

# Biocontrole no manejo de *Pratylenchus brachyurus* na soja

## Biocontrol in the management of *Pratylenchus brachyurus* in soybean

Ananda Rosa Beserra Santos<sup>1</sup>, Fernandes Antonio de Almeida<sup>2,\*</sup>, Maria Lúcia Tiburtino Leite<sup>1</sup>, Wéverson Lima Fonseca<sup>3</sup>, Francisco de Alcântara Neto<sup>1</sup>, Francisco Fernandes Pereira<sup>1</sup>, Rezanio Martins Carvalho<sup>1</sup>, Artur Franco Barreto<sup>2</sup> e Tarciana Silva dos Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus Professora Cinobelina Elvas, Departamento de Agronomia, 64900-000, Bom Jesus, Piauí, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, Campina Grande, 58.884-00 Paraíba, Brasil

<sup>3</sup>Universidade Federal do Ceará, Departamento de Fitotecnia, 60356-001, Fortaleza, Ceará, Brasil

(\*E-mail: fernandes@ufpi.edu.br)

<https://doi.org/10.19084/rca.17201>

Recebido/received: 2019.02.20

Aceite/accepted: 2019.03.12

### RESUMO

O nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) é considerado um dos principais patógenos da cultura da soja do cerrado brasileiro. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de diferentes espécies de fungos no manejo de *P. brachyurus* na soja. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial ( $4 \times 4 + 2$ ), constituído por quatro espécies de fungos: *Beauveria bassiana*, *Trichoderma harzianum*, *Metarhizium anisopliae* e *Paecilomyces lilacinus*, com quatro formas de aplicação (na semente, no sulco, semente + sulco e cobertura) e duas testemunhas adicionais (água e nematicida), com cinco repetições. Plantas de soja cv. Soy Tech 820 RR foram inoculadas com 50000 ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de *P. brachyurus*. Após 60 dias da aplicação dos tratamentos, foram realizadas avaliações de parasitismo e características agrônômicas na soja. Os fungos empregados no controle, influenciaram positivamente em quase todas as características vegetativas das plantas, promovidas pela redução acentuada do número de juvenis na raiz e no solo e, principalmente, pela diminuição no número de ovos nas raízes. A forma de aplicação não influenciou diretamente a ação dos agentes de biocontrole, e todos os microrganismos se comportaram de maneira protetora, inviabilizando ou retardando o parasitismo dos nematoides sobre as raízes das plantas.

**Palavras-chave:** Controle biológico; *Glycine max* L.; fungos antagonistas; nematoides das lesões radiculares.

### ABSTRACT

The root-lesion-nematode, *Pratylenchus brachyurus*, is considered one of the main pathogens of soybean crop in the Brazilian Cerrado. The objective of this work was to evaluate the potential of different fungi species in the management of *P. brachyurus* in soybean. A completely randomized design, in a factorial scheme ( $4 \times 4 + 2$ ), consisting of four species of fungi: *Beauveria bassiana*, *Trichoderma harzianum*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces lilacinus*, with four forms of application (in seed, furrow, seed + furrow and cover) and two additional controls (water and nematicide), with five replicates was used. Soybean plants cv. Soy Tech 820 RR were inoculated with 50000 eggs and second stage juveniles (J2) of *P. brachyurus*. After 60 days of application of the treatments, parasitism and agronomic evaluations were performed on soybean. The fungi used in the control, influenced positively in almost all the vegetative characteristics of the plants, promoted by the marked reduction of the number of juveniles in the root and in the soil and, mainly, by the decrease in the number of eggs in the roots. The forms of application did not directly influence the action of the biocontrol agents and all microorganisms behaved in a protective way, making it impossible or slowing the nematodes parasitism on the roots of the plants.

**Keywords:** Biological control; *Glycine max* L.; antagonistic fungi; root-lesion nematodes.

## INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a cultura mais explorada em todos os segmentos da atividade agrícola no Brasil, correspondendo a 48% de toda área cultivada no país (CONAB, 2016).

Nas últimas décadas, intensificou-se a preocupação com os riscos fitossanitários que limitam a produtividade da cultura, dentre os quais sobressaem os nematoides fitoparasitas. Nas espécies de maior agressividade, destaca-se *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & S. Stekhoven, a qual pode ocasionar perdas na ordem de 21% da produção (Antonio *et al.*, 2012). Essa agressividade é potenciada pelo facto de ser uma espécie muito polífaga (Dias-Arieira *et al.*, 2009) e com ação destrutiva do sistema radicular, afetando diretamente o metabolismo das plantas (Seleme *et al.*, 2012).

Pela facilidade de adaptação e disseminação nas mais diversas culturas de expressão agrônômica, é crescente a busca por alternativas de controle dos nematoides fitoparasitas em áreas de produção comercial. O controle químico sempre sobressaiu, principalmente por proporcionar resultados rápidos e eficientes (Oliveira *et al.*, 2005). Porém, alguns problemas como a alta toxicidade, risco de contaminação ambiental, elevado custo, ou baixa eficácia de controle depois de repetidas aplicações (Dong e Hang, 2006), têm levado à procura de novas opções de controle dos nematoides na cultura da soja.

Na tentativa de amenizar os efeitos negativos sobre o ambiente, promovido pelos produtos químicos, o controle biológico tem-se mostrado como uma alternativa viável em diferentes práticas agrícolas (Ferraz *et al.*, 2010). A componente biológica do ecossistema do solo é particularmente importante ao limitar ou estabilizar as populações dos nematoides através de mecanismos de competição, parasitismo e produção de compostos tóxicos

(Lopes *et al.*, 2007), sendo estes mediados por reações bioquímicas existentes entre os organismos (Pimentel *et al.*, 2009).

Em alguns estudos já realizados foram obtidos resultados promissores sobre diferentes espécies de nematoides. Freitas *et al.* (2005) observaram redução no número de galhas por plantas afetadas por *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood e *M. incognita* (Kofold & White) Chitwood após a aplicação de *Bacillus subtilis* (Ehrenberg 1835) Cohn. Sikora e Padgham (2007) também destacam a redução de 40% na penetração e formação de galhas de *M. graminicola* Golden & Birchfield com inoculações de *B. megaterium* de Bary na cultura do arroz. Atkins *et al.* (2003) ressaltam que os fungos *Pochonia chlamydosporia* (Goddard) Zare & W. Gams e *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson são excelentes parasitas de ovos dos principais nematoides fitoparasitas.

Desta forma, com o presente estudo pretendeu-se avaliar o efeito de diferentes espécies de fungos e formas de aplicação no controle de *P. brachyurus* na cultura da soja, cv. Soy Tech 820 RR.

## MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido na estufa e no Laboratório de Fitopatologia do Campus Prof<sup>º</sup>. Cinobelina Elvas na Universidade Federal do Piauí, no município de Bom Jesus, Estado do Piauí, no período de junho a dezembro de 2014. O solo utilizado foi coletado a 0,20 m de profundidade e a análise química do solo revelou as características descritas no Quadro 1.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (4 x 4 + 2), constituído por quatro espécies de fungos, *Beauveria bassiana* IBCB 66 (1 x 10<sup>9</sup> UFC g<sup>-1</sup>), *Trichoderma*

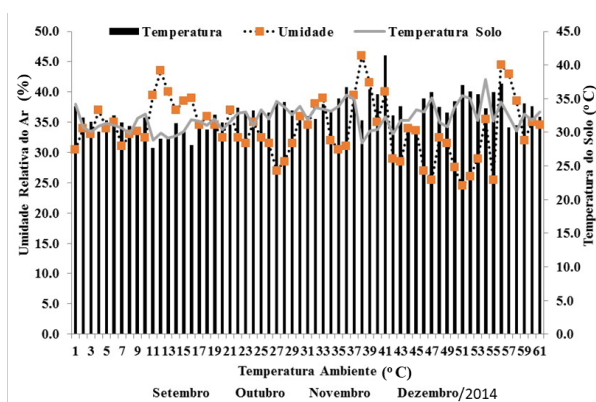
**Quadro 1** - Caracterização química do solo usado nos ensaios

pH	P	K	S	H+Al	Al	Ca	Mg	K	SB	T	m	V	MO
H <sub>2</sub> O	-- mg dm <sup>-3</sup> --			-----		cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> -----					----- % ---		g/kg
6,2	108,0	88,0	-	1,4	0,0	2,6	1,3	0,23	4,13	5,53	0,00	74,68	-

pH em água; P=fósforo; S=enxofre; H + Al=hidrogênio + alumínio; Al=alumínio; Ca=cálcio; Mg=magnésio; K=potássio; SB=Soma de Bases Trocáveis; T=CTC efetiva; m=Índice de Saturação de Alumínio; V=Índice de Saturação de Bases; e MO=Matéria Orgânica. Fonte: SOLOCRIA Laboratório Agropecuário Ltda.

*harzianum* IBLF006 ( $1 \times 10^{10}$  UFC  $g^{-1}$ ), *Metarhizium anisopliae* IBCB 425 ( $8 \times 10^9$  UFC  $g^{-1}$ ) e *Paecilomyces lilacinus* Pae 10 ( $7,5 \times 10^9$  UFC  $g^{-1}$ ), com quatro formas de aplicação, na semente, no sulco, semente + sulco e cobertura, e duas testemunhas água e nematocida, com cinco repetições. O inóculo fúngico foi cedido pela Empresa Ballagro Agro Tecnologia Ltda, no âmbito de um acordo de cooperação para fins de pesquisa.

Durante a realização do ensaio no interior do ambiente protegido foram verificadas as temperaturas do solo e do ar, com um termômetro digital e a umidade relativa do ar, com um higrômetro digital modelo HT-208, em duas alturas do dia (09:00 e 15:00 h) por um período de sessenta dias (Figura 1).



**Figura 1** - Temperatura média do ambiente, umidade relativa do ar e temperatura do solo na estufa durante o período de ensaio para o controle biológico de nematoides das lesões (*Pratylenchus brachyurus*) na soja.

### Obtenção e preparação do inóculo

O inóculo foi obtido a partir de uma população de *Pratylenchus brachyurus* num campo de soja, no município de Bom Jesus-PI. A extração dos nematoides da raiz ocorreu por maceração e centrifugação em solução de sacarose com caulino, conforme método descrito por Coolen e D'Herde (1972). Logo após, os nematoides foram isolados e inoculados em plantas de milho híbrido Pioneer 30F53 cultivados em vasos e mantidos em estufa durante 60 dias para multiplicação. A identificação prévia da espécie, efetuou-se através da utilizou-se de lâminas temporárias (formalina) e/ou permanentes

(glicerina), examinadas em microscópio de luz, confrontando-se as características morfológicas (formato de estruturas) e morfométricas (dimensões de estruturas e relações corpóreas lineares) com a utilização de chaves taxonômicas específicas para o gênero (Handoo & Golden, 1989).

### Plantação e infestação com *Pratylenchus brachyurus*

Foram semeadas cinco sementes do milho híbrido Pioneer 30F53, em vasos de polietileno de 4  $dm^{-3}$ , contendo solo-areia-esterco na proporção 3:2:1, respectivamente, esterilizados previamente em autoclave vertical, a uma temperatura de 120  $^{\circ}C$  e pressão de 1,05  $kg.cm^{-2}$  por um período de duas horas. Em seguida realizou-se a adubação conforme a análise de solo.

Aos 10 dias após a emergência, efetuou-se o desbaste deixando apenas uma planta, ocasião em que foi realizada a inoculação com uma suspensão adicionando 5000 ovos do nematoide por planta. Após 60 dias de inoculação, descartou-se a parte aérea das plantas de milho, permanecendo apenas o sistema radicular no solo, simulando assim uma condição natural de campo com alta infestação de nematoides.

### Aplicação dos tratamentos

Os tratamentos usados no biocontrole de *P. brachyurus*, foram efetuados com a soja, cv Soy Tech 820 RR, considerada suscetível, utilizando os mesmos vasos e solo da sementeira anterior com milho, já que essa cultivar, apresenta alto fator de reprodução para a espécie de nematoide em estudo. As sementes de soja foram inoculadas utilizando inoculante Vitaiz<sup>®</sup> com bactéria (*Bradyrhizobium japonicum*), na proporção de 1 mL para 500g de semente, dispostas em saco plástico, agitados por 1 minuto para homogeneização. Posteriormente, foram aplicados os tratamentos biológicos para biocontrole dos nematoides.

### Tratamento na semente

As doses preestabelecidas foram calculadas para um volume de 400 sementes, conforme

recomendação do fabricante e adaptação para a necessidade do ensaio: *Beauveria bassiana* com 8,0 g.kg<sup>-1</sup>; *Metarhizium anisopliae* com 4,0 g.kg<sup>-1</sup>; *Paecilomyces lilacinus* com 4,0 g.kg<sup>-1</sup> e *Trichoderma harzianum* com 2,0 g.kg<sup>-1</sup> do produto comercial para cada kg de semente de soja.

#### Tratamento no sulco

Antes da sementeira, o solo dos vasos foi umedecido e revolvido, para facilitar a penetração dos agentes biológicos nas camadas mais profundas, seguido da aplicação dos inóculos diluídos em água destilada. Para tal, utilizou-se a mesma recomendação do fabricante com as quantidades estipuladas por hectare: *B. bassiana* com 200 g.ha<sup>-1</sup>; *M. anisopliae* com 50 g.ha<sup>-1</sup>; *P. lilacinus* com 50 g.ha<sup>-1</sup> e *T. harzianum* com 10 g.ha<sup>-1</sup> do produto comercial.

#### Tratamento na semente e no sulco

Foram utilizadas em simultâneo as duas metodologias acima descritas, com a metade de cada dose cada de forma a obter a mesma dosagem no final.

#### Tratamento em pós-emergência

Dez dias após a emergência das plantas, utilizou-se a mesma dose por hectare de cada um dos inóculos fúngicos, diluídos em água destilada e aplicados na base do colo das plântulas com o auxílio de diferentes pulverizadores manuais, com um volume de 3 mL da solução por planta.

#### Tratamentos testemunha (nematicida e água)

A aplicação deste tratamento seguiu a orientação do fabricante, utilizando 1,25 mL de Avicta® 500 FS (abamectina), para cada kg de semente, sendo as sementes acondicionadas em saco plástico e agitadas quanto em contato com o produto químico e, semeadas posteriormente. Para o tratamento à base de água, foi adicionada somente água nos vasos.

Depois de aplicados aos tratamentos as plantas receberam a dotação de rega e as práticas culturais de acordo com as recomendações técnicas para a cultura e as necessidades das plantas.

#### *Variáveis analisadas*

Aos 60 dias após a aplicação dos tratamentos, avaliaram-se os seguintes parâmetros agrônômicos: altura da planta e diâmetro do colo da planta, massa seca da parte aérea, massa fresca do sistema radicular, comprimento radicular total e volume de raiz; e características do parasitismo dos nematoides: número de espécimes no solo, extraídos em 100 cm<sup>3</sup> de solo por centrifugação e flotação (Jenkins, 1964), número de nematoides nas raízes e número de ovos (Coolen e D'Herde, 1972).

Os dados foram submetidos à análise de variância no programa estatístico Assistat para diagnóstico de efeitos significativos entre as espécies de fungos e diferentes formas de aplicação pelo teste "F", e as médias dos parâmetros significativos comparadas pelo Teste Scott-Knott a 5% de probabilidade.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O efeito nematicida e/ou nematostático de cada uma das espécies de fungo e as formas de aplicação empregues no controle dos nematoides das lesões radiculares são apresentadas no Quadro 2. Para as características avaliadas não se observou efeito na interação entre tratamentos e formas de aplicação. Para o modo de aplicação, com exceção da altura de plantas (AP), as demais variáveis não confirmaram nenhuma interferência. Ao mesmo tempo, todos os tratamentos com os agentes de biocontrole demonstraram efeito significativo.

Para a variável altura da planta, os fungos, assim como o nematicida tiveram influência significativa ( $P < 0,05$ ), sendo superior à testemunha (água).

Para o modo de aplicação, o maior efeito foi com a aplicação em cobertura com média de 82,90 cm, diferindo dos demais. No entanto, para as variáveis massa seca da parte aérea e diâmetro do colo, não houve influência positiva de nenhum dos fatores empregues no crescimento vegetativo, conforme mostra o Quadro 3.

Os valores mais elevados entre os tratamentos foram observados com o nematicida aplicado às sementes, embora não diferindo dos tratamentos com agentes microbianos na altura de planta. Bessi

**Quadro 2** - Resumo da análise de variância para as características agronômicas: altura da planta (AP), peso seco da parte aérea (MSPA), diâmetro do colo (DC), comprimento da raiz (CR), volume da raiz (VR), peso fresco da raiz (MFR) e do parasitismo: juvenis na raiz (JR), juvenis no solo (JS) e número de ovos na raiz (OR)

Fonte/ variação	AP	MSPA	DC	CR	VR	MFR
Biocontrole (T)	1832,17*	19,29**	7,20*	3337,33**	691,29**	143,17*
Formas/ Aplicações (FA)	2491,23*	0,22 <sup>ns</sup>	0,86 <sup>ns</sup>	12,67 <sup>ns</sup>	100,76 <sup>ns</sup>	1,53 <sup>ns</sup>
T x FA	365,18 <sup>ns</sup>	0,80 <sup>ns</sup>	0,86 <sup>ns</sup>	69,21 <sup>ns</sup>	34,59 <sup>ns</sup>	7,86 <sup>ns</sup>
Fonte/ variação	-	JR	JS	OR	-	-
Biocontrole		1423485,20**	711163,20**	436978,20**		
Aplicações	-	41087,98 <sup>ns</sup>	23862,43 <sup>ns</sup>	3045,76 <sup>ns</sup>	-	-
T x FA		41540,98 <sup>ns</sup>	26240,09 <sup>ns</sup>	5816,43 <sup>ns</sup>		

\*\* Significativo a 1%; \* significativo a 5% e <sup>ns</sup> não significativo.

**Quadro 3** - Altura das plantas, peso seco da parte aérea e diâmetro do colo de soja em função do uso de nematicida (nem) aplicado às sementes e de fungos nematopatogênicos em 4 formas de aplicação para controle de *Pratylenchus brachyurus*; testemunha=água

Tratamentos	Formas de aplicação				
	Semente	Semente + Sulco	Sulco	Cobertura	MG*
<u>Altura de planta (cm)</u>					
Água	52,00	52,00	52,00	52,00	52,00 b
abamectina (nem)	79,00	79,00	79,00	79,00	79,00 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	77,6	56,6	71,8	82,4	72,10 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	73,4	55,0	73,4	93,6	73,85 a
<i>Beauveria bassiana</i>	62,6	65,4	77,2	98,6	75,95 a
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	62,6	58,6	68,0	91,8	70,25 a
MG*	67,86 B	61,10 B	70,23 B	82,90 A	
CV(%)	9,09				
<u>Peso seco da parte aérea (g)</u>					
Água	3,62	3,62	3,62	3,62	3,62 b
abamectina (nem)	6,25	6,25	6,25	6,25	6,25 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	4,4	3,95	3,63	4,4	4,09 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	3,99	3,93	3,86	3,54	3,83 b
<i>Beauveria bassiana</i>	3,57	3,96	3,77	4,02	3,83 b
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	3,95	3,28	5,1	3,62	3,99 b
MG*	4,30 A	4,16 A	4,37 A	4,24 A	
CV(%)	25,43				
<u>Diâmetro do colo (cm)</u>					
Água	6,65	6,65	6,65	6,65	6,65 a
abamectina (nem)	6,46	6,46	6,46	6,46	6,46 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	5,72	5,14	4,87	5,22	5,24 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	5,38	4,77	5,97	4,88	5,25 b
<i>Beauveria bassiana</i>	5,70	5,86	6,04	5,76	5,84 b
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	6,54	5,99	4,96	5,02	5,63 b
MG*	6,08 A	5,81 A	5,82 A	5,67 A	
CV(%)	26,48				

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. MG\* - média geral.

et al. (2010), salientam que a ação do nematicida, por não ser de natureza sistêmica na planta, ocorre diretamente sobre os nematoides presentes no solo, promovendo a redução acentuada dos níveis

populacionais do parasita no local de sementeira, o que garante um maior desenvolvimento vegetativo das plantas.

Quando ao volume de raiz, observa-se que apenas os tratamentos com *M. anisopliae* e o nematicida garantiram um ganho na ordem de 122,72 e 48,10% respectivamente, independentemente da forma de aplicação (Quadro 4).

Cabrera *et al.* (2009) destacaram que entre as principais formas de aplicação, o tratamento via semente é a técnica mais atrativa para os produtores pelo custo relativamente baixo comparado com outras formas de controle. Ao mesmo tempo, Kerry e Bourne (2002) relataram que a aplicação de agentes de biocontrole no tratamento de semente só induzirá uma resposta favorável por parte das plantas, quando houver capacidade do isolado (fungo) em interagir com o hospedeiro.

Para a variável comprimento da raiz, observa-se que houve aumento significativo com a aplicação de todos os fungos, *M. anisopliae* (45,03%), *T. harzianum* (33,43%), *B. bassiana* (42,51%) e *P. lilacinus* (40,32%), com um ganho substancial no sistema radicular, havendo, porém, um destaque para o nematicida, com um aumento de 127,35% comparado com a testemunha (água). Em relação às formas de aplicação, não se observou nenhuma influência entre as variáveis avaliadas (Quadro 4). Carneiro e Gomes (1993), destacam que os agentes de biocontrole podem inviabilizar a ação de parasitismo dos nematoides fitoparasitas através de diferentes toxinas, atuando também sobre os ovos de várias espécies de nematoides. Contudo, Novaretti e Reis (2009) destacam que o modo de aplicação dos agentes biológicos é pouco estudado

**Quadro 4** - Volume de raiz, comprimento de raiz e peso fresco de raiz de soja em função do uso de nematicida (nem) aplicado às sementes e de fungos nematopatogênicos em 4 formas de aplicação para controle de *Pratylenchus brachyurus*; testemunha=água

Tratamentos	Formas de aplicação				MG*
	Semente	Semente + Sulco	Sulco	Cobertura	
<u>Volume da raiz (cm<sup>3</sup>)</u>					
Água	13,2	13,2	13,2	13,2	13,20 c
abamectina (nem)	29,4	29,4	29,4	29,4	29,40 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	26,0	21,0	11,6	19,6	19,55 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	18,4	15,4	15,0	16,6	16,35 c
<i>Beauveria bassiana</i>	20,4	13,4	13,0	13,8	15,15 c
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	16,4	12,4	15,6	17,2	15,40 c
MG*	20,63 A	17,46 A	16,30 A	18,30 A	
CV(%)			12,4		
<u>Comprimento da raiz (cm)</u>					
Água	30,60	30,60	30,60	30,60	30,60 c
abamectina (nem)	69,57	69,57	69,57	69,57	69,57 a
<i>Metarhizium anisopliae</i>	46,30	46,40	36,64	48,20	44,38 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	40,92	44,80	40,00	37,60	40,83 b
<i>Beauveria bassiana</i>	43,60	42,10	39,86	48,90	43,61 b
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	41,52	41,25	49,60	39,40	42,94 b
MG*	45,41 A	45,78 A	44,37 A	45,71 A	
CV(%)			26,46		
<u>Peso fresco da raiz (g)</u>					
Água	4,73	4,73	4,73	4,73	4,73 c
abamectina (nem)	7,64	7,64	7,64	7,64	7,64 b
<i>Metarhizium anisopliae</i>	10,89	8,76	10,24	10,36	10,06 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	10,32	10,97	11,83	11,09	11,05 a
<i>Beauveria bassiana</i>	13,85	14,27	10,21	10,05	12,09 a
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	10,11	8,32	11,39	10,82	10,16 a
MG*	9,59 A	9,12 A	9,34 A	9,11 A	
CV(%)			29,37		

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. MG\* - média geral.

para o controle de nematoides na cultura da soja, pelo alto custo de aplicação que advém do tamanho das áreas de plantação.

Os agentes de biocontrole tiveram grande influência na acumulação de peso fresco da raiz (Quadro 4), com ganhos superiores à testemunhas (água) e menores relativamente ao nematicida. Os tratamentos com *M. anisopliae* (112,68%), *T. harzianum* (133,61%), *B. bassiana* (155,60%) e *P. lilacinus* (114,79%), induziram ganhos expressivos as raízes, acompanhados pela redução do número de nematoides aí observados nos tratamentos com cada uma das espécies de fungos (Quadro 4).

Relativamente à presença na raiz de formas juvenis do nematoide, o nematicida demonstrou maior

redução (88,83%), diferindo estatisticamente dos demais. Nunes *et al.* (2010) observaram resultados promissores no controle de *Meloidogyne* na soja com pesticidas quando comparados com os agentes microbianos. Porém, é crescente a redução do uso de produtos químicos em diversas culturas, devido à alta toxicidade e baixa eficiência após aplicações sucessivas (Dong e Zhang, 2006).

Os fungos usados para biocontrole tiveram uma acentuada ação de proteção em relação aos nematoides na raiz: *M. anisopliae* (61,60%), *T. harzianum* (69,30%), *B. bassiana* (51,23%) e *P. lilacinus* (56,30%), induziram redução no número de juvenis comparado com as médias observadas na testemunha (água) (Quadro 5).

**Quadro 5** - Número de nemátodes juvenis na raiz e no solo e número de ovos na raiz de soja em função do uso de nematicida (nem) aplicado às sementes e de fungos nematopatogênicos em 4 formas de aplicação para controle de *Pratylenchus brachyurus*; testemunha=água

Tratamentos	Formas de aplicação				
	Semente	Semente + Sulco	Sulco	Cobertura	MG*
<u>Número de juvenis na raiz</u>					
Água	896	896	896	896	896,00 a
abamectina (nema)	100	100	100	100	100,00 c
<i>Metarhizium anisopliae</i>	400	360	305	312	344,25 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	300	288	300	212	275,00 b
<i>Beauveria bassiana</i>	480	280	676	312	437,00 b
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	536	370	260	400	391,50 b
MG*	452,00 A	382,33 A	422,83 A	372,00 A	
CV(%)	29				
<u>Número de juvenis no solo</u>					
Água	594	594	594	594	594,00 a
abamectina (nem)	32	32	32	32	32,00 c
<i>Metarhizium anisopliae</i>	135	320	128	128	177,75 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	290	92	130	190	175,50 b
<i>Beauveria bassiana</i>	246	192	128	328	223,50 b
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	396	226	268	204	273,50 b
MG*	282,16 A	242,66 A	213,33 A	246,00 A	
CV(%)	32,15				
<u>Número de ovos na raiz</u>					
Água	436	436	436	436	436,00 a
abamectina (nem)	24	24	24	24	24,00 b
<i>Metarhizium anisopliae</i>	60	96	150	76	95,50 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	125	88	56	120	97,25 b
<i>Beauveria bassiana</i>	96	68	96	56	79,00 b
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	64	190	132	72	114,50 b
Média Geral	134,16 A	150,33 A	149,00 A	130,66 A	
CV(%)	34,88				

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados promissores no controle de nematoides com a utilização de agentes microbianos já foram observados em outros trabalhos para as mais distintas espécies de nematoides. Rossi *et al.* (2006) observaram redução da população de nematoides em cana-de-açúcar num ensaio de campo com *M. anisopliae* no sulco de plantação. Cardozo e Araújo (2011) avaliaram *Bacillus subtilis* no manejo de nematoides de galhas radiculares em cana-de-açúcar e constataram que, além de reduzir significativamente o parasitismo, a bactéria promoveu o crescimento das plantas com ganho de produção.

Mesmo com a aplicação crescente de microrganismos nos últimos anos para controle de diversas doenças das plantas, ainda são poucas as informações sobre o verdadeiro mecanismo de ação desses agentes biológicos (Sahebani e Hadavi, 2008). Estes autores destacaram que o mecanismo mais provável está intimamente ligado à produção de enzimas extracelulares, viabilizando a ação de biocontrole sobre o parasita ou, até mesmo, promovendo a indução de resistência direta na cultura por acelerar a produção de metabolitos secundários.

No Quadro 5, observa-se que todos os tratamentos reduziram a população de nematoides no solo e o número de ovos na raiz. Para o nematicida químico homologado para a cultura da soja, a redução do número de nematoides no solo foi significativamente superior em relação aos demais tratamentos. Já para o número de ovos na raiz, a redução promovida pelos tratamentos com os agentes biológicos foi estatisticamente igual ao nematicida, o que demonstra a viabilidade desses produtos de biocontrole pelo seu efeito direto sobre os nematoides e de redução na eclosão e motilidade de juvenis. De acordo com Santin (2008), *Trichoderma* sp. tem capacidade quitinolítica, o mesmo mecanismo exibido por *P. lilacinus* para o parasitismo de ovos em diferentes espécies de nematoides. Esses resultados corroboraram os de Machado *et al.* (2011) afirmando a eficiência parasitária de *P. lilacinus*.

Nas últimas décadas, o avanço na descoberta de moléculas com princípios ativos efetivos contra as doenças das plantas produzidos por agentes patogênicos ou fitoparasitas vem permitindo a combinação entre produtos biológicos e sintéticos e, dessa forma, a reduzir os impactos no ambiente. Higaki (2012), empregando conjuntamente o controle químico e biológico em genótipo de algodoeiro no controle de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira e *P. brachyurus*, alcançou resultados satisfatórios com redução do parasitismo e aumento no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da cultura.

De um modo geral, a recomendação de controle biológico para nematoides fitoparasitas, merece cautela uma vez que os microrganismos empregados como antagonistas podem sofrer influência diversas do ambiente, a exemplo da temperatura do solo, pH, umidade e a presença de resíduos químicos, que podem inviabilizar os efeitos potenciais do controle biológico.

## CONCLUSÕES

As espécies de fungos em estudo tiveram ação direta sobre as características agrônomicas das plantas de soja, em função da proteção ao sistema radicular ao parasitismo dos nematoides.

Todos os microrganismos se comportaram de maneira protetora inviabilizando ou retardando o parasitismo dos nematoides sobre as raízes das plantas.

Quanto ao modo de aplicação dos tratamentos, não se observou grandes influências diretas sobre os resultados alcançados, com exceção no crescimento total das plantas no tratamento em pós-emergência.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antonio, S.F.; Mendes, F.L.; Franchini, J.C.; Debiassi, H.; Dias, W.P.; Ramos-J.R., E.U.; Goulart, A.M.C. & Silva, J.F.V. (2012) – Perdas de produtividade da soja em área infestada por nematoide das lesões radiculares em Vera, MT. *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA*, 6, 2012, Cuiabá. Anais. Cuiabá: EMBRAPA: Soja, p. 1-4.
- Atkins, S.D.; Hidalgo-Diaz, L.; Kalisz, H.; Mauchline, T.H.; Kirsch, P.R.; & Herry, B.R. (2003) – Development of a new management strategy for the control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in organic vegetable production. *Pest Management Science*, vol. 59, n. 2, p. 183-189. <https://doi.org/10.1002/ps.603>
- Bessi, R.; Sujimoto, F.R. & Inomoto, M.M. (2010) – Seeds treatments affects *Meloidogyne incognita* penetration, colonization and reproduction on cotton. *Ciência Rural*, vol. 40, n. 6, p. 1428-1430. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010000600030>
- Cabrera, J.A.; Kiewnick, S.; Grimm, C.; Dabatat, A.A. & Sikora, R.A. (2009) – Efficacy of abamectin seed treatment on *Pratylenchus zaei*, *Meloidogyne incognita* and *Heterodera schaahtii*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, vol. 3, n. 6, p. 124-128.
- Cardozo, R.B. & Araújo, F.F. (2011) – Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose, em cana-de-açúcar. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, vol. 15, n. 12, p. 1283-1288. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662011001200010>
- Carneiro, R.M.D.G. & Gomes, C.B. (1993) – Metodologia e testes de patogenicidade de *Paecilomyces lilacinus* e *P. fumosoroseus* em ovos de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, vol. 17, n. 2, p. 66-75.
- CONAB (2016) – *Avaliação da Safra Agrícola 2014/2015*. Brasília, DF: Companhia Nacional de Abastecimento.
- Coolen, W.A. & D'herde, C.J. (1972) – *A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue*. Ghent, Belgium: State of Nematology and Entomology Research Station. 77p.
- Dias-Arieira, C.R.; Ilamar Ferraz, S. & Ribeiro, R.C.F. (2009) – Reação de gramíneas forrageiras a *Pratylenchus brachyurus*. *Nematologia Brasileira*, vol. 33, n. 1, p. 90-93.
- Dong, L.Q. & Zhang, K.Q. (2006) – Microbial control of plant parasitic nematodes: a five-party interaction. *Plant and Soil*, vol. 288, n. 1-2, p. 31-45. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-006-9009-3>
- Ferraz, S.; Dias, C.R. & Freitas, L.G. (2010) – Controle de nematoides com práticas culturais. *In: Zambolim, L. (Ed.) – Manejo Integrado-Fitossanidade: Cultivo protegido, pivô central e plantio direto*. Viçosa: Editora UFV, 52 p.
- Freitas, L.G.; Neves, W.S.; Fabry, C.F.S.; Marra, B.M.; Coutinho, M.M.; Romeiro, R.S. & Ferraz, S. (2005) – Isolamento e seleção de rizobactérias para o controle de nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.) na cultura do tomateiro. *Nematologia Brasileira*, vol. 29, p. 2015-220.
- Handoo, Z.A. & Golden, M.A.A. (1989) – Key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev. *Journal of Nematology*, vol. 21, p. 202-218.
- Higaki, W.A. (2012) – *Bacillus subtilis* e abamectina no controle de *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* e alterações fisiológicas em algodoeiro em condições controladas. Dissertação de Mestrado. Presidente Prudente, Universidade do Oeste Paulista. 44 p.
- Jenkins, W.R.A. (1964) – A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, vol. 48, p. 692.
- Kerry, B.R. & Bourne, J.M. (2002) – *A manual for research on Verticillium chlamydosporium, a potential biological control agent for root-knot nematodes*. Gent: International Organization for Biological and Integrated Control for Noxious Animals and Plants, 84 p.
- Lopes, E.A.; Ferraz, S.; Ferreira, P.A.; Freitas, L.G.; Dhingra, O.D.; Gardiano, C.G. & Carvalho, S.L. (2007) – Potencial de isolados de fungos nematófagos no controle de *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira*, vol. 31, n. 2, p. 78-84.
- Machado, J.C.; Vieira, B.S.; Lopes, E.A. & Canedo, E.J. (2011) – *Paecilomyces lilacinus* e esterco bovino para o controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro e alface. *Nematologia Brasileira*, vol. 34, n. 4, p. 231-235.
- Novaretti, W.R.T. & Reis, A.M. (2009) – Influência do método de aplicação de nematicidas no controle de *Pratylenchus zaei* em soqueira de cana-de-açúcar e definição dos níveis de dano e de controle. *Nematologia Brasileira*, vol. 33, n. 1 p. 83-89.

- Nunes, H.T.; Monteiro, A.C. & Pomela, A.W.V. (2010) – Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. *Acta Scientiarum Agronomy*, vol. 32, n. 3, p. 403-409.
- Oliveira, F.S.; Rocha, M.R.; Reis, A.J.S.; Machado, V.O.F. & Soares, R.A.B. (2005) – Efeito de produtos químicos e naturais sobre a população de nematoide *Pratylenchus brachyurus* na cultura da cana-de-açúcar. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, vol. 35, n. 3, p. 171-178.
- Pimentel, M.S.; Peixoto, A.R. & Paz, C.D. (2009) – Potencial de controle biológico de *Meloidogyne* utilizando fungos nematófagos e bactérias em cafeeiros. *Coffee Science*, vol. 4, n. 1, p. 84-92.
- Rossi, C.E.; Almeida, J.E.M.; Lima, C.B.; Ribeiro, L.D. & Petri, J. (2006) – Efeito de inseticidas fitoquímicos e microbianos em nematoides da cana-de-açúcar. *Sociedade dos Técnicos Açucareiros e Alcooleiros do Brasil*, vol. 24, n. 4, p. 34-36.
- Sahebani, N. & Hadavi, N. (2008) – Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology & Biochemistry*, vol. 40, n. 8, p. 2016-2020. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.03.011>
- Santin, R.C.M. (2008) – *Potencial do uso dos fungos Trichoderma spp. e Paecilomyces lilacinus no biocontrole de Meloidogyne incognita em Phaseolus vulgaris*. Tese de Doutorado. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 82 p.
- Seleme, R.B.; Etges, H. & Didoné, D. (2012) – *Manejo de nematoides no milho e na soja*. Comunicado técnico. PIONEER.
- Sikora, R.A. & Padgham, J.L. (2007) – Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. *Crop Protection*, vol. 26, n. 7, p. 971-977. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.09.004>