI et al., 2014). Entretanto, por ter sabor semelhante ao do milho comum, o milho doce pode ser utilizado na elaboração da maioria das receitas à base de milho verde.

São conhecidos oito genes que atuam na biossíntese de carboidratos no endosperma do milho, sendo eles: *shrunk-2* (*sh2*), localizado no cromossomo 3; *brittle* (*bt*), no cromossomo 5; *sugary enhancer* (*se*), *sugary* (*su1*) e *brittle-2* (*bt2*), todos no cromossomo 4; o *dull* (*du*), no cromossomo 10; *waxy* (*wx*), no cromossomo 9; e *amilose extender* (*ae*), no cromossomo 5; podendo estes atuar de forma simples ou por interações gênicas. Entretanto, associadas aos efeitos fenotípicos destes genes, estão algumas características indesejáveis, como baixa produtividade e baixa resistência ao ataque de pragas e doenças, devido ao maior teor de açúcar (TRACY, 1994).

Para efeito prático, pode-se dividir as cultivares mais utilizadas em plantios comerciais em dois grupos básicos: superdoce (contendo o gene *brittle*) e doce (contendo o gene *sugary*) (ZUCARELI et al., 2014).

Grande parte das áreas de plantio de milho doce, ocorrem sob condições de irrigação via pivô central e em sucessão de culturas, com possibilidades de atingir produtividade em campo acima de 12 toneladas por hectare. Esta possível produtividade esperada não reflete a produtividade média atingida de 5,1 toneladas por hectare. Tal redução na expectativa da produtividade se deve a dois principais motivos: o baixo rendimento agrícola, pela produção insatisfatória de grãos; e o baixo rendimento industrial, pela produção de espigas com características qualitativas inadequadas ao processamento industrial e provavelmente devido ao ataque de fitonematoides. Para melhor aproveitamento na industrialização, as espigas devem apresentar comprimento maior que 15 cm e diâmetro maior que 3,0 cm (BARBIERI et al., 2005), propiciando maior eficiência das máquinas degranadoras (ALBUQUERQUE et al., 2008).

2.2 Fitonematoides

Os nematoides causam danos no sistema radicular das plantas e sintomas em áreas delimitadas da lavoura, conhecidas como *hot spots* ou reboleiras. Nestes locais, as

plantas exibem menor porte e ficam mais sensíveis ao estresse hídrico, causam estresse no florescimento e o amadurecimento prematuro das folhas, confundido muitas vezes com deficiência nutricional. Os nematoides estão entre os principais patógenos da agricultura mundial em função dos prejuízos significativos que causam em culturas de importância econômica (LOPES et al., 2017).

A produção de milho doce é diretamente afetada por vários fatores bióticos, como fungos, bactérias, insetos-pragas e fitonematoides (SHELTON et al., 2013). Todavia, merece destaque a infecção por fitonematoides, uma vez que são responsáveis por causarem perdas da ordem de 35 a 90% (LOPES, 2015). Além disso, interagem com outros agentes causadores de doenças e afetam negativamente a qualidade e a quantidade da produção de milho (BAHETI, 2017).

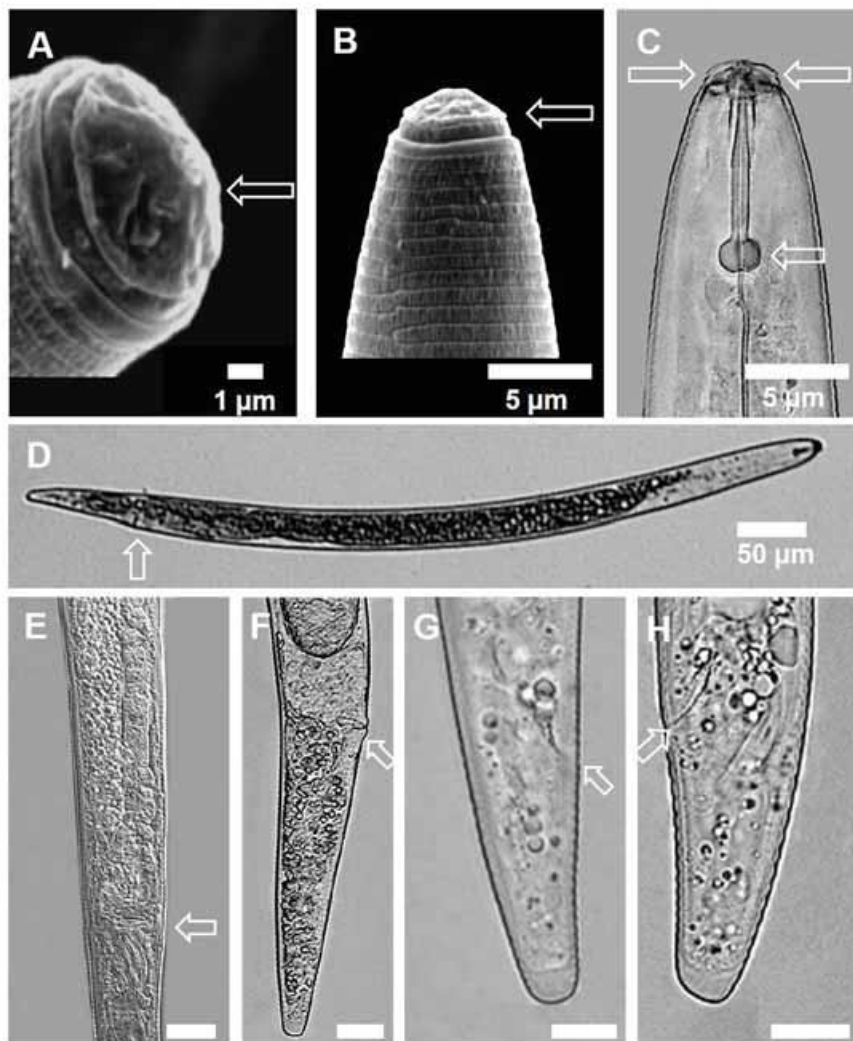
A sobrevivência no solo e a disseminação dos fitonematoides é influenciada por fatores físicos, químicos e biológicos do solo, tais como inimigos naturais (parasitas e predadores), variações de temperatura, de umidade e do pH do solo ou ainda por morte das plantas hospedeiras (SASSER; FRECKMAN, 1987). Notadamente, um dos principais inimigos naturais de *Pratylenchus* spp. são os microrganismos, como fungos e bactérias (BISOGNIN, 2017).

Tanto os ovos quanto os juvenis apresentam dois mecanismos de sobrevivência: a criobiose, que é a dormência em baixas temperaturas; e a anidrobiose, que é a sobrevivência por dormência em baixas umidades. A textura do solo é um dos principais fatores que contribuem para a distribuição de espécies de *Pratylenchus brachyurus*, sendo os solos arenosos ou de textura média propícios para a maioria das espécies. A incidência de nematoides foi relacionada positivamente com a quantidade de areia nos solos e com a quantidade de chuvas. A umidade do solo é necessária para muitos processos vitais de *Pratylenchus brachyurus* e entre 70 a 80% da capacidade de campo representa condição ótima para várias atividades do nematoide em geral (JORDAAN et al., 1989).

Os nematoides de lesões radiculares do gênero *Pratylenchus* spp., são endoparasitas migradores, movem-se aleatoriamente no solo até perceberem um estímulo químico atrativo (quimiotaxia +). A migração ativa ocorre seguindo um gradiente de concentração em direção a fonte estimuladora (FRANCILINO et al., 2017). Causam danos em raízes de uma ampla gama de espécies hospedeiras, devido à alimentação, movimentação ativa e liberação de enzimas e toxinas no córtex radicular.

A ocorrência apenas de fêmeas em detrimento a machos, que são raros ou desconhecidos, são características das espécies partenogênicas (*P. brachyurus* e *P. zaeae*), diferentemente das espécies anfimíticas (*P. coffeae*, *P. jaehni*, *P. penetrans* e *P. vulnus*). Segundo Gonzaga, Santos e Soares (2012), as fêmeas de *P. brachyurus* apresentam região labial angulosa com o anel da base mais estreito que o primeiro anel do corpo, os nódulos basais do estilete são esféricos e arredondados, a posição da vulva se encontrando mais posterior, além de apresentar cauda hemisférica com término liso (Figura 1).

Figura 1 - Principais caracteres morfológicos para identificação de *Pratylenchus brachyurus*.



Fonte: Gonzaga (2006).

A) Eletromicrografia de varredura da placa labial indivisa (seta). B) Eletromicrografia de varredura da região labial angulosa, exibindo dois anéis (seta), sendo o anel da base mais estreito que o primeiro anel do corpo. C) Fotomicrografia da região anterior, exibindo o estilete (seta) com nódulos basais esféricos. D) Fotomicrografia da fêmea, exibindo a posição da vulva (seta). E) Gônada desprovida de espermateca

funcional (a seta indica a posição da vulva). F) Saco pós-uterino (seta). G) Cauda hemisférica com término liso, característica da espécie. H) Variação na forma da cauda (as setas em ambas indicam o ânus). Barra das escalas = 10 µm ou outro valor, conforme indicado.

Muitas vezes os sintomas podem ser confundidos com severa deficiência nutricional, apresentando consequências negativas na quantidade e qualidade da produção de frutos e bulbos. As galerias abertas podem servir de porta de entrada para outros patógenos e organismos, principalmente de natureza fúngica ou bacteriana, como *Verticillium* spp., doença vascular influenciada pela presença de fitonematoides, geralmente migradores como os nematoides do gênero *Pratylenchus* podendo ocorrer necrose vascular e o apodrecimento do sistema radicular (SILVA et al., 2016).

As perdas causadas por nematoides nas culturas agrícolas podem variar de suaves, com menos de 1%, até a destruição total da produção (SASSER; FRECKMAN, 1987). No ano de 2013, em Sinop (MT), em um plantio de soja e milho safrinha em sucessão, em área com infestação de *P. brachyurus*, provocou redução de uma saca de soja por ha a cada 65 nematoides/g de raiz, e um prejuízo de produtividade na safra que variou aproximadamente de 12% na área sobre milho na 2ª safra, para 19% na área sobre soja na 2ª safra (FERRARI et al., 2015).

Há relatos de diminuição de até 50% na produtividade de grãos de soja, em lavouras comerciais da região Centro-Oeste, infestadas com *P. brachyurus* (FRANCHINI et al., 2014). Tal situação ressalta o conceito de que a cultura de milho apresenta tolerância a *P. brachyurus*, e são raros os estudos que avaliaram o potencial de danos em milho, causados por este fitonematoide (INOMOTO, 2011).

No Brasil, a quantificação de perdas econômicas do ataque de *Pratylenchus brachyurus* não é precisa, devido principalmente às interações com danos provocados por insetos-pragas e outros fitopatógenos, além das condições climáticas, infestação de plantas invasoras e tratos culturais ineficientes. Estes fatores, juntamente com os riscos advindos do uso intensivo de produtos químicos, especialmente em milho destinado ao consumo humano direto, têm incentivado a busca de medidas alternativas de manejo, especialmente por meio de agentes de controle biológico (CRUZ et al., 2016).

2.3 Controle dos fitonematoides

O controle biológico pode ser definido como a ação de um ou mais organismos, na regulação do número de indivíduos de uma população de nematoides ou na capacidade dos mesmos se alimentarem ou causar danos em plantas, podendo ocorrer de forma natural, pela manipulação do ambiente, ou ainda pela introdução de organismos antagonistas (BAKER; COOK, 1974). Estes organismos antagonistas agem de forma a impedir que a população sobre a qual eles atuam se torne numericamente tão alta a ponto de causar prejuízos econômicos, além de manter ambas populações em equilíbrio³.

Os inimigos naturais dos nematoides podem ser agrupados em três categorias principais: predadores, parasitóides e patógenos. As duas primeiras categorias são compostas por agentes entomófagos (vertebrados ou invertebrados), enquanto a última compreende os agentes entomopatógenos (fungos, vírus, bactérias, nematoides e outros microorganismos), capazes de causar doenças em nematoides. As espécies de bactérias mais promissoras ao controle de nematoides são as pertencentes à família Bacillaceae, especialmente os gêneros *Bacillus* e *Chlostridium*, que possuem diferentes modos de ação e um amplo espectro de hospedeiros. Estas bactérias podem ser encontradas no solo, nos tecidos das plantas hospedeiras e nos próprios nematoides, incluindo ovos e cistos (MEYER, 2003).

Presentes na rizosfera, as bactérias da família Bacillaceae são endofíticas facultativas, com capacidade de invadir os tecidos internos das plantas, com parte do seu ciclo realizado fora da planta hospedeira (TIAN et al., 2007). Caracterizadas como produtoras de esporos de resistência, elas produzem uma diversidade de compostos secundários que agem como antibacteriano, fungicidas, antivirais, agentes imunossupressores e anticancerígenos (ARAVIND et al., 2010) que provavelmente conferem às plantas proteção ao ataque dos nematoides como Glucosinolatos (GSL) e Isotiocianato (ITC). Pesquisa utilizando a farinha de sementes de *Brassica juncea* (glucosinolato) obteve resultado de mais de 90% de mortalidade de *Pratylenchus penetrans* (ZASADA et al., 2009).

Para que o manejo de nematoides causadores de lesões radiculares seja bem-sucedido, deve-se integrar diversas estratégias. Por essa razão, métodos alternativos de controle têm sido estudados (FERRIS; ZHENG, 1999), como a utilização de plantas

³ Comunicação pessoal com coorientadora, D.Sc. Carine Rezende Cardoso.

antagonistas (crotalárias, cravo de defunto e mucunas) que liberam exsudados e substâncias tóxicas aos nematoides, inibindo a movimentação e desenvolvimento dos juvenis, bem como o uso de matéria orgânica como condicionador do solo, favorecendo suas propriedades físicas, contribuindo com o fornecimento de determinados nutrientes como nitrogênio, tornando as plantas mais vigorosas em relação ao ataque dos nematoides.

A matéria orgânica estimula o aumento da população de microrganismos de solo, em especial, de inimigos naturais dos nematoides, como fungos e bactérias, e age liberando substâncias tóxicas durante a decomposição, que contribuem para a mortalidade desses fitonematoides. As plantas produzem diversos compostos orgânicos que não possuem função direta no seu crescimento e desenvolvimento. Estes compostos são chamados de metabólitos secundários, como ácidos fenólicos, cumarinas, alcaloides, taninos, isoticianatos, glucosinolatos e iridóides, dentre outros, e são sintetizados para exercerem atividade de atração de polinizadores, adaptação ambiental e fitoproteção, inclusive contra fitonematoides (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Insetos-praga e micro-organismos causadores de doenças de plantas necessitam serem controlados pelos agricultores para manter a qualidade e a abundância de alimentos, madeiras e fibras. Diferentes métodos são utilizados para prevenir, mitigar ou controlar, como o controle cultural (solarização, revolvimento do solo seco), o biológico (destruição de restos culturais, adição de matéria orgânica, utilização de fungos, bactérias e nematoides predadores), o genético (utilização de cultivares com resistência natural ou induzida com a adição de *Bacillus thuringiensis*) e o químico (aplicação de substâncias químicas nematicidas).

Atualmente, destacam-se no controle biológico de nematoides os seguintes organismos: *Arthrobotrys oligospora*; *Arthrobotrys botryospora*; *Myrothecium verrucaria*; *Paecilomyces lilacinus*; *Pochonia chlamydosporia*; *Trichoderma lignorum* (BETIOL et al., 2012), listados abaixo (Tabela 1).

Tabela 1- Produtos biológicos nematicidas para controle de *P.brachyurus* no mundo.

Produtos*	Organismo biológico	Registro
Nemout 0.65 WP®	<i>Arthrobotrys oligospora</i> e <i>Arthrobotrys botryospora</i>	EUA, Costa Rica
Ditera®	<i>Myrothecium verrucaria</i>	EUA, Chile, Costa Rica, Honduras, México, Panamá etc.
BioAct®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Alemanha

Produtos*	Organismo biológico	Registro
Biomyces®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Colômbia
Bioniconema	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Sem registro
Biostat®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Panamá, Colômbia
MeloCon WG®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	EUA
Nemakontrol®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Peru
Nemata®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Colômbia
Paecyl®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Austrália
Safelomyces®	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Colômbia
Mycobac WP®	<i>Trichoderma lignorum</i>	Honduras, Colômbia

*Produtos biológicos nematocidas comercializados no mundo

Fonte: BETTIOL, et al., 2012.

O controle biológico baseia-se na relação antagonista entre microrganismo e nematoide, tendo como mecanismos de ação, a antibiose, a competição/predação e o hiperparasitismo. A antibiose é a inibição do patógeno pela produção de substâncias tóxicas como o ácido harziânico e o ácido heptelídico e enzimas como alameticinas (HERMOSA et al., 2000). Na competição/predação, o antagonista disputa nutrientes e espaço ou ainda se alimenta do conteúdo pseudocelomático do patógeno, impedindo o processo de infecção da planta. No hiperparasitismo, a colonização da rizosfera das plantas hospedeiras pelo antagonista promove a secreção e produção/liberação de enzimas hidrolíticas que atuam degradando a parede celular do nematoide (CARVALHO et al., 2014). Na agricultura, para o controle de nematoides, os organismos antagonísticos mais empregados são fungos e bactérias (STIRLING, 1991).

Trichoderma spp. são fungos com vida livre, oportunistas e estão presentes na rizosfera, podendo viver em simbiose com plantas e como parasitas de outros fungos. Os fungos deste gênero produzem metabólitos tóxicos aos nematoides, e também podem tornar a planta menos atrativa, alterando sua fisiologia. Seus metabólitos exercem efeito em eclosão, mobilidade e capacidade de penetração (HARMAN et al., 2004) produzem enzimas envolvidas na degradação da parede celular de fitopatógenos (HJELJORD et al., 2001), além de provocar morte de juvenis, penetrando em cistos e ovos (KHAN; SAXENA, 1997).

Os *Bacillus* spp. são rizobactérias que podem sintetizar metabólitos secundários que interferem no ciclo reprodutivo do nematoide e/ou transformar exsudatos radiculares em subprodutos, interferindo no processo de reconhecimento nematoide-planta (ARAÚJO, 2018). Possuem capacidade de invadir os tecidos internos das plantas, isto é, são bactérias endofíticas facultativas, com parte do seu ciclo

realizado fora da planta hospedeira (TIAN et al., 2007), caracterizadas como produtoras de esporos de resistência, produzindo uma diversidade de compostos secundários que agem como antibióticos, fungicidas, antivirais, agentes imunossupressores e anticancerígenos, conferindo às plantas proteção ao ataque dos nematoides.

Mais de 60 tipos de antibióticos, além de muitos polipeptídeos e endotoxinas que interferem no ciclo reprodutivo dos nematoides, especialmente na oviposição e na eclosão dos juvenis, além da competição por nutrientes, indução de resistência e promoção de crescimento de plantas são evidenciados por *Bacillus* spp.. Estas bactérias atuam sinergicamente em nematoides por meio da supressão direta, promovendo crescimento de plantas, facilitando a colonização e atividade da rizosfera de antagonistas microbianos (TIAN et al., 2007).

Os produtos biológicos para o manejo de nematoides vêm ganhando bastante destaque em função do seu maior período de ação e por sua sustentabilidade, tais como os listados abaixo (Tabela 2).

Tabela 2 Produtos biológicos nematicidas registrados no Brasil, alvo biológico *P. brachyurus*.

Produto*	Organismo biológico	Produto*	Organismo biológico
Eficaz Nema	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Rizos OG	<i>Bacillus subtilis</i>
PFC Control	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Quartzo	<i>B. linheniformis</i> + <i>b. subtilis</i>
Nema Control	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Presence	<i>B. linheniformis</i> + <i>b. subtilis</i>
Votivo	<i>Bacillus firmus</i>	Onix	<i>Bacillus methilotrophicus</i>
Votivo Prime	<i>Bacillus firmus</i>	Onix OG	<i>Bacillus methilotrophicus</i>
Oleaje	<i>Bacillus firmus</i>	Diamond	<i>Trichoderma koningiopsis</i>
Oleaje Prime	<i>Bacillus firmus</i>		
Andril	<i>Bacillus firmus</i>	Nemakill	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
Andril Prime	<i>Bacillus firmus</i>	Nemat	<i>Paecilomyces lilacinus</i>
Rizos	<i>Bacillus subtilis</i>	Unique	<i>Paecilomyces lilacinus</i>

* Produtos biológicos nematicidas comercializados no Brasil.

Fonte: AGROFIT, 2018.

O uso de controle biológico diminui os danos causados pelos fitonematoides *P. brachyurus* causados no milho doce, minimiza o uso de produtos químicos na lavoura e proporciona a produção de alimento mais saudável, além de mitigar o impacto ambiental causado pela aplicação de agrotóxicos. O controle biológico promove a formação de uma rede com interações complexas entre bactérias, fungos, nematóides, plantas e o ambiente, controlando populações de nematóides parasitas de plantas em condições naturais (KERRY, 2000).

O levantamento de espécies de nematoides que ocorrem nas áreas de interesse é o início do correto manejo de controle de fitonematoides. A identificação e o conhecimento da distribuição de ocorrência são fundamentais para estabelecer prioridades e a correta utilização do método de controle biológico, reduzindo os eventuais danos nesta cultura de interesse aos agricultores de hortaliças, que é o milho doce. O objetivo deste trabalho foi realizar o levantamento de fitonematoides e propor medidas de controle biológico.

2.4 Referências bibliográficas

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. MAPA Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 23 set. 2018.

ALBUQUERQUE, C. J. B.; PINHO, R. G. V.; BORGES, I. D.; SOUZA FILHO, A. X.; FIORINI, I. V.A. Desempenho de híbridos experimentais e comerciais de milho para produção de milho verde. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, Lavras, MG. p. 768-775. 2008.

ARAÚJO, F.V. **Novas moléculas e produtos biológicos no manejo de fitonematóides em soja**. Trabalho apresentado no XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia. Bento Gonçalves, RS. Embrapa Brasília, DF. 239. p. 2018.

ARAVIND, R.; EAPEN, S.J.; KUMAR, A.; DINU, A.; RAMANA, K.V. Screening of endophytic bacteria and evaluation of selected isolates for suppression of burrowing nematode (*Radopholus similis* Thorne) using three varieties of black pepper (*Piper nigrum* L.). **Crop Protection**, v. 29, p. 318-324. 2010.

ÁVILA, M.C.R.; CAVALIERI, S.D.; CUNHA FILHO, S.M.; GONÇALVES, M.F.; IKEDA, F.S. Seletividade inicial de mesotrione em função de modalidade de aplicação na cultura do milho doce. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 3. Associação Brasileira de Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. p. 569-577. 2017.

BAHETI, B.L.; DODWADIYA, M.; BHATI, S.S. Eco-friendly management of maize cyst nematode, *Heterodera zae* on sweet corn (*Zea mays* L. *saccharata*). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5(6), p. 989-993. 2017.

BAKER, K.F.; COOK, R.J. **Biological control of plant pathogens**. WH Freeman & Co, San Francisco, CA. 1974.

BARBIERI, V. H. B.; LUZ, J. M. Q.; BRITO, C. H.; DUARTE, J. M.; GOMES, L. S.; SANTANA, D. G. Produtividade e rendimento industrial de híbridos de milho doce em função de espaçamento e populações de plantas. **Horticultura Brasileira**; v. 23, n° 3. Brasília, DF. p. 826-830. 2005.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; PINTO, Z.V.; PAULA JUNIOR, T.J.; CORRÊA, E.B.; MOURA, A.B.; LUCON, C.M.M.; COSTA, J.C.B.; BEZERRA, J.L. **Produtos Comerciais à Base de Agentes de Biocontrole de Doenças de Plantas**. Embrapa Meio Ambiente. Documentos 88. Jaguariúna, SP. 2012.

BISOGNIN, A.C., **Caracterização morfológica e agressividade de populações de *Pratylenchus* spp. do rs em cana-de-açúcar e manejo de fitonematoides na cultura pelo emprego de rizobactérias**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria. Frederico Westphalen, RS. 2017.

BORGES FILHO, B.; BARREIROS, L.M.; OLIVEIRA, S.L.; OLIVEIRA, T. **A medida da doçura das frutas**. Cartilha Técnica 08. CEAGESP – Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo. Centro de Qualidade, Pesquisa e Desenvolvimento. São Paulo, SP. 17 p. 2016.

CARVALHO, D.D.C.; LOBO JUNIOR, M.; MARTINS, I.; INGLIS, P.W.; MELLO, S.C.M. Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *Phaseoli* by *Trichoderma harzianum* and its use for common bean seed treatment. **Tropical Plant Pathology**, v. 39(5), p. 384-391. 2014.

CRUZ, I.; COSTA, I.M.S.; AMANCIO, M.B.; REDOAN, A.C.M.; ALBUQUERQUE, D.F.A. **Ocorrência de insetos em espigas de milho em sistema de policultivo**. XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Bento Gonçalves, RS. 2016.

EMBRAPA. **Cultivares da Embrapa Hortaliças (1981-2013) / Embrapa Hortaliças**. Brasília, DF. 182 p. 2014.

FAO, FAOSTAT. **Database Results**. 2016. Disponível em: <<http://apps.fao.org>>. Acesso em: 14 set. 2018.

FERRARI, E.; RAMOS JUNIOR, E. U.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; FALEIRO, V. O.; SHIRATSUCHI, L. S.; DIAS, W. P.; FREITAS, C. M.; SILVA, E. E.; GIESE, E. População de *Pratylenchus brachyurus* no cultivo de soja sobre soja e sua influência na produtividade de grãos. **Resumos da IV Jornada Científica da Embrapa Agrossilvipastoril**. Embrapa. Brasília, DF. 2015.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of nematology**, v. 31, n. 3, Society of Nematologists. College Park, Md., US. p. 241-263. 1999.

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; DIAS, W.P.; RAMOS JUNIOR, E.U.; SILVA, J.F.V. Perda de produtividade da soja em área infestada por nematoide das lesões radiculares na região médio norte do Mato Grosso. Embrapa Instrumentação. In: BERNARDI, A. C. de C.; NAIME, J. de M.; RESENDE, A. V. de; BASSOI, L. H.; INAMASU, R. Y. (Ed.). **Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar**. São Carlos, SP. p. 274-278. 2014.

FRANCILINO, A. H.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, E. F. F.; ROLIM, M. M.; CARDOSO, M. S. O.; MARANHÃO, S. R. V. L. Effects of water flow, plant-based baits, and soil pore volume on *Pratylenchus coffeae* mobility. **Nematropica**, v. 47, p. 63-73. 2017.

GODFREY, G.H. A destructive root disease of pineapples and others plants due to *Tylenchus brachyurus*, n. sp. **Phytopathology**, v.19, p. 611-629. 1929.

GONZAGA, V.; SANTOS, J. M.; SOARES, P. L. M. Chave ilustrada para a identificação das seis espécies de *Pratylenchus* mais comuns no Brasil. Piracicaba, SP. 2012. Disponível em: <<http://nematologia.com.br/wp-content/uploads/2012/08/chavigo.pdf>>. Acesso em: 20 set. 2018.

HERMOSA, M.R.; GRONDONA, I.; ITURRIAGA, E.A.; DIAZ-MINGUEZ, J.M.; CASTRO, C.; MONTE, E.; GARCIA-ACHA, I. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. Applied. **Environmental Microbiology**, v. 66. p. 1890-1898. 2000.

HARMAN, G. E.; HOWELL, C. R.; VITERBO, A.; CHET, I.; LORITO, M. *Trichoderma* spp. - opportunistic avirulent plant symbionts. **Nature Microbiology Reviews**, v. 2, p. 43-56. 2004.

HJELJORD, L.G.; STENSVAND, A.; TRONSMO, A. Antagonism of nutrientactivated conidia of *Trichoderma harzianum* (*atroviride*) P1 against *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, v. 91(12), p.1172-1180. 2001.

INOMOTO, M. M. Avaliação da resistência de 12 híbridos de milho a *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n° 5, Viçosa, MG. p. 308-312. 2011.

JORDAAN, E.M.; WAELE, D.; VAN ROOYEN, P.J. Endoparasitic nematodes in corn roots in the western Tranvaal as related to soil texture and rainfall. **Journal of Nematology**, v. 21, p.356-360. St. Paul,1989.

KHAN, T.A.; SAXENA, S.K. Integrated management of root knot nematode *Meloidogyne javanica* infecting tomato using organic materials and *Paecilomyces lilacinus*. **Bioresource Technology**, v. 61, n. 3, p. 247-250. 1997.

KERRY, B.R. Rhizosphere interactions and exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathol**, v.38, p. 423–441. 2000.

LOPES, C. M.L. **Populações de nematoides fitoparasitas em áreas de cultivo de soja, algodão, café e de vegetação nativa do Cerrado na região Oeste da Bahia**. Brasília. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília. Brasília, DF. 70 p. 2015.

LOPES, A. P. M.; CARDOSO M. R.; PUERARI H. H.; FERREIRA, J. C. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Manejo de *Pratylenchus brachyurus* em soja usando tratamento de semente e indutor de resistência. **Nematropica**, v. 47, p.1-7. 2017.

LOUZADA, G.A.S.; BARBOSA, H.N.; CARVALHO, D.D.C.; MARTINS, I.; LOBO JUNIOR, M.; MELLO, S.C.M. **Relações entre testes com metabólitos e seleção de isolados de *Trichoderma* spp. antagônicos a *Sclerotinia sclerotiorum***. Revista brasileira de Biociências, v. 14, n.1, Porto Alegre, RS. p. 9-14. jan./mar. 2016.

MEYER, S.L.F. United States Department of Agriculture - Agricultural Research Service research programs on microbes for management of plant-parasitic nematodes. **Pest Management Science**, v. 59, p. 665-670. 2003.

PEREIRA FILHO, I.A. **O cultivo do milho verde**. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. 217 p. 2002.

PEREIRA FILHO, I. A.; TEIXEIRA, F. F. (Ed.). **O cultivo do milho-doce**. Embrapa. Brasília, DF. 298 p. 2016.

PEREIRA FILHO, I.A.; CRUZ, J.C. **Cultivares de milho para o consumo verde**. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. 7 p. Circular Técnica, 15. 2002.

SASSER, J. N.; D. W. FRECKMAN. A world perspective on nematology: The role of the society. Pp. 7-14. IN: VEECH, J.A.; AND; DICKSON, D. W. (Ed.) Vistas on Nematology: A commemoration of Twenty-fifth Anniversary of the Society of Nematologists. College Park Hyattsville, MD. Society of Nematologists. 1987.

SHELTON, A. M.; OLMSTEAD, D. L.; BURKNESS, E. C.; HUTCHISON, W. D.; DIVELY, G.; WELTY, C.; SPARKS, A. N. Multi-state trials of Bt sweet corn varieties for control of the corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106. p. 2151-2159. 2013.

SILVA, R.V.; CARVALHO, S.L.; FURTADO, J. P. M.; LIMA e SILVA, B.V. Desafios do manejo de nematoides em hortaliças tuberosas. **Revista Campo e Negócios Hortifruti**. Uberlândia, MG. Nov. 2016.

SOUZA, I. R. P.; MAIA, A. H. N.; ANDRADE, C. L. T. **Introdução e avaliação de milho doce na região do baixo Paranaíba**. EMBRAPA-CNPAl, 7 p. Teresina, PI. 1990.

- SOUZA, R. S.; VIDIGAL FILHO, P. S.; SCAPIM, C. A.; MARQUES, O. J.; QUEIROZ, D. C.; OKUMURA, R. S.; JOSÉ, J. V.; TAVORE, R. V. Elementos de produção de milho doce em diferentes densidades populacionais. **Comunicata Scientiae**, v. 4, p. 285-292. 2013.
- STIRLING, G.R. **Biological control of plant parasitic nematodes**. CABI Publishing, Wallingford, UK. 282 p. 1991.
- TAIZ, I.; ZEIGER, E. Metabólitos secundários e defesa vegetal. **Fisiologia Vegetal**. In: TAIZ, I.; ZEIGER, E. (Eds.). Porto Alegre, RS. Artimed 3^a ed. p. 309-332. 2004.
- TIAN, B.Y.; YANG, J.K.; LIAN, L.H.; WANG, C.Y.; ZHANG, K.Q. Role of neutral protease from *Brevibacillus laterosporus* in pathogenesis of nematode. **Microbiology and Biotechnology**. v. 74, p. 372-380. 2007.
- TEIXEIRA, F.F.; PAES, M.C.D.; GOMES e GAMA, E.E.; PEREIRA FILHO, I.A.; MIRANDA, R.A.; OLIVEIRA GUIMARÃES, P.E.; PARENTONI, S.E.; COTTA, L.V.; MEIRELLES, W.F.; PACHECO, C.A.P.; GUIMARÃES, L.J.M.; SILVA, A.R.; ASSIS MACHADO, J.R. BRS Vivi: single-cross super sweet corn hybrid. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 14, p. 124-127. Brazilian Society of Plant Breeding. 2014.
- TRACY, W. F. Sweet corn. **Specialty corns**. In: HALLAUER, A. R. (Ed.). Boca Raton: CRC Press, p. 155-197. 2001.
- ZASADA, I. A.; MEYER, S. L. F.; MORRA, M. J. Brassicaceous seed meals as soil amendments to suppress the plant-parasitic nematodes *Pratylenchus penetrans* and *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**, v. 41. p. 221-227. 2009.
- ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C.R.; GUISTEM, J.M.; HENNING, F.A.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de milho doce classificadas pela espessura e largura. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 44. (1), Goiânia, GO. p. 71-78, jan./mar. 2014.

3. CAPÍTULO I

BIOPROSPECÇÃO DE *Pratylenchus* spp. EM ÁREAS CULTIVÁVEIS COM MILHO DOCE NO SUL DE GOIÁS

(Normas de acordo com a revista Horticultura Brasileira)

RESUMO

O Brasil, protagonista na produção mundial de milho para grãos, também apresenta elevado potencial para produção de milho doce. Seu cultivo vem expandindo-se a cada ano e insere-se como uma alternativa rentável ao agricultor, pelo preço diferenciado em relação ao milho grão. A cadeia agroindustrial em que se insere o milho doce movimentou cifras que ultrapassaram meio bilhão de reais. Contudo, diferentemente do milho com finalidade para grãos, há ainda escassez de informações técnicas a respeito da cultura de milho doce e o controle biológico de nematoides. Os nematoides de lesões radiculares do gênero *Pratylenchus* spp. possuem alta capacidade de causar danos nas raízes das plantas infectadas, dependendo de condições favoráveis de umidade, textura e temperatura do solo. A diagnose precisa dos gêneros e das espécies de nematoides presentes nas áreas produtivas geram informações importantes para subsidiar a escolha da melhor estratégia de controle. A relevância deste estudo decorre do fato de que a maioria dos cultivos com híbridos de milho doce de nosso país, cerca de 38 mil hectares, encontram-se no estado de Goiás, com área cultivada de 32 mil hectares, responsável por quase 85% da produção nacional. Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo realizar um levantamento da disseminação de fitonematoides em áreas de cultivo de milho doce na região de sul do estado de Goiás. Foram amostradas glebas de dez agricultores com plantio de sequeiro e de sete

agricultores com plantio com irrigação via pivô central, totalizando 120 hectares em cultivo de sequeiro e 2.441,76 hectares irrigados. Das amostras, têm-se 12 áreas de sequeiro e 17 áreas irrigadas, representando 10% das áreas sequeiro e 61,42% das áreas irrigadas de agricultores dos municípios de Morrinhos, Piracanjuba, Pontalina, Joviânia e Goiatuba. Verificou-se em todas as áreas investigadas a presença de *Helicothylenchus* spp. (0,02%), *Meloidogyne* spp. (4,33%), *Pratylenchus* spp. (17,81%) e *Pratylenchus brachyurus* (77,84%), com dominância deste último. Os resultados obtidos neste estudo peculiar evidenciam a necessidade do manejo de *P. brachyurus*, além de subsidiar os produtores de milho doce do maior estado produtor desta cultura no Brasil.

Palavras-chave: diagnose; fitonematoide; lesões radiculares; agroindústria; *Zea mays* var. *saccharata* Sturt.

BIOPROSPECTION OF *Pratylenchus* spp. IN SWEET CORN CULTIVATED AREAS IN SOUTHERN GOIÁS

ABSTRACT

Brazil, the protagonist in world production of maize grain, also presents elevated potential for the production of sweet corn. Its cultivation has been expanding every year and has become a profitable alternative for farmers, by the differentiated price compared to maize grain. The agroindustrial chain in which sweet corn is inserted, moved numbers that exceeded half a billion reais. However, unlike grain maize, there is still a lack of technical information about the sweet corn crop and the biological control of nematodes. The root lesions nematodes of the genus *Pratylenchus* spp. have high capacity to cause damage to the roots of infected plants, depending on favorable soil moisture, texture and temperature conditions. The accurate diagnosis of the nematode genus and species present in the productive areas generate important information to support the choice of the best control strategy. The relevance of this study stems from the fact that most of the cultivations of crops with hybrid corn of our country, about 38 thousand hectares, are in the State of Goiás, with a cultivated area of 32 thousand hectares, responsible for almost 85% of the nation production. Given this context, the present work aimed to carry out a survey of the phytonematodes dissemination in sweet corn cultivation areas in the southern region of the State of Goiás. Plots of ten farmers with non-irrigated and seven farmers with central pivot irrigation were sampled, totaling in 120 hectares of non-irrigated areas and 2,441.76 hectares of irrigated areas. 12 non-irrigated areas and 17 irrigated areas were sampled, representing 10% of the non-irrigated areas and 61.42% of the irrigated areas of these farmers in the counties of Morrinhos, Piracanjuba, Pontalina, Joviânia and Goiatuba. It was found in all sampling areas, the presence *Helicothylenchus* spp. (0.02%), *Meloidogyne* spp. (4.33%), *Pratylenchus* spp. (17.81%) and *Pratylenchus brachyurus* (77.84%) with dominance of the last one. With the information obtained in this peculiar study, it is intended to

subsidize the sweet corn producers of the largest producing state of this crop in Brazil the need for management of *P. brachyurus*.

Keywords: diagnosis, phytonematoid, root lesions, agroindustry, *Zea mays* var. *saccharata* Sturt.

3.1 Introdução

A cultura do milho doce, valorizada por sua maior doçura, pode superar a média de produtividade de 8.826 kg/há⁻¹ de espigas com palhas (Souza *et al.*, 2013). Em Goiás, as produtividades médias de espigas com palhas apresentam variações entre 6.622,22 kg/há⁻¹ a 15.557 kg/há⁻¹ (Pereira *et al.*, 2006). O manejo do milho doce em relação a densidade, espaçamento, controle de pragas, doenças e plantas daninhas, é similar ao milho convencional. A produção mundial de milho doce, estimada em 9,18 milhões de toneladas, cultivada numa área de 1,04 milhão de hectares, tem os Estados Unidos da América (EUA) como o principal produtor mundial (Souza *et al.*, 2013). O uso de manejo integrado de pragas e de manejo integrado de doenças devem ser adotados associados à boas práticas de controle de pragas e doenças. A maior parte do milho consumido no estádio verde nos EUA é o milho doce, enquanto no Brasil, quase 100% da produção é destinada ao processamento industrial para consumo humano, movimentando cerca de R\$ 550 milhões por ano (Ávila *et al.*, 2017).

A gravidade dos danos causados pelo parasitismo de *P. brachyurus* acarreta uma queda drástica na produção e depreciação do produto comercial. Não somente para os agricultores, mas também para as agroindústrias, a mitigação deste problema é cada vez mais importante, tanto sob o ponto de vista econômico como o ambiental, já que necessitam de matéria prima e tecnologia inovadora para produzir com a adequada qualidade, de tal forma que os custos financeiros e os impactos ambientais sejam reduzidos⁴.

A produção de milho doce é diretamente afetada por vários fatores bióticos, como fungos, bactérias, insetos nocivos e fitonematoides (Shelton *et al.*, 2013). Os nematoides parasitas de plantas possuem grande relevância, uma vez que são responsáveis por causar prejuízos da ordem de 35 a 90%, dependendo da cultura,

⁴ Informação obtida com consultoria agrônômica das empresas do setor processamento de alimentos.

textura do solo e condições climáticas (Lopes, 2015). Além dos danos diretos, podem interagir com outros fitopatógenos, influenciando negativamente na qualidade e na quantidade da produção de milho (Baheti, 2017). *Pratylenchus brachyurus* penetra nas raízes e instala-se no córtex radicular, migrando nos tecidos e resultando em lesões necróticas ao longo das raízes. Com o progresso da infecção, observa-se a formação de reboleiras de plantas com desenvolvimento mais lento, folhas cloróticas e avermelhadas, semelhante à deficiência nutricional (Costa *et al.*, 2013).

Os nematoides do gênero *Pratylenchus* spp., parasitos migradores, representam uma ameaça à produção de alimentos em todo o planeta. Prova disso, é a inclusão deles na lista do Ministério da Agricultura do Brasil como as pragas com maior potencial de provocar prejuízo à agricultura brasileira. Características como agressividade, alta capacidade reprodutiva, espécies hospedeiras, facilidade de disseminação e dificuldade de controle por meio de produtos químicos trazem a necessidade de novas alternativas de controle (Silva *et al.*, 2016).

Espécies de nematoides economicamente importantes geralmente estão presentes em solos nativos do Cerrado em baixas densidades populacionais (Lima *et al.*, 2015); no entanto, suas populações aumentaram substancialmente. Dentre as espécies de nematoides, o nematoide da lesão da raiz, *P. brachyurus*, é provavelmente um dos mais importantes, especialmente na região do Cerrado, com o aumento do uso de monoculturas (Lima *et al.*, 2015). Os principais sistemas de produção no Brasil Central são baseados no cultivo de soja, milho ou algodoeiro. Algodoeiro e milho, culturas tidas como boas hospedeiras de fitonematoides, tanto podem ser semeados na primavera/verão (culturas de verão) como após a soja, como cultura de segunda safra (safrinha). Recentemente, verifica-se que no Cerrado a incidência de *P. brachyurus* tem aumentado, com perdas gerais estimadas entre 10 a 30%, especialmente em solos arenosos que recebem chuvas irregulares (Asmus *et al.* 2016).

O manejo de nematoides é muito complexo. Uma vez presente em uma área de cultivo, a erradicação é praticamente impossível. Entretanto, após a sua introdução na área, devem ser utilizados métodos de controle para a redução das populações a níveis toleráveis (Silva *et al.*, 2016). A escolha das estratégias e táticas de manejo para diminuição de população e danos causados por *P. brachyurus* depende sempre do levantamento, da diagnose, da correta identificação das espécies presentes e da determinação dos níveis populacionais em amostras de solo e raízes.

A rotação de culturas como prática isolada também não cumpre com eficiência o propósito de controle, devido a existência de poucas opções de cultura com essa finalidade. Algumas plantas, como algumas espécies de Crotalária e Brássicas, apresentam propriedades antagônicas aos nematoides. As crotalarias, por exemplo, permitem a penetração de juvenis e/ou adultos dos fitonematoídeos, como *Meloidogyne* spp., *Heterodera glycines* e *Rotylenchulus reniformis*. Porém, prejudicam o desenvolvimento do nematoídeo no seu interior, não permitindo que os nematoides completem seu ciclo de vida e formem descendentes, por meio do mecanismo de hipersensibilidade, que promove a morte de células vegetais ao redor do sítio de alimentação dos nematoides, inibindo a existência de células gigantes ou nutridoras (Ferraz & Freitas, 2016).

No campo, as condições do solo são afetadas por fluxos de água devido à chuva e irrigação, podendo afetar a etiologia do nematoídeo como habitante do solo (Francilino, 2017). Dentre as diversas táticas de manejo de fitonematoídeos, o melhoramento genético é utilizado com sucesso em algumas culturas de importância econômica, a exemplo do tomateiro (Avila Junior, 2017). Em milho doce, o controle genético possibilita manejo adequado por meio da utilização de cultivares resistentes, com resistência genética ao *Pratylenchus* spp., e para isso, algumas fontes de resistência em milho já foram identificadas (Sawasaki *et al.*, 1986), contudo, sem informações de resistência em materiais comerciais.

A regulação dos produtos de origem biológica se divide em bioquímicos (derivados vegetais), semioquímicos (feromônios ou aleloquímicos), agentes biológicos de controle (insetos, aranhas) e agentes microbiológicos de controle (vírus, bactérias, fungos) (Lallemand, 2018).

Os nematoides de lesões radiculares do gênero *Pratylenchus* ensejam um levantamento preciso de ocorrência nas áreas cultiváveis destinadas ao cultivo de milho doce. Do ponto de vista agrônomo, estes desafios necessitam ser enfrentados para o controle desta praga⁵. Em função da concentração de agroindústrias de processamento de alimentos, destacando Goialli, em Goianésia; Heinz, em Nerópolis; Goiás Verde, em Luziânia; Fugini em Cristalina; Oderich em Orizona; Dez e Olé em Morrinhos, destaca-se a importância deste trabalho de bioprospecção de *Pratylenchus brachyurus* nesta importante região produtora do estado de Goiás.

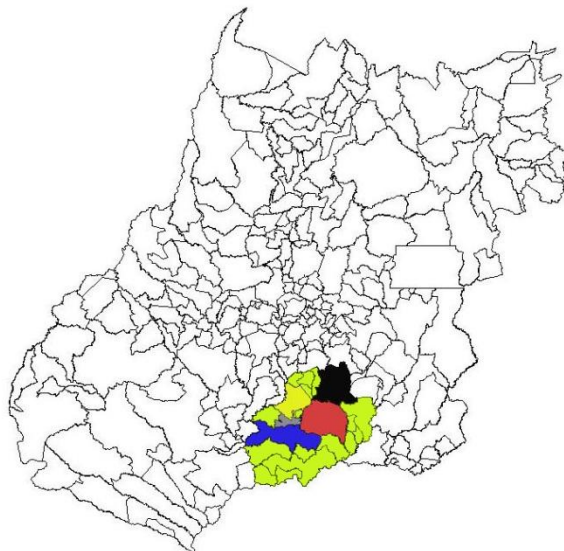
⁵Comunicação pessoal com coorientadora, D.Sc. Carine Rezende Cardoso.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo realizar o levantamento da ocorrência de fitonematóides em áreas não irrigadas de cultivo de hortaliças e também em áreas sob irrigação por equipamento de pivô central. Ademais, além do levantamento, foi realizada a identificação das espécies de fitonematóides e a quantificação das populações, mapeando as ocorrências nas áreas com e sem irrigação.

3.2 Material e Métodos

As amostras foram coletadas na região sul do estado de Goiás (Figura 1) com base em informações das agroindústrias de processamento de alimentos, extraídas dos cadastros de agricultores que cultivam milho doce na região, e em áreas de agricultores que cultivam outras culturas e eventualmente milho doce. O período de realização das coletas ocorreu nos meses de outubro e novembro no ano de 2017.

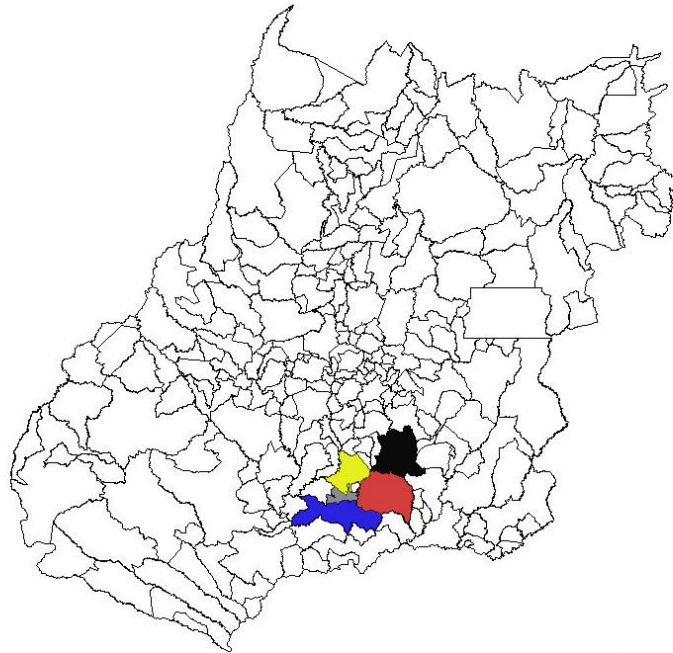
Figura 1 – Mapa satelital indicando a região sul do estado de Goiás, onde foram coletadas amostras para análise nematológica. Escala: 1:50.000



FONTE: SEGPLAN, 2018.

Os levantamentos foram realizados nas áreas de sequeiro, e nas irrigadas por sistema de pivô central. As amostras foram coletadas em 29 áreas de cultivo, sendo destas, 17 áreas sob irrigação pelo sistema de pivô central e de 12 áreas de sequeiro no sul do estado de Goiás (Figura 2).

Figura 2 – Mapa de Goiás exibindo a localização dos municípios da região sul onde foram coletadas as amostras. Escala: 1:50.000



FONTE: SEGPLAN, 2018.

3.2.1 Amostragem

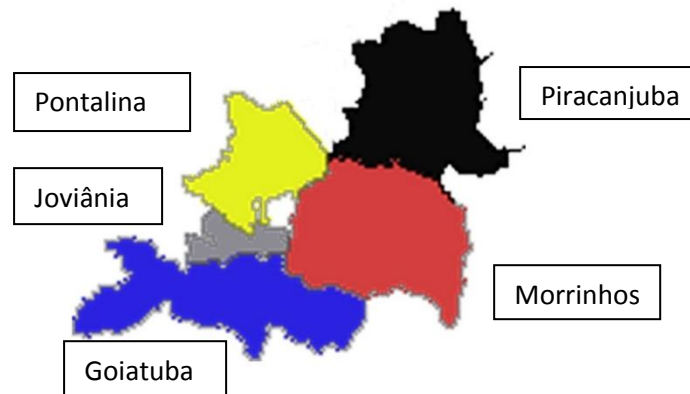
As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, com a sua respectiva identificação, por meio de um formulário para essa finalidade. Em cada área, foram registradas as coordenadas geográficas, com a utilização de aparelho com Sistema de Posicionamento Global (GPS) da marca MAGGELAN[®], modelo SporTrack Map.

Em cada pivô central amostrado foram coletadas 32 amostras (8 amostras, agrupadas em 1 amostra simples por quadrante do pivô, reunidas em uma amostra composta por equipamento de irrigação) de raízes, a profundidade de 20 a 25 cm, próximo a rizosfera das plantas. As amostras foram constituídas de 200 g de raízes por pivô central, independentemente da área total irrigada em ha por equipamento. Nas áreas de sequeiro, foram coletadas a mesma quantidade de 200 g de raízes, compostas por 15 amostras simples, reunidas em 1 amostra composta por área analisada. Em todas as coletas das amostragens, as raízes foram coletadas seguindo um caminhar em zigue-zague.

O levantamento ocorreu nos municípios de Morrinhos, Piracanjuba, Pontalina, Joviânia e Goiatuba (Figura 3). O total das áreas cultivadas pelos agricultores

participantes deste estudo, é de 5.145,5 há, com 1.200 há em sequeiro e 3.945,5 há em áreas irrigadas.

Figura 3 – Mapa expandido dos municípios de Goiatuba, Joviânia, Morrinhos, Piracanjuba e Pontalina. Escala 1:25.000



FONTE: SEGPLAN, 2018.

Foram amostradas 10% das áreas de sequeiro e 61,42% das áreas irrigadas, em 12 áreas de sequeiro e 17 áreas irrigadas por pivô central, totalizando 120 ha de sequeiro representados em 180 coletas de raízes e 2.441,76 ha irrigados amostrados, representados em 544 coletas de raízes. A área total analisada foi de 2.561,76 ha, representando 49,79% da área total de 5.145,5 ha dos agricultores participantes (Figura 4).

Figura 4 – Áreas em ha⁻¹ amostradas para análises nematológicas irrigadas ou sequeiro.



FONTE: Dados da Pesquisa.

3.2.2 Extração de nematoides das raízes

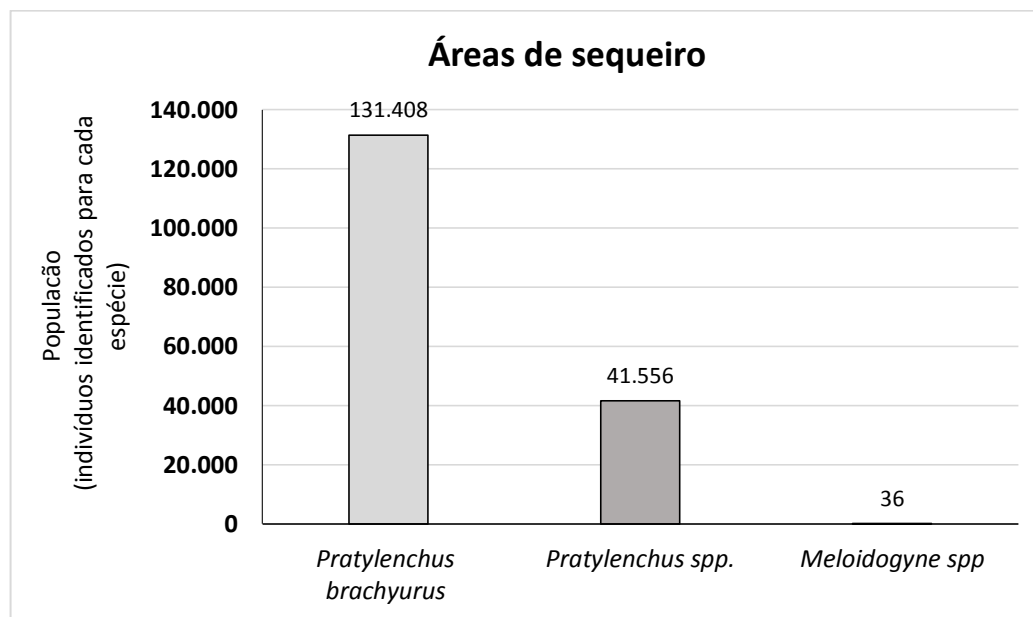
Parte das amostras de raízes foi encaminhada ao Laboratório de Biopotentes Farroupilha, outra parte ao laboratório do Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos (GO), para a identificação e quantificação das espécies. Para a extração dos nematoides e quantificação de *Pratylenchus brachyurus*, foram utilizados os métodos de flutuação centrífuga de Coolen & D`Herd (1972) e a técnica do liquidificador doméstico de Boneti & Ferraz (1981).

Primeiramente, as raízes foram lavadas e colocadas na bancada sobre papel toalha para secagem, para posterior processamento do tecido vegetal. Foram avaliadas as variáveis massa da matéria fresca dos sistemas radiculares e posteriormente quantificados o número de nematoides por grama de raiz. Após a extração dos nematoides das raízes, a etapa seguinte foi a quantificação de nematoides presentes. Uma alíquota, parte de cada suspensão aquosa com nematoides, foi utilizada para contagem com auxílio da câmara de Peters, sob microscópio fotônico, para determinação do número de ovos por grama de raiz. O trabalho de contagem consistiu em percorrer a câmara de Peters, visualizando e contando os nematoides e, identificando-os, em nível de gênero. A identificação dos gêneros foi feita com auxílio das chaves de identificação de fitonematoides de plantas (Gonzaga, 2006). Ao final da contagem, estavam disponíveis informações qualitativas e quantitativas.

3.3 Resultados e Discussão

No levantamento populacional de nematoides nos municípios da região sul do estado de Goiás, em áreas de plantio de sequeiro da cultura do milho doce, houve uma presença marcante dos nematoides *Pratylenchus* spp., *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne* spp., em todas as glebas amostradas, de uma área total de 120 ha de cultivo em sequeiro. A densidade populacional total encontrada em 200g de raízes analisadas em amostras de 12 áreas foi de 131.408 espécimes de *Pratylenchus brachyurus*, 41.556 espécimes de *Pratylenchus* spp. e de 36 espécimes *Meloidogyne* spp. (Figura 5)

Figura 5 – População de finematoides coletadas em municípios do sul do estado de Goiás em áreas de sequeiro em 200 g⁻¹ de raiz.



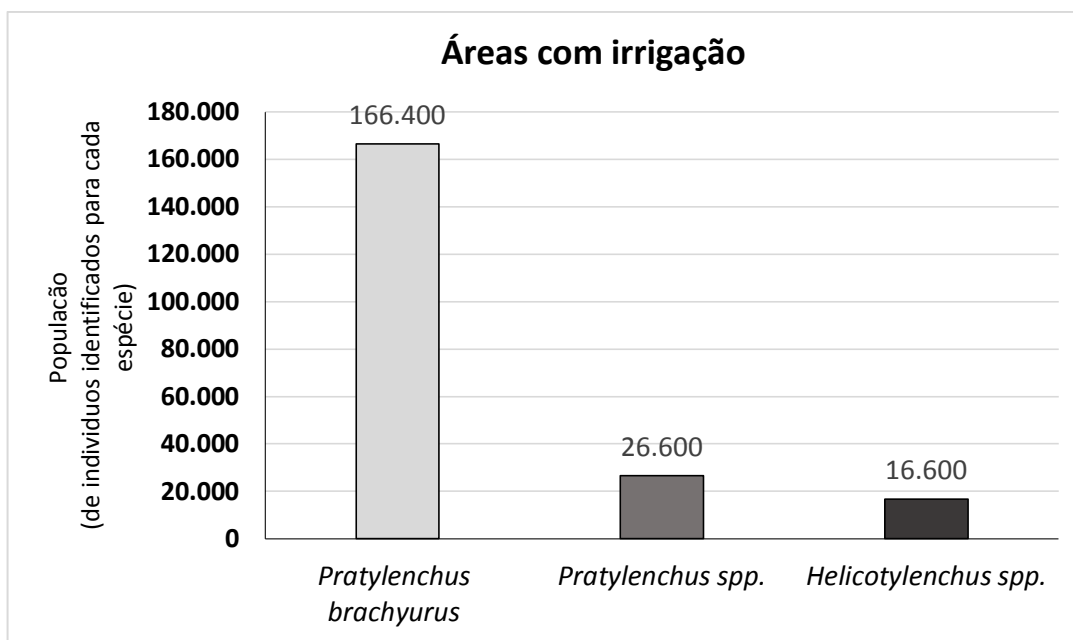
FONTE: Dados da Pesquisa.

As médias das densidades populacionais observadas nas áreas de sequeiro dos cinco municípios do estado de Goiás foram: *P. brachyurus*, 6.620 espécimes por 10 g de raiz; *Pratylenchus spp.*, 2.070 espécimes por 10 g de raiz; e *Meloidogyne spp.*, 2 espécimes por 10 g de raiz.

Os níveis médios de densidades populacionais de *Pratylenchus brachyurus* encontrados são considerados muito alto segundo a classificação proposta por Koenning (2007), que para 10 g de raiz, as faixas populacionais de 0 a 80 são consideradas baixas; 80 a 160 médias; 161 a 2.000 altas e, maior que 2.000, muito altas (Ramos, 2011).

No levantamento populacional de nematoides nos municípios da região sul do estado de Goiás, em áreas de plantio irrigado da cultura do milho doce, houve uma presença marcante dos nematoides *Pratylenchus spp.*, *Pratylenchus brachyurus* e *Helicotylenchus spp.* em todas as glebas amostradas, de uma área total de 2.441,76 ha⁻¹ de cultivo irrigado por equipamento de pivô central. A densidade populacional total encontrada em 200 g de raízes analisadas em amostras de 17 áreas foi de: 166.400 espécimes de *Pratylenchus brachyurus*; 26.600 espécimes de *Pratylenchus spp.*; e de 16.600 espécimes *Helicotylenchus spp.* (Figura 6).

Figura 6 – População de finematoides coletadas em municípios do sul do estado de Goiás em áreas irrigadas em 200 g de raiz.



FONTE: Dados da Pesquisa.

As médias das densidades populacionais observadas nas áreas irrigadas dos cinco municípios do estado de Goiás foram: *P. brachyurus*, 7.510 espécimes por 10 g de raiz; *Pratylenchus spp.*, 1.330 espécimes por 10 g de raiz; e *Helicotylenchus spp.*, 830 espécimes por 10 g de raiz.

Os resultados do levantamento nematológico evidenciam que os nematoides *Pratylenchus brachyurus* consistem em um grande problema para os produtores de milho doce da região sul de Goiás. Outro fator crítico para essa situação é o pouco emprego de rotação de culturas, pois o milho doce como cultura irrigada ou sequeiro na região estudada, encaixa-se como sucessão de culturas. A correta identificação das espécies de nematoides existentes nos locais propicia o conhecimento sobre a sua ocorrência e auxiliam na escolha do manejo com organismos biológicos.

Com a presença e alta disseminação confirmada do nematoide-das-lesões-radiculares, *P. brachyurus*, há o risco de aumento da população devido à alta prolificidade dos nematoides em gramíneas, como o milho verde. O fato observado no presente estudo, nas áreas de sequeiro e também nas áreas irrigadas, apresentaram níveis de densidades populacionais classificados como muito altos de infestação, alcançando também a classificação de alto nível de dano econômico, conforme o

critério de Barros *et al.* (2005), que consideram como alto, valores acima de 1.500 *Pratylenchus* por 50 g de raiz (Bisognin, 2017).

Os levantamentos populacionais de fitonematoides e a sua identificação constituem-se em aliados importantes na detecção e na quantificação dos prejuízos causados nas mais diversas culturas, além de importantes, principalmente, na orientação de medidas de manejo. A identificação das espécies de fitonematoides é um requisito fundamental para a orientação e adoção de medidas corretas de controle, tendo em vista as particularidades de cada região, de cada cultura e de cada espécie dos patógenos. Baseado na identificação do gênero e espécie presentes na lavoura, o controle de nematoides deve ser planejado com a integração de vários métodos e apresentar baixo custo (Kirsch, 2016).

Diagnosticados nas áreas amostradas, os nematoides do gênero *Meloidogyne* provocam no milho doce os sintomas de engrossamento nas raízes, denominados galhas, que são resultado de hipertrofias e hiperplasias celulares no cilindro central, formadas nas raízes infectadas após a penetração dos juvenis do segundo estágio (J2). Os juvenis liberam produtos salivares nas células vegetais para induzi-las à formação de células gigantes, das quais retirará os nutrientes necessários para o seu desenvolvimento. Uma vez estabelecido o seu sítio de alimentação, os J2 se tornam sedentários, passando por mais três ecdises até a fase adulta (Lopes, 2015).

Das 12 áreas cultivadas em regime de sequeiro, em 11 foram observadas a presença de fitonematoides, representando 91,6% das áreas amostradas; observou-se 100% de dominância de *Pratylenchus brachyurus*. Ambos, *Pratylenchus* spp. e *Pratylenchus brachyurus*, apresentaram 92,8% de frequência e ainda 14,2% de *Meloidogyne* spp. (Tabela 4).

Tabela 4. Levantamento populacional de nematoides na região sul de Goiás na amostragem de raízes em áreas de plantio de sequeiro.

AMOSTRAS	<i>Meloidogyne</i> spp.		<i>Pratylenchus</i> spp.		<i>Pratylenchus</i> <i>Brachyurus</i>		Total
	DP (raiz)	Dominância (%)	DP (raiz)	Dominância (%)	DP (raiz)	Dominância (%)	
Talhão 01 (Pontalina)	1	0,06	394	25,73	1.136	74,21	1.531
Talhão 02 (Pontalina)	0	0,0	401	23,38	1.314	76,62	1.715
Talhão 03 (Pontalina)	0	0,0	44	32,59	91	67,41	135
Talhão 04 (Pontalina)	0	0,0	88	27,41	233	72,59	321
Talhão 05 (Pontalina)	0	0,0	120	22,14	422	77,86	542
Talhão 06 (Pontalina)	0	0,0	370	39,32	571	60,68	941
Talhão 07 (Pontalina)	0	0,0	124	38,39	199	61,62	323
Talhão 08 (Pontalina)	1	0,15	54	8,23	602	91,62	656
Talhão 09 (Pontalina)	0	0,0	379	25,50	1.107	74,50	1.486
Talhão 10 (Pontalina)	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0
Talhão 11 (Goiatuba)	0	0,0	22	3,78	560	96,22	582
Talhão 12 (Goiatuba)	0	0,0	82	17,55	385	82,45	467
Frequência (%)	16,7		91,7		91,7		
Dominância (%)		0		0		100	

D.P.: Densidade populacional (fitonematoides em 10 gramas de raiz).

D. Dominância do gênero dentro da área amostrada (linha), em porcentagem, determinada por $\{D.P. \text{ do gênero} / \sum D.P. \text{ de todos os gêneros ocorridos na área}\} \times 100$.

Frequência de ocorrência do gênero, em porcentagem, determinada por $\{(\text{número de amostras contendo o gênero} / \text{total de amostras}) \times 100\}$.

Dominância do gênero, determinado por $\{(\text{número de vezes que o gênero de fitonematoides dominou sobre as demais} / \text{total de amostras}) \times 100\}$.

Fonte: Dados da pesquisa.

Os resultados obtidos no presente trabalho corroboram com os observados em um levantamento realizado em 18 municípios do estado do Mato Grosso, representando mais de 20 mil ha, em que verificou-se que *M. incognita* estava presente em apenas 4% das amostras, enquanto que *P. brachyurus* apresentou uma frequência de 94% (Silva *et al.*, 2003).

Foram observados também no estado de Mato Grosso do Sul, em 104 amostras, *P. brachyurus* com frequência de 59%, em que verificou-se *M. incognita* com 29% e *R. reniformis* com 19% (Comunello & Asmus, 2003). Em Goiás, de um total de 237 amostras de solo e de raízes, encontrou-se *P. brachyurus* em todos os 10 municípios amostrados e em 79% das amostras (Gielfi *et al.*, 2003).

Nas áreas irrigadas amostradas neste levantamento, a ocorrência dos nematoides alcançou frequência de 82,4% para *Pratylenchus brachyurus*, 58,8% de frequência para *Helicotylenchus* spp. e 17,6% de frequência para *Pratylenchus* spp, assim como observado em levantamento no Acre, com 100% de frequência em *P. brachyurus* (Gonçalves *et al.*, 2013). No Paraná, também foram encontrados em 16 áreas de 14 propriedades, e em 40 áreas de 21 propriedades de São Paulo. No Paraná 93,75% e em São Paulo 100% de frequência de *Pratylenchus brachyurus* (Bonfim Filho, 2013).

Levantamentos em diversas regiões produtoras caracterizam a relevância do conhecimento das densidades populacionais, da frequência de ocorrência e da dominância de qual fitonematoide ocorre nas diferentes regiões produtoras. A identificação da espécie ocorrente no local é de fundamental importância para que seja possível traçar estratégias de controle para o referido agente causador de dano. Tratando-se de nematoides, a forma mais frequente para sua identificação é basear-se principalmente em caracteres morfológicos e morfométricos (Bisognin, 2017).

Com ocorrência generalizada em solos do cerrado brasileiro, o fitonematoide *Pratylenchus brachyurus*, encontrado neste estudo, teve dominância de 100% em ambas as situações de cultivo analisadas, nas modalidades irrigada e sequeiro. Tal descoberta confirma a presença de fitonematoides com 100% de dominância de *Pratylenchus brachyurus* em áreas irrigadas pelo sistema de irrigação por pivô central (Tabela 5).

Tabela 5. Levantamento populacional de nematoides na região sul de Goiás na amostragem de raízes em áreas de plantio irrigado.

AMOSTRAS	<i>Helicotylenchus</i> spp.		<i>Pratylenchus</i> spp.		<i>Pratylenchus</i> <i>Brachyurus</i>		Total
	DP (raiz)	Dominância (%)	DP (raiz)	Dominância (%)	DP (raiz)	Dominância (%)	
Pivô 01 (Morrinhos)	10	1,76	0	0,00	560	98,24	570
Pivô 02 (Morrinhos)	20	3,39	0	0,00	570	96,61	590
Pivô 03 (Morrinhos)	0	0,00	0	0,00	210	100	210
Pivô 04 (Morrinhos)	0	0,00	0	0,00	800	100	800
Pivô 05 (Morrinhos)	0	0,00	0	0,00	810	100	810
Pivô 06 (Morrinhos)	440	16,79	0	0,00	2.180	83,21	2.620
Pivô 07 (Morrinhos)	0	0,00	0	0,00	580	100	580
Pivô 08 (Morrinhos)	30	3,95	730	96,05	0	0,00	760
Pivô 09 (Morrinhos)	100	15,63	540	84,37	0	0,00	640
Pivô 10 (Morrinhos)	0	0,00	60	100	0	0,00	60
Pivô 11 (Joviânia)	30	16,67	0	0,00	150	83,33	180
Pivô 12 (Piracanjuba)	110	18,65	0	0,00	480	81,35	590
Pivô 13 (Piracanjuba)	0	0,00	0	0,00	110	100	110
Pivô 14 (Piracanjuba)	50	6,33	0	0,00	740	93,67	790
Pivô 15 (Piracanjuba)	30	3,95	0	0,00	730	96,05	760
Pivô 16 (Goiatuba)	0	0,00	0	0,00	180	100	180
Pivô 17 (Goiatuba)	10	4,35	0	0,00	220	95,65	230
Frequência (%)	58,8		17,6		82,4		
Dominância (%)		0		17,6		82,4	

D.P.: Densidade populacional (fitonematoides em 10 gramas de raiz).

D. Dominância do gênero dentro da área amostrada (linha), em porcentagem, determinada por $\{D.P. \text{ do gênero} / \Sigma D.P. \text{ de todos os gêneros ocorridos na área}\} \times 100\}$.

Frequência de ocorrência do gênero, em porcentagem, determinada por $\{(\text{número de amostras contendo o gênero} / \text{total de amostras}) \times 100\}$.

Dominância do gênero, determinado por $\{(\text{número de vezes que o gênero de fitonematoides dominou sobre as demais} / \text{total de amostras}) \times 100\}$.

Fonte: Dados da pesquisa.

O registro de uso de agrotóxicos para controle de *P.brachyurus* na cultura de milho em tratamento de sementes, tem atualmente recomendação para uso em tratamento de sementes os Ingredientes Ativos (I.A.) Abamectina e Fluensulfona, que apresentam Limite Máximo de Resíduos (L.M.R.) de 0,005 mg/kg⁻¹ e 0,02 mg/kg⁻¹ respectivamente, além de apresentar intervalo de segurança não determinado devido à modalidade de emprego (Agrofit, 2018).

Em razão do consumo *in natura* do milho doce para alimentação humana, diferentemente do milho convencional, largamente utilizado para alimentação animal, este trabalho evidencia a importância do aumento da utilização de bionematicidas formulados com isolados de bactérias *Bacillus* spp. e fungos *Trichoderma* spp. na cultura do milho doce, com registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para controle de *P. brachyurus* no Brasil.

3.4 Conclusões

Na diagnose de nematoides realizada na região sul do estado de Goiás foram identificados três gêneros de fitonematoides associados às áreas de cultivo de milho doce, que são: *Meloidogyne*, *Helicotylenchus* e *Pratylenchus*.

O gênero *Pratylenchus* foi identificado em 28 amostragens de raiz, compreendendo a espécie *Pratylenchus brachyurus* (89,28%) e *Pratylenchus* spp. (10,72%).

Pela dominância em 100% das áreas amostradas, sejam elas áreas de sequeiro ou áreas irrigadas, ressalta-se a necessidade na elaboração de estratégias de controle para o fitonematoide *Pratylenchus brachyurus*.

3.5 Referências

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. MAPA Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 23 set. 2018.

ASMUS, G.L.; INOMOTO, M.M.; BORGES, E.P. Manejo de *Pratylenchus brachyurus* com crotalária ou milheto em área de produção de soja. Embrapa Agropecuária Oeste. Dourados, MS. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento** 73. 2016.

ÁVILA, M.C.R.; CAVALIERI, S.D.; CUNHA FILHO, S.M.; GONÇALVES, M.F.; IKEDA, F.S. Seletividade inicial de mesotrione em função de modalidade de aplicação na cultura do milho doce. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 16, n. 3. Associação Brasileira de Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG. p. 569-577. 2017.

AVILA JUNIOR, J.H., **Reações de genótipos de tomateiro industrial a *Meloidogyne incognita* e eficiência de métodos de controle**. Dissertação de Mestrado, IF Goiano – Campus Morrinhos, GO. 2017.

BAHETI, B.L.; DODWADIYA, M.; BHATI, S.S. Eco-friendly management of maize cyst nematode, *Heterodera zaeae* on sweet corn (*Zea mays* L. *saccharata*). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 5(6), p. 989-993. 2017.

BARROS, A.C.B.; MOURA, R. M.; PEDROSA, E. M. R. Estudo de interação variedade-nematicida em cana-de-açúcar em solo naturalmente infestado por *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus zaeae*. **Nematologia Brasileira**, v. 29(1). p. 39-46. 2005.

BISOGNIN, A.C., **Caracterização morfológica e agressividade de populações de *Pratylenchus* spp. do rs em cana-de-açúcar e manejo de fitonematoides na cultura pelo emprego de rizobactérias**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Maria. Frederico Westphalen, RS. 2017.

BONETI, J. I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6(3), Brasília, DF. p. 553. 1981.

BONFIM JUNIOR, M.F. **Nematóides em feijoeiro comum: ocorrência nos Estados do Paraná e São Paulo, e interação de cultivares com *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne Incognita* e *Meloidogyne javanica***. Tese de doutorado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, SP. 2013.

COMUNELLO, E.; ASMUS, G.L. Ocorrência de nematóides fitoparasitos em lavouras de algodão no estado de Mato Grosso do Sul, ano agrícola de 2001/2002. Embrapa Agropecuária Oeste. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**, 15. Dourados, MS. 2003.

COOLEN, W.A.; D’ HERDE, C.J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. **Ghent**. Belgium, 77 p. State Nematology and Entomology Research Stn, Belgium State Agricultural Research Centre. 1972.

COSTA, D.C.; PAULUCIO, V.O.; ALVES, F.R., CÂMARA, G.R.; RODRIGUES, L.L. Fitonematoides de importância econômica na cultura do abacaxi. In: TOMAZ, M.A.; AMARAL, J.F.T.; OLIVEIRA, F.L.; COELHO, R.I. **Tópicos especiais em produção vegetal IV**- 1. ed. Alegre, ES. 694 p.: il. CAUFES, 2013.

FRANCILINO, A. H.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, E. F. F.; ROLIM, M. M.; CARDOSO, M. S. O.; MARANHÃO, S. R. V. L. Effects of water flow, plant-based baits, and soil pore volume on *Pratylenchus coffeae* mobility. **Nematropica**, v. 47, p. 63-73. 2017.

GIELFI, F. S., SANTOS, J. M., ATHAYDE, M. L. F. Reconhecimento das espécies de fitonematóides associadas ao algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no estado de Goiás. **4º Congresso brasileiro do algodão**. Goiania, GO. 2003.

GONÇALVES, R. C., MACEDO, P. E. D. F., CARES, J. E., CASTANEDA, N. E. N., CAIXETA, L. D. B., LOPES, J. S. D. A. Diversidade de nematoides fitoparasitas em raízes e solo rizosférico de *Arachis* spp. no Acre. Trabalho apresentado no **46º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**. Ouro Preto, MG. 2013.

GONZAGA, V. **Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação *in vitro* das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus* Filipjev, 1936 que ocorrem no Brasil**. Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, SP. 2006.

KIRSCH, V. G.; KULCZYNSKI, S.M.; GOMES, C.B.; BISOGNIN, A. C.; GABRIEL, M.; BELLÉ, C.; LIMA-MEDINA, I. Caracterização de espécies de *Meloidogyne* e de *Helicotylenchus* associadas à soja no Rio Grande do Sul. **Nematropica**, v. 46, p. 197-208. 2016.

LALLEMAND. Manual técnico de produtos. Atende fácil biopotente. 141 p. 2018.

LIMA, F. S. D. O.; SANTOS, G. R. D.; NOGUEIRA, S. R.; SANTOS, P. R. R. D.; CORREA, V. R. Dinâmica populacional do nematoide das lesões radiculares *Pratylenchus brachyurus* em campos de soja no Tocantins e seu efeito na produção. **Nematropica**, v. 45. p. 170-177. 2015.

LOPES, C. M.L. **Populações de nematoides fitoparasitas em áreas de cultivo de soja, algodão, café e de vegetação nativa do Cerrado na região Oeste da Bahia**. Brasília. Dissertação de mestrado, Universidade de Brasília. Brasília, DF. 70 p. 2015.

PEREIRA, A. F.; ASSUNÇÃO, A.; BUENO, L. G.; OLIVEIRA, J. P.; MELO, P. G. S. Desempenho agrônomo de genótipos de milho doce. Trabalho apresentado no **Congresso de pesquisa, ensino e extensão da UFG - CONPEEX**, 3. Anais eletrônicos do III Seminário de Pesquisa e Pós-Graduação. Goiânia, GO. 2006.

RAMOS, A.A. **Cultivares de milho Pioneer® indicadas para áreas com nematóides na Safrinha. 2011**. DuPont Pioneer. 2011.

SAWAZAKI, E.; LORDELLO, A.I.L.; LORDELLO, R.R.A. Herança da resistência de milho a *Pratylenchus* spp. **Bragantia**, v. 46 (1). Trabalho apresentado no XV Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Belo Horizonte, MG. p. 27-33. 1986.

SHELTON, A. M.; OLMSTEAD, D. L.; BURKNESS, E. C.; HUTCHISON, W. D.; DIVELEY, G.; WELTY, C.; SPARKS, A. N. Multi-state trials of Bt sweet corn varieties for control of the corn earworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 106. p. 2151-2159. 2013.

SILVA, R.V., AMARAL, S.V., CARVALHO, S.L., Manejo biológico no controle de nematoides em alface. 2016. Revista Campo e Negócios Hortifruti. **Revista Campo e Negócios Hortifruti**. Uberlândia, MG. dez. 2016.

SILVA, R. A.; SERRANO, M. A. S.; GOMES, A. C.; BORGES, D. C.; SOUZA, A. A.; ASMUS, G. L.; INOMOTO, M. M. Nematóides associados ao algodoeiro no estado do Mato Grosso. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 24**, Petrolina, PE. Resumos. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Nematologia. 2003.

SOUZA, R. S.; VIDIGAL FILHO, P. S.; SCAPIM, C. A.; MARQUES, O. J.; QUEIROZ, D. C.; OKUMURA, R. S.; JOSÉ, J. V.; TAVORE, R. V. Elementos de produção de milho doce em diferentes densidades populacionais. **Comunicata Scientiae**, v. 4, p. 285-292. 2013.

4. CAPÍTULO II

CONTROLE BIOLÓGICO DE *Pratylenchus* spp. NA CULTURA DO MILHO DOCE

(Normas de acordo com a revista Horticultura Brasileira)

RESUMO

A planta de milho doce (*Zea mays* var. *saccharata* Sturt) é botanicamente similar à do milho comum (*Zea mays* L.). Por ser considerada uma hortaliça, o milho doce possui caracteres relacionados à qualidade e aos aspectos agronômicos com maior influência na aceitação comercial do que o milho comum. Na maioria das vezes, a baixa produtividade e o rendimento industrial obtidos estão diretamente relacionados ao parasitismo por fitonematoides. O ataque e danos causados por fitonematoides, na maior parte, ocorrem nas raízes, destacando-se o *Pratylenchus brachyurus*. O manejo de nematoides é muito complexo, pois, uma vez presente em uma área de cultivo, a erradicação é praticamente impossível. Entretanto, após a sua introdução na área, devem ser utilizados métodos de controle para a redução das populações a níveis toleráveis. O controle biológico pela aplicação de bionematicidas no milho doce gera grande expectativa em relação a sua eficiência, economia e sustentabilidade, no controle de fitonematoides. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de diferentes isolados biológicos no controle de *Pratylenchus brachyurus* na cultura do milho doce. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no delineamento experimental de blocos casualizados com oito tratamentos e cinco repetições. Cada parcela foi constituída de uma 1 planta por vaso de isopor[®], com capacidade de 0,7 L, contendo solo e areia (2:1 v/v) previamente autoclavado, com adubação de base. Realizaram-se tratamentos com organismos biológicos, sendo T1 - Controle; T2 - *Bacillus*

methilotrophicus; T3 – *Bacillus subtilis*; T4 – *Bacillus firmus*; T5 – *Bacillus* spp.; T6 – *Bacillus amyloliquefaciens*. T7 – *Trichoderma koningiopsis*; T8 – *Bacillus* spp., que foram adicionados em tratamento às sementes de milho doce Seminis 006 (9298) VT PRO® utilizadas no experimento. Após 15 dias da emergência das plantas, elas foram inoculadas com 600 ovos e eventuais juvenis infectantes de *P. brachyurus*. Após 62 dias da inoculação dos nematoides, procederam as avaliações da massa da matéria fresca das raízes, do número de juvenis de *P. brachyurus* e do número total médio de *P. brachyurus*. Com base nos resultados encontrados, conclui-se que *Bacillus* spp. foram mais eficazes no controle de *P. brachyurus* na cultura de milho doce por reduzir as populações de juvenis e adultos do fitonematoide na cultura e pela quantidade de massa fresca, indicando pouco ou nenhuma fitotoxicidade à cultura.

Palavras-chave: bionemática; *Bacillus*; *Trichoderma*; fitotoxicidade; milho doce.

BIOLOGICAL CONTROL OF *Pratylenchus* spp. ON SWEET CORN CROP.

ABSTRACT

The sweet corn plant (*Zea mays* var. *saccharata* Sturt) is botanically similar to common maize (*Zea mays* L.). For being considered a vegetable, sweet corn has traits related to quality and agronomic aspects with the greater influence on commercial acceptance than common maize. Most of the time, the low productivity and industrial yield obtained are directly related to parasitism by phytonematodes. The attack and damage caused by phytonematodes most often occur in the roots, with the *Pratylenchus brachyurus* standing out from the rest. The management of nematodes is very complex, since, once present in a growing area, eradication is practically impossible. However, after their introduction in the area, control methods should be used to reduce populations to tolerable levels. The biological control by the application of bionematicides in sweet corn generates great expectation in relation to its efficiency, economy and sustainability in the control of phytonematodes. The objective of this study was to evaluate the efficiency of different biological isolates in the control of *Pratylenchus brachyurus* in sweet corn. The experiment was conducted in a greenhouse, in a randomized block design with eight treatments and five replications. Each plot consisted of 1 plant per polystyrene vase with 0.7 L capacity, containing soil and sand (2:1 v/v) previously autoclaved, with basic fertilization. The treatments with biological organisms T1 – Control; T2 – *Bacillus methilotrophicus*; T3 – *Bacillus subtilis*; T4 – *Bacillus firmus*; T5 – *Bacillus* spp.; T6 – *Bacillus amyloliquefaciens*. T7 – *Trichoderma koningiopsis*; T8 – *Bacillus* spp., were added to the Seminis 006 (9298) VT PRO ® sweet corn seeds used in the experiment. After 15 days of plant emergence, they were inoculated with 600 eggs and infective juveniles of the nematode *P. brachyurus*. After 62 days of nematode inoculation, fresh roots mass, number of juveniles of *P. brachyurus* and total mean number of *P. brachyurus* were evaluated. Based on the results found, it is concluded that *Bacillus* spp. were more effective in controlling *P.*

brachyurus in the sweet corn crop by reducing juvenile and adult populations of the phytonematode in the crop and by the amount of fresh mass, indicating little or no phytotoxicity to the crop.

Keywords: bionematicide; *Bacillus*; *Trichoderma*; phytoxicity; sweet corn.

4.1 Introdução

No Brasil, foi cultivado 16,64 milhões de ha de milho na safra 2017/2018, nos plantios de verão e de inverno, produzindo 81,36 milhões de toneladas do cereal, e alcançando 4.891 kg/ha⁻¹ de produtividade média. O estado de Goiás, na mesma safra, cultivou 4,89 milhões de ha, com produtividade de 5.617 kg/ha (CONAB, 2018). Contudo, para o milho doce, diferentemente do milho convencional com finalidade de grãos, há ainda escassez de informações. O Brasil, com produtividade média industrializável de milho doce na ordem de 5,1 toneladas de espigas ou 1,5 toneladas de grãos por hectare, sofre com problemas na produção por dois principais motivos: o baixo rendimento agrícola, devido a produção insatisfatória de grãos, e o baixo rendimento industrial com espigas inadequadas ao processamento industrial⁶.

Na maioria das vezes, a baixa produtividade e o rendimento industrial obtidos estão diretamente relacionados ao parasitismo por fitonematoides, que estão entre os principais agentes causadores de doenças e danos às culturas, cujo controle, na maioria dos casos, representa um processo difícil e contínuo. No Brasil, as perdas causadas por nematoides na cultura do milho já foram quantificadas em 39% da produção (Santos & Mendes, 2018) Há relatos frequentes de reduções de 30% ou mesmo de até 50% na produção de soja em áreas infestadas por *P. brachyurus* na região Centro-Oeste (Goulart, 2008). Para agricultores e pesquisadores, há um consenso de que o *Pratylenchus brachyurus* é o principal problema da região Centro-Oeste na produção de soja sob plantio direto, não sendo diferente para a cultura do milho que é severamente atacada (Goulart, 2008).

Pratylenchus spp é considerado o segundo gênero em importância no Brasil. É uma espécie de nematoide endoparasita migradora que causa destruição celular de três formas: ação espoliativa, alimentando-se do conteúdo celular; ação tóxica, resultado da injeção de secreções esofagianas no citoplasma das células; e, ação mecânica, durante

⁶ Informação obtida nas empresas do setor processamento de alimentos.

sua movimentação. Os nematoides de lesões destroem e desorganizam numerosas células que, em geral, se restringem ao parênquima cortical, causando lesões nas raízes (Figueiredo, 2013). O sistema radicular e as radículas parasitadas do milho doce frequentemente sofrem invasão de fungos e bactérias do solo, resultando em sintomas clássicos do ataque, como o escurecimento das raízes lesionadas (sintomas diretos), e ainda formação de reboleiras e desuniformidade entre plantas (sintomas reflexos) (Lopes & Ferraz, 2016).

O ataque de *Pratylenchus brachyurus* em raízes geram danos e perdas bastantes variáveis, sendo influenciados por uma série de fatores como umidade e temperatura do solo, insolação, cobertura vegetal e compactação do solo. Uma das dificuldades de controle é o modo como estes nematoides estão disseminados na área, já que o transporte desses organismos é fortemente influenciado pelo movimento da água e de máquina e implementos agrícolas (Francilino *et al.*, 2017).

Os danos causados favorecem a entrada de outros micro-organismos oportunistas presentes no solo e, portanto, afetam o desenvolvimento da planta e a qualidade dos grãos para atender a indústria e o consumidor. Características de qualidade relacionadas à aparência do produto e aspectos sensoriais devem ser consideradas na produção de milho verde, pois são considerados grandes problemas (Pereira Filho & Teixeira, 2016).

A agressividade de ataque e danos de *P. brachyurus* pode ser influenciada pela interação com outros patógenos, como fungos dos gêneros *Fusarium* e *Verticillium*. Estas interações são sinérgicas, isto é, a interação entre o nematoide e o fungo resulta em danos maiores que a soma de danos individuais isoladamente (Castilho & Vovlas, 2007).

Com a intenção de combater o nematoide de cisto (*H. glycines*), principalmente na região Centro-Oeste, em sistema de plantio direto, os agricultores passaram a utilizar na segunda safra os cultivos de milho, milheto e sorgo após o plantio da soja no verão, pois essas gramíneas não multiplicavam aquela espécie, de introdução recente no país. Entretanto, na maioria das lavouras, o nematoide *P. brachyurus* também estava presente, embora em menores níveis populacionais. Após alguns anos, verificou-se que aquele esquema de sucessão fora realmente adequado para fins de controle do nematoide de cisto; porém, as populações de *P. brachyurus* se tornaram muito mais elevadas em função do plantio das gramíneas como “safrinhas de inverno” (Ferraz, 2016).

Para os agricultores, a solução destes problemas são cada vez mais importantes, tanto do ponto de vista econômico como do ambiental e sustentável. O controle de fitonematoides⁷ é uma necessidade iminente não somente para os produtores rurais, mas também para as indústrias de conservas alimentícias, que necessitam de matéria prima com altas produtividades para produzirem alimentos com a adequada qualidade.

Do ponto de vista agrônômico, existem desafios que necessitam ser enfrentados por pesquisadores e por empresas na área de bioprodutos. Um destes desafios é o desenvolvimento de novos agentes entomopatógenos para controle biológico, especialmente àqueles formulados com isolados de bactérias. As espécies de bactérias mais promissoras que causam doença em nematoides são as pertencentes à família Bacillaceae, especialmente os gêneros *Bacillus* e *Chlostridium*, as quais são caracterizadas como produtoras de esporos de resistência (Tian *et al.*, 2007).

Durante o processo evolutivo, as plantas adquiriram uma sofisticada estratégia defensiva para “perceber” os ataques de patógenos e insetos (Schroth & Hancock, 1982). Ocorre que, com a capacidade de destruição do patógeno, tais constatações ensinam a possibilidade de controle do patógeno por meio de aplicação de bionematicidas. Estudos recentes relatam avanços em pesquisas relacionando o potencial controle do avanço de doenças, pragas e avações de possíveis perdas com a utilização de agentes biológicos (Valicente, 2015).

Destaca-se, dentre os avanços, a larga utilização de *Bacillus thuringiensis*, bactéria produtora de uma toxina que combate lagartas de folhas; de bactéria *Methilobacterium oryzae*, que sequestra metais pesados, permitindo a sobrevivência de plantas e seu crescimento em solos contaminados; de bactéria *Rhizobia*, inoculadas nas raízes das leguminosas, disponibilizando o nitrogênio do ar atmosférico às plantas. E, ainda, a utilização de fungos do gênero *Trichoderma* spp. que controlam fungos patogênicos e ativam o sistema imunológico das plantas (Davin-Regli & Pagés, 2015).

A busca por métodos alternativos de controle de insetos-praga tem sido realizada com afinco por vários laboratórios ao redor do mundo, devido à necessidade de uma agricultura mais sustentável e desenvolvida com uma maior preocupação com a preservação do meio ambiente. Os inseticidas biológicos, utilizados há mais de 50 anos no Brasil, são uma alternativa para o controle mais seletivo de insetos nocivos. Uma prática que inclui, principalmente, o emprego de micro-organismos, em que o patógeno

⁷ Informação obtida junto a agricultores de milho doce.

é uma ferramenta alternativa para o controle biológico, visando o manejo de insetos-praga de forma segura ao ser humano e ao meio ambiente (Bobrowsk *et al.*, 2003).

O produto Rizos[®] (ingrediente ativo: *Bacillus subtilis* isolado sf 202) para controle de nematoides, desenvolvido, produzido e comercializado pelo Laboratório Farroupilha Lallemand, apresenta vantagens proporcionadas pelo uso de *B. subtilis* em plantas. Alguns bioformulados levam em sua rotulagem a característica de amplo espectro contra fitopatógenos, além do efeito adicional de promotor de crescimento.

No Brasil, encontram-se produtos a base de *Bacillus subtilis* recentemente registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para controle de *P.brachyurus*, como Rizos OG[®], do Laboratório de Biocontrole Farroupilha Lallemand e produtos formulados com *B.subtilis* + *B. linheniformis* como Quartzo[®] e Presence[®], da FMC Química do Brasil Ltda (Agrofit, 2018).

Os produtos comerciais Serenade[®] *Bacillus subtilis* linhagem qst 713 da Agraquest[®] e Sonata[®] (*Bacillus pumilus*) têm registro para sua comercialização no Brasil pela Bayer[®], sem, contudo, recomendação para controle de fitonematoides. Têm-se ainda os produtos Able[®], Able off[®], Agree[®], Bac Control ec[®], Bac Control wp[®], Bactur wp[®], Dipel[®], Dipel wg[®], Dipel wp[®], Ponto Final[®], Thuricide[®] e Xentari[®], todos formulados com *Bacillus thuringiensis*, com registro para comercialização no Brasil pelas empresas Adama[®], Bio Controle[®], Bthek Biotecnologia[®], Sipcam Nichino[®], Sumitomo[®] e Vectorcontrol[®], porém, nenhum desses produtos possuem recomendação de uso para controle de fitonematóides (Agrofit, 2018).

Estima-se que o mercado nacional de produtos biológicos esteja movimentando cerca de R\$ 500 milhões por ano no país. Além disso, a expectativa é de que em 5 anos este mercado possa movimentar de R\$ 1,5 a R\$ 2 bilhões. As grandes empresas de agroquímicos estão entrando neste mercado de biocontrole, fundando ou adquirindo empresas de produtos biológicos e desenvolvendo novos produtos, destacando-se o Laboratório de Biocontrole Farroupilha Lallemand Ltda, Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, FMC Química do Brasil Ltda, Basf S.A., Iharabras S.A. Indústrias Químicas, Bayer S.A. (Agrofit, 2018). Assim, a estimativa do mercado de produtos biológicos é de alcançar US\$ 6,1 milhões em 2022, e US\$ 25 milhões em 2030 (Bettiol, 2012).

Os agentes de controle biológico são capazes de penetrar a barreira cuticular para infectar, parasitar e matar uma série de nematoides, bem como produzir enzimas, antibióticos e toxinas, interferindo no reconhecimento nematoide-hospedeiro,

competindo por nutrientes, induzindo resistência sistêmica das plantas e promovendo a fitossanidade (Tian, 2007).

Vale destacar que, ao aliar na mesma ferramenta manejo e controle, três importantes aspectos da produção de milho doce são considerados. O primeiro aspecto é o ambiental, com a destinação de seres biológicos à própria agricultura. O segundo aspecto é o econômico, com a produtividade aumentada e a melhor padronização do produto colhido, aumentando os lucros do agricultor. O terceiro destaque é o sanitário, uma das propostas trazidas por este estudo por meio de manejo baseado na diagnose do fitopatógeno e no controle com bionemática, o que propicia a produção de alimentos para consumo *in natura* mais saudáveis.

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do controle biológico de *Pratylenchus brachyurus*, em milho doce.

4.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com ambiente controlado, no Instituto Federal Goiano - Campus Morrinhos, município de Morrinhos – GO, coordenadas 17° 48' 44" latitude sul e 49° 12' 25" longitude oeste, no período de 07 de setembro a 29 de novembro de 2017. Semeadas 3 sementes de milho doce Seminis 006 (9298) VT PRO, em vasos de isopor® contendo de 0,7 L de solo com uma mistura de areia e solo na proporção de 2:1, autoclavados no laboratório Farroupilha Lallemand, adicionados 0,21 g de adubo 08-16-08 + micros no plantio, desbaste para uma planta aos 15 dias e cobertura nitrogenada com solução de uréia 0,093 g por vaso, aos 35 dias após semeadura.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados, com oito tratamentos e cinco repetições, com unidade experimental de 1 planta por vaso de isopor®, com 0,7 L de volume. Os tratamentos foram: Controle; *Bacillus methilotrophicus*; *Bacillus subtilis*; *Bacillus firmus*; *Bacillus* spp.; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Trichoderma koningiopsis*; *Bacillus* spp., adicionados às sementes previamente a semeadura.

4.2.1 Preparo do inóculo de fungo e bactérias

A massa média de sementes (PMS) utilizadas foi de 196,43 g, utilizadas 255 sementes para os tratamentos 2, 3, 4, 5, 6 e 8, adicionadas com 0,6 mL de suspensão

concentrada do gênero *Bacillus* de cada tratamento e, 510 sementes para o tratamento 7, adicionado com 0,8 mL de suspensão concentrada do gênero *Trichoderma* no tratamento. Os inóculos utilizados no experimento foram atestados e aprovados pelo laboratório de microbiologia da Farroupilha Lallemand, relatados em formulário próprio (apêndice A).

4.2.2 Preparo do inóculo do nematoide

A obtenção da suspensão com nematoides de lesões ocorreu pela extração de vaso de milho infectado com *Pratylenchus brachyurus* da coleção do laboratório Farroupilha Lallemand. O processo de extração dos ovos das raízes se deu pelo uso da técnica do liquidificador doméstico (Boneti & Ferraz, 1981). A suspensão obtida foi recolhida com auxílio de pisseta para béquer, sendo que a contagem e a calibração do inóculo de *P. brachyurus* foi realizada com o auxílio da câmara de contagem de Peters, ao microscópio fotônico, no aumento de 100 X. A suspensão foi calibrada contendo 150 ovos mL⁻¹.

4.2.3 Inoculação do fitonematoide

Depois de 15 dias após emergência, no estágio V2, foi realizada a inoculação de *P. brachyurus*, aplicados 4 mL da suspensão, em quatro orifícios de dois centímetros de profundidade, no solo e ao redor da planta, totalizando 600 ovos/vaso⁻¹.

4.2.4 Condução do bioensaio

Durante o período experimental, os vasos de plantas de milho doce foram irrigados diariamente, em três turnos por equipamento de automação instalado na casa de vegetação. Um termômetro instalado a 1,70 m de altura no interior da casa de vegetação registrou temperaturas que variaram entre 25,2°C e 28,7°C, com umidade relativa do ar variando entre 51% e 60%. No estágio de 2 pares de folhas, a aplicação de adubação foliar (Cellerate® 5,33 mL L⁻¹, 25 mL planta⁻¹) seguiu a recomendação do fabricante. Semanalmente, iniciando com a inoculação dos fitonematoides, foram realizadas 3 aplicações de adubação foliar (Booster® 0,89 mL L⁻¹, 25 mL planta⁻¹) em cada uma das aplicações.

Aos 35 dias após emergência, realizou-se aplicação de solução nitrogenada (uréia 3,72 g L⁻¹, 25 mL planta⁻¹) adequando as necessidades de nutrientes das plantas,

com a recomendação do fornecedor das sementes. Não foram utilizados agrotóxicos na condução do bioensaio.

4.2.5 Processamento e análise das amostras de raízes

O processamento das raízes ocorreu 62 dias após a inoculação do nematoide. Foram avaliadas as variáveis massa da matéria fresca das raízes, o número de juvenis de *P. brachyurus* e o número total médio de *P. brachyurus*. As raízes foram lavadas e secadas em papel toalha para verificação de massa de matéria fresca do sistema radicular. Foi feita a aferição da massa antes do processamento, para quantificação do número de juvenis e do número total médio de *P. brachyurus* por grama de raiz. A extração de jovens e adultos das raízes de milho doce foi realizada de acordo com a técnica do liquidificador doméstico (Boneti & Ferraz, 1981). Na sequência, foram contados em câmara de Peters, sob microscópio fotônico, e determinados o número de jovens e adultos por grama de raiz. O fator de reprodução (FR) foi obtido pela divisão entre as densidades populacionais final e inicial ($FR = Pf/Pi$) (Oostenbrink, 1966). A população final (Pf) constituiu-se da população das raízes e da população inicial (Pi) do inóculo extraído, quantificado e calibrado para conter 600 ovos/vaso⁻¹.

4.2.6 Identificação dos tratamentos

Identificaram-se os tratamentos da seguinte forma: T1 – Controle; T2 – *Bacillus methylotrophicus* isolado GF 267; T3 – *Bacillus subtilis* isolado GF 202; T4 – *Bacillus firmus* isolado GF 435; T5 – *Bacillus* spp. isolado GF 314; T6 – *Bacillus amyloliquefaciens* isolado GF 63; T7 – *Trichoderma koningiopsis* isolado GF 427; T8 – *Bacillus* spp. isolado GF 512.

4.2.7 Análise estatística

Para as análises estatísticas, os dados foram transformados em $\log_{10}(x + 1)$ e submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Willk. Realizou-se a análise de variância e a comparação de médias, utilizando o software estatístico R[®] v. 3.3.1 (2016). As médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4.3 Resultados e Discussão

A umidade média do ar dentro da casa de vegetação durante a condução do ensaio permaneceu variando entre 51% e 60%, enquanto as temperaturas do ar, mínima e máxima, foram respectivamente de 25,2 °C e 28,7 °C. O fator temperatura foi favorável à reprodução de *P. brachyurus*. As condições ambientais foram favoráveis para o desenvolvimento do fitonematoide, com diferenças significativas observadas entre os métodos de controle.

Graham (1951) demonstrou que cada fêmea de *P. brachyurus* ovipositou de quatro a oito ovos por dia, durante onze dias de alimentação em raízes de milho, crescendo em câmara úmida, sob temperatura de 26,7 a 29,4°C. Olowe & Corbett (1976) observaram que a temperatura afeta decisivamente a reprodução de *P. brachyurus*, a qual é inibida em raízes de milho crescendo a temperaturas de 5, 10 e 15°C. A temperatura considerada ótima para a eclosão dos juvenis é de 25 a 30 °C (Tihohod, 2000).

A observação dos resultados obtidos aos 62 dias após a inoculação, evidencia que para o número de juvenis/g de raiz, o tratamento *Bacillus* spp. isolado GF 314 apresentou o menor valor ($P \leq 0,05$), sendo 93,79% mais eficiente no controle da multiplicação de juvenis de *P. brachyurus* que T1 - controle (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores médios do número de juvenis de *P. brachyurus* g⁻¹ raiz de milho aos 62 dias após a inoculação.

Tratamentos	Nº Juvenis/g ⁻¹ Raíz	Tukey
T1 – Controle	63,20	a
T4 – <i>Bacillus firmus</i> isolado GF 435	27,40	ab
T8 – <i>Bacillus</i> spp isolado GF 512	21,20	bc
T6 – <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolado GF 63	19,60	bc
T7 – <i>Trichoderma koningiopsis</i> isolado GF 427	11,40	bc
T3 – <i>Bacillus subtilis</i> isolado GF 202	11,80	c
T2 – <i>Bacillus methilotrophicus</i> isolado GF 267	07,60	cd
T5 – <i>Bacillus</i> spp isolado GF 314	03,92	d
Média	20,77 (*)	(**)
C.V. (%)		16,36

* Dados originais. Para análise estatística, os dados foram transformados em $\log_{10}(x + 1)$

** Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Dados da pesquisa.

Os demais tratamentos *Bacillus methilotrophicus* isolado GF 267, *Bacillus subtilis* isolado GF 202, *Trichoderma koningiopsis* isolado GF 427, *Bacillus amyloliquefaciens* isolado GF 63, *Bacillus* spp. isolado GF 512, *Bacillus firmus* isolado GF 435, foram respectivamente 87,97%, 81,32%, 81,96%, 68,99%, 66,46% e 56,65% mais eficientes que o T1 - Controle respectivamente, evidenciando que *Bacillus* spp. isolado GF 314, *Bacillus methilotrophicus* isolado GF 267, *Bacillus subtilis* isolado GF 202, foram os melhores métodos (isolados biológicos) de controle para esta situação.

Ao analisar os resultados apresentados na (Tabela 1) é possível verificar diferenças significativas no efeito que cada isolado promove sobre os nematoides. Isso pode ser atribuído aos compostos que cada isolado produz, provocando mortalidade dos juvenis, deixando evidente o efeito e modo de ação diferente dentre os compostos testados, interferindo em fases distintas do ciclo de vida e do desenvolvimento do nematoide, podendo interferir tanto na fase de ovo quanto na fase de juvenil/adulto (Bisognin, 2017).

O isolado de *Bacillus* spp. GF 314 foi o tratamento mais efetivo para controle de juvenis J2 e apresentou pouca ou nenhuma fitotoxicidade à cultura de milho doce, apresentando o menor valor ($P \leq 0,05$), sendo 93,79% mais eficiente no controle da multiplicação de juvenis de *P. brachyurus* que o T1 - Controle. Araújo (2018) relata que os *Bacillus* spp. são rizobactérias que podem sintetizar metabólitos secundários que interferem no ciclo reprodutivo do nematoide e/ou transformar exudados radiculares em subprodutos, interferindo o processo de reconhecimento nematoide-planta. Soares *et al.* (2018) relataram reduções médias na população de nematoides por g de raiz em cana-de-açúcar.

Os tratamentos *Bacillus methilotrophicus* isolado GF 267 e *Bacillus subtilis* isolado GF 202, apresentaram resultados ($P \leq 0,05$) para controle de juvenis J2, com 87,97%, 81,32% de eficiência, respectivamente. Para a variável massa fresca de raiz, apresentaram resultados que diferem do mais eficiente e do menos eficiente tratamento, resultado superior ao encontrado por Mazucheli (2014), em que a utilização de *Bacillus subtilis* possibilitou um desenvolvimento da massa fresca da parte aérea em aproximadamente 15% do milho no cultivo safrinha.

Os isolados *Trichoderma koningiopsis* isolado GF 427, *Bacillus amyloliquefaciens* isolado GF 63 e *Bacillus* spp. isolado GF 512 diferem do T1 - Controle e evidenciam bom controle de juvenis com eficiência de 81,96%, 68,99%, 66,46%, respectivamente. Entretanto, *Bacillus amyloliquefaciens* isolado GF 63

apresenta o melhor resultado, diferindo de todos os demais tratamentos em massa fresca de raiz (Tabela 2) evidenciando promoção de crescimento. Esse resultado ocorreu em razão de que os mecanismos de ação são baseados em atividade hormonal sobre o crescimento das plantas (Trevisan *et al.*, 2017).

Bacillus firmus isolado GF 435, foi o tratamento menos efetivo, apresentando 56,65% de nível de controle de juvenis, não diferindo tanto em relação a testemunha, quanto aos tratamentos *Trichoderma koningiopsis* isolado GF 427, *Bacillus amyloliquefaciens* isolado GF 63, *Bacillus* spp isolado GF 512. Resultado semelhante ao encontrado para massa fresca de raiz, que não diferem só do T1 - Controle apresentou resultado menos eficiente para a variável analisada.

Tabela 2 - Valores médios de massa fresca de raiz de milho aos 62 dias após a inoculação.

Tratamentos	Massa Fresca de Raiz g ⁻¹	Tukey
T6 – <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolado GF 63	31,09	a
T5 – <i>Bacillus</i> spp isolado GF 314	26,85	ab
T8 – <i>Bacillus</i> spp isolado GF 512	26,75	ab
T7 – <i>Trichoderma koningiopsis</i> isolado GF 427	24,57	ab
T3 – <i>Bacillus subtilis</i> isolado GF 202	24,34	ab
T2 – <i>Bacillus methilotrophicus</i> isolado GF 267	23,07	ab
T1 – Controle	22,09	ab
T4 – <i>Bacillus firmus</i> isolado GF 435	20,52	b
Média	24,91 (*)	(**)
C.V. (%)		5,36

* Dados originais. Para análise estatística, os dados foram transformados em $\log_{10}(x + 1)$

** Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Dados da pesquisa.

O *Bacillus* spp. isolado GF 314 obteve um resultado satisfatório, com 92,30% de controle do número médio de nematoides em relação à T1 - Controle (Tabela 3), que foi superior, mas, alinhado com o resultado obtido por Soares *et al.* (2018), quando comparado o efeito da aplicação de *Bacillus* spp. na reprodução de *Pratylenchus zea* (*P. Zea*) em cana-de-açúcar, e como possível razão, segundo Araujo (2018), que as bactérias podem agir de diferentes maneiras no controle de nematoides, parasitando diretamente esses patógenos, produzindo metabólitos tóxicos que afetam a sua movimentação, inibindo a eclosão de juvenis e o processo pelo qual eles penetram as raízes.

Bacillus methilotrophicus isolado GF 267 com comportamento similar ao obtido por *Bacillus* spp. neste experimento obteve 90,32% de controle. Miranda *et al.*

(2018) encontraram resultado diferente com o uso de *B.methilotrophicus* no manejo de *P.brachyurus* na cultura da soja, relatando que não houve diferença para número de nematoides. Os mesmos autores relatam incremento de 3 sacas por ha⁻¹ no controle de *H. glycines* (Tabela 3).

Bacillus subtilis isolado GF 202 e *Trichoderma koningiopsis* isolado GF 427 têm comportamentos ($P \leq 0,05$) semelhantes, 78,90% e 78,46% de controle no número de nematoides. Nos produtos à base de *Bacillus*, a espécie *Bacillus subtilis* representa 62% dos produtos comercializados (Bettioli, 2012). Teixeira *et al.*, (2018) relataram que com a utilização do isolado GF 427 houve uma eficiência da redução do número de juvenis na ordem de 62% em *H. glycines* na cultura da soja.

Tabela 3 - Valores médios de número de nematoides em 10 g⁻¹ raiz aos 62 dias após a inoculação.

Método de Controle	Nº Médio de Nematóide	Tukey
T1 – Controle	1.365	a
T4 – <i>Bacillus firmus</i> isolado GF 435	570	ab
T6 – <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolado GF 63	612	ab
T8 – <i>Bacillus</i> spp isolado GF 512	444	ab
T7 – <i>Trichoderma koningiopsis</i> isolado GF 427	294	bc
T3 – <i>Bacillus subtilis</i> isolado GF 202	288	bc
T2 – <i>Bacillus methilotrophicus</i> isolado GF 267	132	c
T5 – <i>Bacillus</i> spp isolado GF 314	105	c
Média	476,25 (*)	(**)
C.V. (%)		13,13

* Dados originais. Para análise estatística, os dados foram transformados em $\log_{10}(x + 1)$

** Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Dados da pesquisa.

Bacillus spp. isolado GF 512, *Bacillus amyloliquefaciens* isolado GF 63 e *Bacillus firmus* isolado GF 435 (Tabela 3) obtiveram o menor controle em redução do número de nematoides. Berlitz *et al.* (2018) relataram que *B. amyloliquefaciens* atuando na região radicular da planta, modificam os exsudatos produzidos e o nematóide não identifica quimicamente a planta hospedeira e permanece no solo, não conseguindo parasitar as raízes. Esser *et al.* (2017) relataram que *B. amyloliquefaciens* em tratamento de semente de milho reduziram a reprodutibilidade de *P. brachyurus* entre 56 e 70%.

O fator de reprodução (FR) (Tabela 4) foi obtido pela divisão entre as densidades populacionais final e inicial ($FR = Pf/Pi$) (Oostenbrink, 1966). A população final (Pf) constituiu-se da população das raízes e da população inicial (Pi) do inóculo extraído, quantificado e calibrado para conter 600 ovos/vaso⁻¹.

Tabela 4 – Fator de reprodução (FR) e eficiência na redução do número de nematoides em 10 g⁻¹ raiz aos 62 dias após a inoculação.

Tratamentos	Redução nº de nematoide	FR
T1 – Controle	+127,50%	2,28
T6 – <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> isolado GF 63	+1,96%	1,02
T4 – <i>Bacillus firmus</i> isolado GF 435	-5,26%	0,95
T8 – <i>Bacillus</i> spp isolado GF 512	-35,14%	0,74
T7 – <i>Trichoderma koningiopsis</i> isolado GF 427	-51%	0,49
T3 – <i>Bacillus subtilis</i> isolado GF 202	-52%	0,48
T2 – <i>Bacillus methilotrophicus</i> isolado GF 267	-78%	0,22
T5 – <i>Bacillus</i> spp isolado GF 314	-82,5%	0,17
Média	-49,16%	0,51

Fonte: Dados da pesquisa.

Tal medida de uso de controle biológico diminui os danos de *P. brachyurus* causados à cultura do milho, minimiza o uso e a quantidade de produtos químicos na lavoura de milho doce, proporciona a produção de alimento mais saudável e mitiga o impacto ambiental causado pela aplicação de agrotóxicos.

4.4 Conclusões

Os isolados *Bacillus* spp (isolado GF 314), *Bacillus methilotrophicus* (isolado GF 267) e *Bacillus subtilis* (isolado GF 202) apresentaram o melhor controle sobre o número de nematoides nas condições avaliadas. Os isolados *Bacillus amyloliquefaciens* (isolado GF 63), *Bacillus* spp. (isolado GF 314) e *Bacillus* spp. (isolado GF 512) apresentaram a menor fitotoxicidade ao milho doce, expresso em peso de massa fresca de raiz, mas não diferem estatisticamente dos demais, exceto para *Bacillus firmus*.

Os isolados *Bacillus* spp. (isolado GF 314, *Bacillus methilotrophicus* (isolado GF 267) e *Bacillus subtilis* isolado (GF 202) apresentaram o melhor controle em reprodução de J2. de *P.brachyurus*, mas não diferem de outros. *Bacillus* spp. (isolado GF 314) apresentou melhor controle em reprodução de J2, bem como de número de nematoides, e obteve a segunda melhor performance em massa fresca de raiz, indicando pouca ou nenhuma fitotoxicidade à cultura testada, não diferindo de outros.

4.5 Referências

AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. MAPA Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 23 set. 2018.

ARAÚJO, F.V. **Novas moléculas e produtos biológicos no manejo de fitonematóides em soja**. Trabalho apresentado no XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia. Bento Gonçalves, RS. Embrapa Brasília, DF. 239 p. 2018.

BERLITZ, D.L.; SCHERER, J.R.L.; MATSUMURA, A.S.; MATSUMURA, A.S.; MATSUMURA, A.T.S. Controle de *Pratylenchus brachyurus* com *Bacillus amyloliquefaciens* e *Purpureocillium lilacinum* (*Paecilomyces lilacinus*) em soja inoculada com icb nutrisolo trichoderma. Trabalho apresentado no XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia. Bento Gonçalves, RS. Brasília, DF. 239 p. 2018.

BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B.; PINTO, Z.V.; PAULA JUNIOR, T.J.; CORRÊA, E.B.; MOURA, A.B.; LUCON, C.M.M.; COSTA, J.C.B.; BEZERRA, J.L. **Produtos Comerciais à Base de Agentes de Biocontrole de Doenças de Plantas**. Embrapa Meio Ambiente. Documentos 88. Jaguariúna, SP. 2012.

BISOGNIN, A.C., **Caracterização morfológica e agressividade de populações de *Pratylenchus* spp. do rs em cana-de-açúcar e manejo de fitonematoides na cultura pelo emprego de rizobactérias**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de Santa Maria. Frederico Westphalen, RS. 2017.

BONETI, J. I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6(3), Brasília, DF. p. 553. 1981.

BOBROWSKI, V.L.; FIUZA, L.M.; PASQUALI, G.; BODANESE-ZANETTINI, M.H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, v.34, n.1, Santa Maria, RS. p. 843-850, set-out, 2003.

CASTILLO, P.; VOVLAS N. *Pratylenchus* (Nematoda, Pratylenchidae): diagnosis, biology, pathogenicity and management. **Nematology Monographs and Perspectives**, v. 6. 529 p. 2007.

CONAB 2018. Disponível em: <<https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/index.php/safra-serie-historica-dashboard>>. Acesso em: 27 set. 2018.

DAVIN-REGLI, A.; PAGÈS, J-M. Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. **Frontier in Microbiology**, v. 6, Article 392. 2015.

ESSER, R.; SILVA, M.S.G.; TREVISAN, M.; ARANTES, L.G.; FERRO, H.; FREIRE, E.S., *Bacillus amyloliquefaciens* bv03 controla *Pratylenchus brachyurus* no cultivo de milho. Trabalho apresentado no 50º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. **Anais do 50º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Uberlândia, MG. 2017.

FERRAZ, L., Chave ilustrada de identificação dos principais gêneros de fitonematóides no Brasil baseada em caracteres das fêmeas. 2016

FERRAZ, S., FREITAS, L.G. O controle de fitonematóides por plantas antagonistas e produtos naturais. 2016.

FIGUEIREDO, A. **Estudo de variáveis ecológicas de *Pratylenchus brachyurus* em soja e elaboração de uma escala de notas para seleção de genótipos a campo.** Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Jaboticabal, SP. 2013,

FRANCILINO, A. H.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, E. F. F.; ROLIM, M. M.; CARDOSO, M. S. O.; MARANHÃO, S. R. V. L. Effects of water flow, plant-based baits, and soil pore volume on *Pratylenchus coffeae* mobility. **Nematropica**, v. 47, p. 63-73. 2017.

GOULART, A.M.C. **Aspectos gerais sobre nematoides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*).** Embrapa Cerrados. Planaltina, DF. 30 p. Documentos Embrapa Cerrados. 2008.

GRAHAM, T.W. **Nematode root rot of tobacco and other plants.** Clemsom: South Carolina Agricultural Experimental Station, (Technical Bulletin). 390. p. 1-25. 1951.

LOPES, E.A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematóides na agricultura. In: OLIVEIRA, C.M.G.; SANTOS, M.A.; CASTRO, L.H.S. (eds). **Diagnose de fitonematóides.** Ed. Millenium, Campinas, SP. p. 1-13. 2016.

MAZZUCHELLI, R.C.L.; SOSSAI, B.F.; ARAUJO, F.F. Inoculação de *bacillus subtilis* e *azospirillum brasilense* na cultura do milho. Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, **Colloquium Agrariae**, v. 10, n. 2, p. 40-47, Jul-Dez. 2014.

MIRANDA, A.C.F.; JÚNIOR, H.P.; BARBOSA, T.P.; TAVARES, M.C.; MARTINS, R.D.; GOMES, C.C.; CAMPOS, D.A.; LOPES, J.G.O.; ARAÚJO, E.J.R.; ARAÚJO, F.G.2. Produtos biológicos aplicados via tratamentos de sementes no manejo de *Pratylenchus brachyurus* na cultura da soja. **XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia. Anais, palestras e resumos do 35º Congresso Brasileiro de Nematologia**, Bento Gonçalves, RS, Brasília, DF: Embrapa, 2018. 239 p.

OLWE, T.; CORBETT, D.C.M. Aspects of the biology of *Pratylenchus brachyurus* and *P.zaeae*. **Nematologica**, v. 22, Leiden, p. 202-211, 1976.

OOSTENBRINK, M. Major characteristic of relation between nematodes and plants. Mededelingen Landbouwhogeschool, v. 66. 4. Wageningen. p. 1- 46. 1966.

PEREIRA FILHO, I. A.; TEIXEIRA, F. F. (Ed.). **O cultivo do milho-doce.** Embrapa. Brasília, DF. 298 p. 2016.

SANTOS, M.F.; MENDES, M.A.S. AGROFIT. 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Coordenação – Geral de Agrotóxicos e Afins/ DFIA/ DAS.

SCHROTH, M.N.; HANCOCK, J.G. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. **Science**. Jun 25; 216(4553): 1376-81. 1982.

SOARES, M.R.C.; SCHOEN-NETO, G.A.; SORACE, M.; DIAS-ARIEIRA, C.R. Nematicidas biológicos associados à bioestimulantes na reprodução de *pratylenchus zaeae* em cana-de-açúcar. XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia. **Anais, palestras e resumos do 35º Congresso Brasileiro de Nematologia**, Bento Gonçalves, RS, Brasília, DF: Embrapa, 2018. 239 p.

TEIXEIRA, S.J.C.; LIMA, L.S.; OLIVEIRA, C.B.; FERNANDES, W.M. Manejo do nematoide do cisto (*Heterodera glycines*) utilizando diferentes isolados de *Trichoderma* spp. e *Bacillus* spp. Trabalho apresentado no **XXXV Congresso Brasileiro de Nematologia**. Bento Gonçalves, RS. 239 p. 2018.

TIAN, B.Y.; YANG, J.K.; LIAN, L.H.; WANG, C.Y.; ZHANG, K.Q. Role of neutral protease from *Brevibacillus laterosporus* in pathogenesis of nematode. **Microbiology and Biotechnology**. v. 74, p. 372-380. 2007.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. 2ª ed. Jaboticabal: Funep. 473 p. 2000.

TREVISAN, M., LOPES, R.S., SILVA, M.S.G., ESSER, R., JAYME, J.P.C., FERRO, H., FREIRE, E.S. Efeito de *Bacillus amyloliquefaciens* BV03 no controle de *Pratylenchus brachyurus* no cultivo de soja. Trabalho apresentado no 50º Congresso Brasileiro de Fitopatologia. **Anais do 50º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Uberlândia, MG. 2017.

VALICENTE, F.H. Manejo Integrado de Pragas na Cultura do Milho. **Circular técnica 208**, v. 1679-1150, n. 8, p. 1-13, jun. 2015.

5.0 CONCLUSÃO GERAL

O levantamento de fitonematoides na região sul de Goiás indicou *P. brachyurus*, com 100% de dominância de ocorrência, com densidades populacionais consideradas muito altas. A correta identificação e quantificação do nematoide em estudo foi complementada com estudos sobre o controle biológico.

Quanto ao controle biológico de *P. brachyurus*, verifica-se que os isolados *Bacillus* spp. (isolado GF 314), seguido de *Bacillus methilotrophicus* (isolado GF 267) e *Bacillus subtilis* isolado (GF 202) possibilitaram redução da população desse fitonematoide.

APÊNDICES

Apêndice A – Planejamento do ensaio.

LABORATÓRIO FARROUPILHA		Guidance sheet for installation assay		92
Requester	Coordenador	Number of Treatments	8	
Request date	16/03/2017	Number of Repetitions	5	
Installation date	07/09/2017	Nematode used	<i>Pratylenchus brachyurus</i>	
Responsible	Sinara/Silvio	Growing	sweet corn	
Resp. to installation	Sinara/Silvio	Variety	SV00065N	
Inoculation	26/09/2017	Experimental design	DBC	
Goal: Selecting isolates in the management of <i>Pratylenchus brachyurus</i> in sweet corn.				
TREATMENTS	ACCOUNT	PRODUCT/STRAINS	Final Concent. spores or gram per kg of seeds	
T1	600 ESPECIMENS	CONTROL	-	
T2	600 ESPECIMENS	GF 267	1.000.000.000	
T3	600 ESPECIMENS	GF 202	6.000.000.000	
T4	600 ESPECIMENS	GF 435	3.000.000.000	
T5	600 ESPECIMENS	GF 314	3.000.000.000	
T6	600 ESPECIMENS	GF 63	3.000.000.000	
T7	600 ESPECIMENS	GF 427	10.000.000.000	
T8	600 ESPECIMENS	GF 512	3.000.000.000	
-	600 ESPECIMENS	TEST	-	
Planting information		Seed information		
Equipamento de plantio		Germinação da sem.	70%	
Dose	Diferentes			
Name of evaluation	Expected date	Unit	Nº of samples	
NUMBER OF EGGS	60 DAI	GRAM/ HOOT	40	
NUMBER OF JUVENILES	60 DAI	GRAM/HOOT	40	


MATERIALS:

- Foam cups 700cm³.
- Suspension whit 600 especimens of *P. brachyurus*.
- Formulated products of isolates per kg of treated seeds.
- Seeds of sweet corn.


NOTE:

- Inoculation approximately 09/26/2017.
- Evaluation on 11/28/2017.

Apêndice B – Relatório de avaliação microbiológica de pré-tratamento de sementes.

RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO				
MICROBIOLOGIA		LABORATÓRIO FARROUPILHA SOLUÇÕES BIOPOTENTES		
Solicitante: Sinara				
Pesq. Responsável: Sarah				
Data: 31/08/2017				
OBJETIVO: Preparo de suspensão para o Ensaio 92 conforme requisição.				
Produto	Dose (mL/Kg semente)	Concentração inicial (esporos/mL ou g)	Volume ou Peso do Isolado (mL ou g)	Concentração final (esporos/mL)
GF 427	6	7,00E+09	0,477	1,67E+09
GF 512	6	2,92E+10	0,034	4,99E+08
GF 435	6	1,95E+09	0,513	5,00E+08
GF 314	6	5,73E+09	0,175	5,01E+08
OBSERVAÇÕES:				
GF 427 Cocentração Final 1E10/6 = 1,67E9 esporos/mL				
GF 512, 435 e 3141 Cocentração Final 3E9/6 = 5E8 esporos/mL				

Apêndice C – Placas de identificação do ensaio.

 <p>Ensaio 92</p> <p>Responsável: Silvio Carvalho Instalação: 07/09/2017 Avaliação: 28/11/2017</p>	 <p>Ensaio 92</p> <p>Responsável: Silvio Carvalho Instalação: 07/09/2017 Avaliação: 28/11/2017</p>
<p>Teste Germinação em areia</p> <p>Responsável: Silvio Carvalho Instalação: __/__/2017 Avaliação: __/__/2017</p>	<p>Teste Germinação em areia</p> <p>Responsável: Silvio Carvalho Instalação: __/__/2017 Avaliação: __/__/2017</p>

Apêndice D – Monografia de *Bacillus subtilis*.

ÍNDICE MONOGRAFICO	NOME
B44	BACILLUS SUBTILIS

B44 – Bacillus subtilis

Informações comuns a todas as variedades/linhagens/isolados:

a) Ingrediente ativo ou nome comum: *Bacillus subtilis*

b) Sinonímia: -

c) N° CAS: Não disponível

d) Classificação Taxonômica:

- d1. Domínio - Eubactéria
 - d2. Reino - Procarlotae
 - d3. Filo - Firmicutes
 - d4. Classe - Bacilli
 - d5. Ordem - Bacillales
 - d6. Família - Bacillaceae
 - d7. Gênero - Bacillus
 - d8. Grupo de espécies - *Bacillus subtilis*
- Espécie: *Bacillus subtilis* (Ehrenberg, 1835) Cohn, 1872

e) Classe: fungicida/fungistático, bactericida/ bacteriostático e nematocida

f) Uso agrícola: autorizado conforme indicado.

f.1) Alvos biológicos:

A aprovação de alvos biológicos é de competência do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Para informações sobre os alvos biológicos com uso aprovado para este ingrediente ativo, consulte o site do Ministério da agricultura (<http://www.agricultura.gov.br>).

f.2) Modalidade de emprego: autorizado conforme indicação de rótulo e bula.¹

f.3) Limite Máximo de Resíduos: não determinado

f.4) Intervalo de Segurança: não determinado devido à natureza do produto

g) Classificação toxicológica: Não determinada para o Ingrediente Ativo²

h) Isolados avaliados:

1 - *Bacillus subtilis* Linhagem - QST 713** (Identificação: *Bacillus amyloliquefaciens* (ex Fukumoto 1943) Priest et al, 1987 emend. Wang et al 2008, Linhagem QST 713.)

2 - *Bacillus subtilis* Isolado SF 202 A***

3 - *Bacillus subtilis* Cepa DSM 32155 (FMCH002)

i) Tipo de Formulação Autorizada: Suspensão concentrada, Pó para preparação de pasta em água (WS)

* A classificação toxicológica de produtos formulados com microrganismos é determinada em estudos realizados com o produto comercial.

** Identificação taxonômica segundo a tecnologia de uso do rRNA 16S como marcador filogenético. Esta linhagem apresentou 99% de similaridade com as seqüências de rRNA 16S de várias linhagens das espécies *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. licheniformis*.

*** Identificação taxonômica segundo a tecnologia de uso do rRNA 16S como marcador filogenético.

Notas:

¹ Conforme Ato nº 06/2014 da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA/MAPA) este ingrediente ativo poderá ser indicado para uso em qualquer cultura com a ocorrência do alvo biológico.

² A classificação toxicológica de produtos formulados com microrganismos é determinada em estudos realizados com o produto comercial.

³ Identificação taxonômica segundo a tecnologia de uso do rRNA 16S como marcador filogenético. Esta linhagem apresentou 99% de similaridade com as seqüências de rRNA 16S de várias linhagens do grupo de espécies de *B. subtilis*: *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. licheniformis*.

⁴ Identificação taxonômica segundo a tecnologia de uso do rRNA 16S como marcador filogenético.

Resolução RE nº 531 de 09/02/11 (DOU de 11/02/11)
Resolução RE nº 4.840, de 18/12/13 (DOU de 19/12/13)
Resolução RE nº 3.107 de 12/11/15 (DOU de 13/11/15)
Resolução RE nº 161 de 20/01/17 (DOU de 23/01/17)

Apêndice E – Monografia de *Bacillus firmus*.

ÍNDICE MONOGRÁFICO	NOME
B52	BACILLUS FIRMUS

B52 - BACILLUS FIRMUS

Informações comuns a todas as variedades/linhagens/isolados:

a) Ingrediente ativo ou nome comum: *Bacillus firmus*

b) Sinonímia: *Bacillus firmus*

c) N° CAS: Não disponível

d) Classificação taxonômica:

Domínio - Eubactéria
Reino - Procarlotae
Filo - Firmicutes
Classe - Bacilli
Ordem - Bacillales
Família - Bacillaceae
Gênero - Bacillus
Espécie - *Bacillus firmus*

e) Classe agrônômica: Nematicida microbiológico

f) Uso agrícola: autorizado conforme Indicado.

f.1) Alvo biológico*: Nematóide-das-gaihas/ *Meloidogyne incognita*, Nematóide das lesões/ *Pratylenchus brachyurus* e Nematóide-das-gaihas/ *Meloidogyne javanica*

f.2) Modalidade de emprego: Tratamento de sementes e pós-emergente em todas as culturas com ocorrência do alvo biológico.

f.3) Limite Máximo de Resíduos: não determinado

f.4) Intervalo de Segurança:

- Para o tratamento de sementes para uso exclusivo em plantio: não há necessidade de estabelecimento..

g) Classificação toxicológica: Não determinada para o Ingrediente Ativo**

h) Isolados avaliados:

- *Bacillus firmus*, cepa: I-1582

* Demais inclusões de alvos biológicos serão feitas a critério do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sem a necessidade de revisão desta monografia.

** A classificação toxicológica de produtos formulados com microrganismos é determinada em estudos realizados com o produto comercial.

Resolução RE nº 1730, de 30/05/16 (DOU de 04/07/16)

Apêndice F – Monografia de *Bacillus methylotrophicus*.

ÍNDICE MONOGRAFICO	NOME
B50	BACILLUS METHYLOTROPHICUS

B50 - *Bacillus methylotrophicus*

Informações comuns a todas as variedades/linhagens/isolados:

a) Ingrediente ativo ou nome comum: BACILLUS METHYLOTROPHICUS

b) Sinonímia: -

c) N° CAS: Não disponível

d) Classificação taxonômica:

- d.1) Reino - Bacteria
- d.2) Filo - Firmicutes
- d.3) Classe - Bacilli
- d.4) Ordem - Bacillales
- d.5) Família - Bacillaceae
- d.6) Gênero - Bacillus
- d.7) Espécie - *Bacillus methylotrophicus* (Madhayan et al., 2010)

e) Classe agrônômica: Nematicida microbiológico

f) Uso agrícola: autorizado conforme indicado.

f.1) Alvo biológico: * Nematóide das lesões radiculares/ *Pratylenchus brachyurus* e Nematóide-das-galhas/*Meloidogyne javanica*

f.2) Modalidade de emprego: autorizado conforme indicação de rótulo e bula. **

f.3) Limite Máximo de Resíduos: não determinado

f.4) Intervalo de Segurança: Para a aplicação em pós-emergência: 4 horas ou até a secagem da calda. Para o tratamento de sementes para uso exclusivo em plantio: não há necessidade de estabelecimento.

g) Classificação toxicológica: Não determinada. ***

h) Formulações autorizadas:

i) Isolados avaliados:

- i.1) *Bacillus methylotrophicus*, Isolado SF 267

* Demais inclusões de alvos biológicos serão feitas a critério do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sem a necessidade de revisão desta monografia.

** Conforme Ato nº 06/2014 da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA/MAPA) este ingrediente ativo poderá ser indicado para uso em qualquer cultura com a ocorrência do alvo biológico.

*** A classificação toxicológica de produtos formulados com este microrganismo é determinada com base em estudos realizados com o produto comercial.

Resolução RE nº 212 de 22/01/16 (DOU de 25/01/16)

Apêndice G – Monografia de *Bacillus amyloliquefaciens*.

ÍNDICE MONOGRAFICO	NOME
B49	BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS

B49 - *Bacillus amyloliquefaciens*

Informações comuns a todas as variedades/inhagens/isolados:

- a) Ingrediente ativo ou nome comum: *Bacillus amyloliquefaciens*
- b) Sinonímia: *Bacillus amyloliquefaciens*
- c) N° CAS: Não disponível
- d) Classificação taxonômica:
- d.1) Reino - Bacteria
 - d.2) Filo - Firmicutes
 - d.3) Classe - Bacilli
 - d.4) Ordem - Bacillales
 - d.5) Família - Bacillaceae
 - d.6) Gênero - Bacillus
 - d.7) Espécie - *Bacillus amyloliquefaciens* (ex Fukumoto, 1943) Priest et al., 1987 emend. Wang et al., 2008
- e) Classe agrônômica: Nematicida e fungicida microbiológico
- f) Uso agrícola: autorizado conforme Indicado.
- f.1) Alvo biológico: Nematóide das lesões radiculares/*Pratylenchus brachyurus*
 - f.2) Modalidade de emprego: autorizado conforme indicação de rótulo e bula.**
 - f.3) Limite Máximo de Resíduos: não determinado devido a natureza do produto
 - f.4) Intervalo de Segurança: 4 horas ou até a secagem da calda.
- g) Classificação toxicológica: Não determinada.***
- h) Isolados avaliados:
- h.1) *Bacillus amyloliquefaciens* Isolado SIMBI BS 10 (CCT 7600)
 - h.2) *Bacillus amyloliquefaciens* Cepa: D – 747

* Demais inclusões de alvos biológicos serão feitas a critério do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sem a necessidade de revisão desta monografia.

** Conforme Ato nº 06/2014 da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA/MAPA) este ingrediente ativo poderá ser indicado para uso em qualquer cultura com a ocorrência do alvo biológico.

*** A classificação toxicológica de produtos formulados com este microrganismo é determinada com base em estudos realizados com o produto comercial.

Resolução RE nº 218 de 22/01/16 (DOU de 25/01/16)
Resolução RE nº 1746, de 30/05/16 (DOU de 04/07/16)

Apêndice H – Monografia de *Trichoderma koningiopsis*.

INDICE MONOGRAFICO	NOME
T67	TRICHODERMA KONINGIOPSIS

I– *Trichoderma koningiopsis*

Informações comuns a todas as variedades/linhagens/isolados:

a) Ingrediente ativo ou nome comum: *Trichoderma koningiopsis*

b) Sinonímia: -

c) N° CAS: Não disponível

d) Classificação Taxonômica:

d) Classificação taxonômica:

d1. Reino: Fungi

d2. Divisão: Ascomycota

d3. Classe: Sordariomycetes

d4. Ordem: Hypocreales

d5. Família: Hypocreaceae

d6. Gênero: *Trichoderma*

d7. Espécie: *Trichoderma koningiopsis*

e) Classe: nematocida microbiológico.

f) Uso agrícola: Autorizado conforme Indicado.

f.1) Modalidade de emprego: Conforme Ato nº 06/2014 da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA/MAPA) e indicação na bula dos produtos, a indicação pode ser feita por alvo biológico, sendo facultado informar a cultura em que foram realizados estudos.

f.2) LMR: Sem necessidade de determinação de acordo com legislação vigente e estudos apresentados.

f.3) Intervalo de Segurança: Não determinado em função da não necessidade de estipular o LMR para este ingrediente ativo.

g) Classificação toxicológica: Não determinada para o Ingrediente Ativo*

h) Isolados avaliados:

h.1 - *Trichoderma koningiopsis* (Isolado GF 422— IBCB 56/12).

* A classificação toxicológica de produtos formulados com base em micro-organismos é determinada em estudos realizados com o produto comercial.

Resolução RE nº 79 de 11/01/18 (DOU de 15/01/18)

Apêndice I – Ficha de Identificação de área amostrada.



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO -
CÂMPUS MORRINHOS**

**FICHA DE INFORMAÇÕES PARA AUXÍLIO NA IDENTIFICAÇÃO DE NEMATÓIDES
PARASITAS DE PLANTAS**

Amostra nº _____

Material coletado: () solo () raízes () folhas () sementes.

Técnico responsável: _____

Contato:

Fone: (____) _____ e-mail: _____

Local de coleta:

Propriedade: _____ Município: _____ Estado: _____

Nome do Produtor: _____

Coordenadas geográficas: _____

Data da coleta: ___/___/___ Data de chegada: ___/___/___ Data do resultado: ___/___/___

Espécie cultivada: _____ Variedade ou Cultivar: _____

Idade da planta: _____ Área de plantio (ha): _____ Área com problema (ha): _____

Estimativa de perdas devido aos nematóides (%): _____

Culturas anteriores (Últimos 2 anos): _____

Adução química: () Sim () Não

Qual? _____ quando: _____

Produtos químicos utilizados: () Fungicida () Inseticida () Herbicida

Quais? _____

Adução orgânica: () Sim () Não

Qual? _____ quantidade adicionada: _____

Sintomas nas raízes: Galhas: () Sim () Não

Outros sintomas: _____

Sintomas na parte aérea: _____

Outras doenças infectando a cultura: _____

Ocorrência de plantas daninha:

Quais? _____

Rotação ou sucessão de culturas: () Sim () Não

Quais? _____

Costuma deixar a área sem cultivo no período da entre safra: () Sim () Não

Textura do solo: () Arenoso () Areno-argiloso () Argiloso

Temperatura média anual (°C): _____

Ocorrência de chuvas nos últimos 30 dias: () Sim () Não

Área com sistema de irrigação: () Sim () Não

Observações: _____

Apêndice J – Dados estatísticos.

Tabela 1 – 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

p.value Shapiro-Wilk test	0.9321	first value most discrepant	21,0
p.value Bartlett test	0.4352	second value most discrepant	26,0
		third value most discrepant	25,0

Tabela 2 – 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

p.value Shapiro-Wilk test	0.3643	first value most discrepant	6,0
p.value Bartlett test	0.1502	second value most discrepant	34,0
		third value most discrepant	9,0

Tabela 3 – 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

p.value Shapiro-Wilk test	0.0033	first value most discrepant	13,13
p.value Bartlett test	0.1462	second value most discrepant	40,0
		third value most discrepant	21,0