

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

Manejo integrado de nematoides das galhas em trigo

Cláudia Fernanda Carraro Lemes

Passo Fundo

2021

Cláudia Fernanda Carraro Lemes

Manejo integrado de nematoides das galhas em trigo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Agronomia.

Orientadora:

Dra. Carolina Cardoso Deuner

Coorientadora:

Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado

Passo Fundo

2021

CIP – Catalogação na Publicação

L552m Lemes, Cláudia Fernanda Carraro
Manejo integrado de nematoides das galhas em trigo
[recurso eletrônico] / Cláudia Fernanda Carraro Lemes.
– 2021.
1.3 MB; PDF.

Orientadora: Profa. Dra. Carolina Cardoso Deuner.
Coorientadora: Profa. Dra. Andressa Cristina Zamboni
Machado.
Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de
Passo Fundo, 2021.

1. Trigo - Cultivo. 2. Soja - Cultivo. 3. Nematoides de
plantas - Controle biológico. 4. Rotação de cultivos
agrícolas. 5. Fitopatologia. I. Deuner, Carolina Cardoso,
orientadora. II. Machado, Andressa Cristina Zamboni,
coorientadora. III. Título.

CDU: 633.11

ATA DE DEFESA DE TESE



PPGAgro
Programa de Pós-Graduação
em Agronomia

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a tese

“Manejo integrado de nematoides das galhas em trigo”

Elaborada por

Cláudia Fernanda Carraro Lemes

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
“Doutora em Agronomia – Área de Produção e Proteção de Plantas”

Aprovada em: 5/11/2021
Pela Comissão Examinadora

Dra. Carolina Cardoso Deuner
Presidente da Comissão Examinadora
Orientadora - UPF

Dr. Admilton Gonçalves de Oliveira Junior
Examinador externo - UEL

Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado
Examinadora externa - UPF
Coorientadora

Dr. Alexandre Nienow
Coordenador do PPGAgro

Dra. Fabiana Tonial
Examinador externo - UPF

Dr. Eraldo Lourenso Zanella
Diretor da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária,
Universidade de Passo Fundo

Claudia Regina Dias Arreira
Examinador externo - UEM

DEDICATÓRIA

Dedico à minha família, especialmente à minha mãe Mari Lourdes (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus, meu fiel amigo, por me permitir chegar além do que eu poderia imaginar, alcançando lugares distantes, finalizando jornadas longas e árduas, abrindo diante de mim caminhos que me conduzem à sabedoria e ao conhecimento.

À minha mãe Mari Lourdes (*in memoriam*), quem me ensinou o caminho da persistência, da dedicação, a não me prostrar diante das dificuldades, aprendendo a render Graças a Deus em todas as circunstâncias.

Ao meu sobrinho, Antonio Augusto Ciotta, por ter dado um novo sentido à minha vida. Amo você de maneira incondicional.

Ao meu irmão, Mauricio Antonio Ciotta, pela confiança depositada em mim todos os dias de sua vida e por ser uma pessoa da qual tenho muito orgulho.

Ao meu esposo, Adriano Medeiros Lemes, pelo amor e apoio incondicionais, por suportar longos períodos de ausência e distância e mesmo assim, demonstrar companheirismo e lealdade.

À minha orientadora, professora Dra. Carolina Cardoso Deuner, por aceitar participar deste trabalho e pelos conhecimentos transmitidos.

À minha coorientadora, Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado, por me acolher em seu grupo de pesquisa, pela impecável orientação durante a execução das atividades e por conceder-me o espaço em seu laboratório para realização dos experimentos. Sempre proferindo palavras de conhecimento, aprendizado e de direção, com um coração generoso e muito sábio. Quando eu sentia saudades de casa sua presença me confortava.

Aos funcionários e estagiários do laboratório de Nematologia do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná, IAPAR-EMATER e do laboratório de Fitopatologia da Universidade de Passo Fundo, pela prestatividade, eficiência durante as atividades e apoio para realização dos trabalhos.

Aos professores do PPGAgro, que fizeram parte de minha formação acadêmica.

Aos meus colegas do PPGAgro, pela parceria, pelas experiências compartilhadas e momentos de descontração que tivemos.

Aos meus amigos pelo apoio e pelas orações.

À professora Dra. Gisele Eliane Perissutti e à professora Dra. Elisete Maria de Freitas, que me introduziram ao caminho da pesquisa, oferecendo-me preciosos conselhos que me incentivaram a seguir meu caminho. Obrigada pelo carinho com que lidam com os alunos, pela humildade e generosidade que vocês carregam no coração.

À UPF e ao PPGAgro, pela oportunidade de realizar o curso.

À Capes, por conceder a bolsa de estudos.

“Deus é o nosso refúgio e fortaleza, socorro bem presente na angústia. Portanto não temeremos, ainda que a terra se mude, e ainda que os montes se transportem para o meio dos mares. Ainda que as águas rujam e se perturbem, ainda que os montes se abalem pela sua braveza. Há um rio cujas correntes alegam a cidade de Deus, o santuário das moradas do Altíssimo. Deus está no meio dela; jamais será abalada. Deus a ajudará, já ao romper da manhã” (Salmos 46:1-5).

RESUMO

LEMES, Cláudia Fernanda Carraro. Manejo integrado de nematoides das galhas em trigo. 95 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2021.

O trigo (*Triticum aestivum*) é uma das principais opções de cultivo no sistema de rotação e sucessão de culturas. A deposição da palhada na superfície do solo por esta cultura pode melhorar a qualidade do solo auxiliando no controle de doenças e pragas, como os fitonematoides, desde que os genótipos sejam resistentes aos fitopatógenos. A rotação e sucessão de culturas associada ao controle biológico são importantes estratégias de manejo dos nematoides-das-galhas. Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a reação de genótipos de trigo a *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* e avaliar a ação de nematicidas biológicos no controle de *M. javanica* na cultura do trigo e no sistema de sucessão trigo-soja, em condições de casa de vegetação. Os resultados são apresentados e discutidos separadamente neste documento, em três capítulos. Capítulo 1: Caracterização da reação de genótipos de trigo a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. Para *M. javanica* foram testados 29 tratamentos, dos quais 27 incluíram os genótipos de trigo e dois controles de suscetibilidade ao nematoide, o tomateiro (*Solanum lycopersicum* cv. Santa Clara) e o pepineiro (*Cucumis sativus*) cv. Caipira. Para *M. incognita* foram avaliados 12 tratamentos, sendo 11 genótipos de trigo e um controle de suscetibilidade, o quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*) cv. Santa cruz 47. O genótipo TBIO Sossego apresentou reação de resistência a *M. javanica*. Todos os demais genótipos foram suscetíveis a *M. javanica* e *M. incognita*. Capítulo 2: Ação de nematicidas microbiológicos aplicados via tratamento de sementes de trigo no controle de *Meloidogyne javanica*. Foram testados seis nematicidas microbiológicos em tratamento de sementes do trigo IPR Catuara para supressão populacional de *M. javanica*, a saber: *Bacillus firmus*, *B. subtilis* + *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e *Trichoderma harzianum*. As testemunhas consistiram de plantas de trigo sem tratamento de sementes com e sem inoculação do nematoide. *B. firmus* proporcionou maior penetração de juvenis de segundo estágio nas raízes avaliadas aos dez dias após a inoculação. Ao final do experimento, os princípios ativos que se destacaram quanto à supressão populacional de *M. javanica* foram *T. harzianum* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*. Nas raízes das plantas tratadas com *P. chlamydosporia*, *B. firmus* e *P. lilacinum* houve maior multiplicação do nematoide. Capítulo 3: Ação de nematicidas microbiológicos no controle de *M. javanica* em sistema de sucessão trigo-soja. Foram testados dois nematicidas microbiológicos em tratamento de sementes do trigo IPR Catuara e da soja BMX Bônus IPRO, para supressão populacional de *M. javanica*. Os tratamentos foram *B. firmus* e *P. chlamydosporia* aplicados em tratamento de sementes do genótipo de trigo e de soja, inoculados com o nematoide, e as testemunhas sem tratamento de sementes, com e sem inoculação do nematoide. A soja foi cultivada em sucessão ao trigo, nas mesmas unidades experimentais de acordo com o tratamento de sementes correspondente. O melhor resultado quanto à supressão populacional de *M. javanica* foi observado quando ambas as culturas receberam tratamento à base de *P. chlamydosporia*, o que proporcionou também o desenvolvimento do sistema radicular da soja.

Palavras-chave: 1. *Triticum aestivum*. 2. *Glycine max*. 3. Nematoides-das-galhas. 4. Controle cultural. 5. Controle biológico.

ABSTRACT

LEMES, Cláudia Fernanda Carraro. Integrated management of root knot nematodes in wheat. 95 f. Thesis (Doctor in Agronomy) – University of Passo Fundo, Passo Fundo, 2021.

Wheat (*Triticum aestivum*) is one of the main crop options in the rotation and succession cropping system. The deposition of straw on the soil surface by this crop can improve soil quality by helping to control diseases and pests, such as phytonematoids as long as the genotypes are resistant to phytopathogens. Crop rotation and succession associated with biological control are important strategies for the management of root-knot nematodes. Thus, the objective of this study was to characterize the reaction of wheat genotypes to *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita* and to evaluate the action of biological nematicides in the control of *M. javanica* in wheat crop and in wheat-soybean succession system, under greenhouse conditions. The results are presented and discussed separately in this document, in three chapters. Chapter 1: Characterization of the reaction of wheat genotypes to *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita*. For *M. javanica*, 29 treatments were tested, of which 27 included the wheat genotypes and two controls of nematode susceptibility, tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Santa Clara) and cucumber (*Cucumis sativus* cv. Caipira). For *M. incognita*, 12 treatments were evaluated, among them 11 wheat genotypes and one control of susceptibility, the okra plant (*Abelmoschus esculentus* cv. Santa cruz 47). The genotype TBIO Sossego showed resistance reaction to *M. javanica*. All other genotypes were susceptible to *M. javanica* and *M. incognita*. Chapter 2: Action of microbial nematicides applied via wheat seed treatment in the control of *Meloidogyne javanica*. Six microbiological nematicides were tested in seed treatment of IPR Catuara wheat for population suppression of *M. javanica*: *Bacillus firmus*, *B. subtilis* + *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* and *Trichoderma harzianum*. The control consisted of wheat plants without seed treatment with and without nematode inoculation. *B. firmus* provided greater penetration of second-stage juveniles in the roots evaluated at ten days after inoculation. At the end of the experiment, the active principles that stood out regarding the population suppression of *M. javanica* were *T. harzianum* and *B. subtilis* + *B. licheniformis*. In the roots of plants treated with *P. chlamydosporia*, *B. firmus* and *P. lilacinum*, there was greater multiplication of the nematode. Chapter 3: Action of microbiological nematicides in the control of *M. javanica* in a wheat-soybean succession system. Two microbiological nematicides were tested in seed treatment of wheat IPR Catuara and soybean BMX Bonus IPRO for suppression of *M. javanica* population. The treatments were *B. firmus* and *P. chlamydosporia* applied in seed treatment of wheat and soybean genotypes inoculated with the nematode, and the control without seed treatment, with and without nematode inoculation. The soybean grown in succession to wheat, in the same experimental units according to the corresponding seed treatment. The best result regarding the population suppression of *M. javanica* was observed when both crops received treatment based on *P. chlamydosporia*, which also promoted the development of the soybean root system.

Key words: 1. *Triticum aestivum*. 2. *Glycine max*. 3. Root-knot nematodes. 4. Cultural control. 5. Biological control.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1	<i>A cultura do trigo</i>	17
2.2	<i>A cultura da soja</i>	18
2.3	<i>Nematoides-das-galhas</i>	19
2.4	<i>Controle cultural como estratégia de manejo dos-nematoides-das-galhas</i>	21
2.5	<i>Controle biológico como estratégia de manejo dos nematoides-das-galhas</i>	24
3	CAPÍTULO I	28
3.1	<i>Resumo</i>	28
3.2	<i>Introdução</i>	28
3.3	<i>Material e Métodos</i>	30
3.4	<i>Resultados</i>	33
3.4.1	<i>Reação de genótipos de trigo a <i>M. javanica</i></i>	33
3.4.2	<i>Reação de genótipos de trigo a <i>M. incognita</i></i>	37
3.5	<i>Discussão</i>	38
3.6	<i>Conclusões</i>	43
4	CAPÍTULO II	44
4.1	<i>Resumo</i>	44
4.2	<i>Introdução</i>	44
4.3	<i>Material e Métodos</i>	46
4.4	<i>Resultados</i>	50
4.4.1	<i>Penetração de juvenis de <i>M. javanica</i> nas raízes do trigo IPR Catuara</i>	50
4.4.2	<i>Multiplicação de <i>M. javanica</i> em trigo IPR Catuara sob diferentes tratamentos microbiológicos</i>	50
4.5	<i>Discussão</i>	52
4.6	<i>Conclusões</i>	58
5	CAPÍTULO III	59
5.1	<i>Resumo</i>	59
5.2	<i>Introdução</i>	59
5.3	<i>Material e Métodos</i>	61
5.4	<i>Resultados</i>	65
5.5	<i>Discussão</i>	70

<i>5.6 Conclusões</i>	74
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
7 CONCLUSÃO GERAL	78
REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

Na implantação e condução do Sistema Plantio Direto é indispensável que o esquema de rotação de culturas promova na superfície do solo a deposição de uma quantidade mínima de palhada. A seleção da planta para esta finalidade deve contemplar, a propriedade de produzir elevada quantidade de palhada e apresentar resistência a nematoides, como as espécies pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, especialmente *M. javanica* (Treub) Chitwood e *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood. Estes nematoides estão presentes nos sistemas agrícolas do Brasil e do mundo, causando danos e perdas em diversas culturas. No cenário de produção agrícola nacional, baseado na sucessão soja [*Glycine max* (L.) Merrill] - milho (*Zea mays* L.) ou em algumas regiões, soja-algodão (*Gossypium hirsutum* L.), o cultivo de outras espécies para rotação de culturas é opção para auxiliar no manejo de plantas daninhas, doenças e pragas, entre elas os nematoides. O trigo (*Triticum aestivum* L.) pode fazer parte de sistemas de produção agrícola, especialmente no sul do Brasil, com destaque à sua versatilidade de utilização, podendo ser opção para diversificação de cultivos.

Genótipos de trigo podem reduzir ou elevar a população de nematoides no solo, dependendo da sua reação ao fitopatógeno. A escolha de genótipos suscetíveis favorecerá o aumento da densidade populacional do nematoide, ocasionando danos e perdas na cultura do trigo e na cultura subsequente, geralmente a soja. Isso leva à necessidade de conhecer não somente a reação dos genótipos aos nematoides antes de selecioná-los para cultivo, mas também o nível de danos ocasionados por esses patógenos às culturas.

Na descrição de trigo para proteção de cultivares, os obtentores não têm a obrigatoriedade de informar sobre a reação dos genótipos aos nematoides-das-galhas. Muitas vezes, os resultados encontrados na literatura para essas culturas revelam-se divergentes, o que é atribuído em grande parte à falta de padronização nos métodos empregados na avaliação da reação dos genótipos aos nematoides. A maioria das

informações contidas na literatura sobre a reação de espécies de plantas, como o trigo, a nematoide, é obtida, por exemplo, com base em estudos realizados com densidades elevadas de inóculo, que não garantem avaliação adequada da reação de resistência/suscetibilidade dos genótipos.

Além do uso de cultivares resistentes, o manejo dos fitonematoides pode ser realizado por meio do controle químico sintético e do controle cultural, com o cultivo de plantas não hospedeiras ou antagonistas. Estes métodos de controle apresentam limitações e variações quanto ao seu desempenho. Por isso, o controle biológico utilizando-se nematicidas que possuem como princípio ativo fungos e rizobactérias, torna-se uma importante estratégia de manejo pela sua eficiência e fácil aplicabilidade. Os agentes de biocontrole contribuem, inclusive, para o incremento da matéria orgânica presente no solo, melhorando sua fertilidade e auxiliando na nutrição e no desenvolvimento das plantas. Entretanto são necessários estudos para verificação da eficácia de determinados bionematicidas aplicados via tratamento de sementes de trigo para o manejo de nematoides em sistemas agrícolas.

Assim, visando a utilização de genótipos de trigo em sistemas de rotação/sucessão de culturas para o manejo de *M. javanica* deve-se considerar a reação dos genótipos ao nematoide, evitando-se danos e perdas nesta cultura e na cultura subsequente. Outra importante investigação a ser realizada é sobre a performance de nematicidas biológicos aplicados ao tratamento de sementes na cultura do trigo e no sistema de sucessão trigo-soja, para o controle de *M. javanica*. A supressão populacional do nematoide causada pelos agentes de biocontrole no trigo e na cultura seguinte, visa evitar os danos e perdas nestas culturas. No entanto, a interação entre os agentes de biocontrole, o trigo e a soja deve ser melhor investigada para que sejam apontados os mais eficientes. Com isso, surge a questão: como é a interação entre os genótipos de trigo, o nematoide-das-galhas e os bionematicidas, quanto à reação do trigo ao nematoide, quanto à supressão populacional do nematoide pelos bionematicidas em trigo e em sistema de sucessão trigo-soja?

A hipótese para essa questão é que há variabilidade genética no germoplasma de trigo quanto à reação ao nematoide-das-galhas e a aplicação de pelo menos um

bionematicida via tratamento de sementes de trigo e em sistema de sucessão trigo-soja reduz a densidade populacional do fitopatógeno.

Para responder à questão da pesquisa e testar essas hipóteses foi desenvolvido um estudo seguindo o objetivo geral de “Caracterizar a reação de genótipos de trigo a *M. javanica* e *M. incognita* e avaliar a ação de nematicidas biológicos no controle de *M. javanica* na cultura do trigo e no sistema de sucessão trigo-soja, em condições de casa de vegetação”. Para isso foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos: “Caracterizar a reação de genótipos de trigo a *M. javanica* e *M. incognita*”; “Avaliar a eficiência de nematicidas biológicos, aplicados via tratamento de sementes em genótipo de trigo suscetível, na redução da penetração e da multiplicação de *M. javanica*” e “Avaliar a eficiência de nematicidas biológicos aplicados via tratamento de sementes em genótipo de trigo e de soja suscetíveis na redução da multiplicação de *M. javanica*, em sistema de sucessão trigo-soja”.

Esta pesquisa justifica-se pela possibilidade de utilização de genótipos de trigo resistentes a *M. javanica* e *M. incognita* em sistemas de produção agrícola no Brasil, especialmente na região Sul do país, visando-se reduzir a densidade populacional do nematoide no solo. Informações sobre a reação dos principais genótipos de trigo utilizados em sistemas de cultivo poderão contribuir para a seleção de genótipos para esta finalidade, evitando-se os danos e perdas causados pelo nematoide ao trigo, à cultura subsequente, geralmente a soja e proporcionará maior segurança ao produtor quanto ao uso destes genótipos. Adicionalmente, a aplicação de nematicidas biológicos via tratamento de sementes em genótipos de trigo e de soja pode consistir em importante estratégia de manejo, complementar ao controle cultural, para supressão populacional do nematoide *M. javanica*, na cultura do trigo e no sistema de sucessão trigo-soja. A utilização de agentes de controle biológico poderá favorecer a sustentabilidade do sistema de cultivo de trigo e de soja, reduzindo o uso de nematicidas químicos no tratamento de sementes, sendo uma ferramenta de grande interesse para a agricultura no Brasil e no mundo.

Este trabalho está organizado da seguinte forma: nesta Introdução, está apresentada a problemática, a hipótese, os objetivos e a justificativa. O próximo componente deste trabalho - Revisão da Literatura - apresenta aspectos conceituais sobre o trigo, a soja e os nematoides-das-galhas *M. javanica* e *M. incognita* com as principais descobertas sobre o assunto ocorridas, preferencialmente, nos últimos sete anos nas principais revistas científicas da área. Nos capítulos I, II e III são apresentados e discutidos os resultados de experimentos. O primeiro capítulo é sobre a reação de genótipos de trigo a *M. javanica* e *M. incognita*. O segundo capítulo é referente a avaliação da performance de nematicidas biológicos aplicados no tratamento de sementes de trigo para supressão populacional de *M. javanica*. Por fim, o terceiro capítulo é sobre a avaliação da performance de dois nematicidas biológicos aplicados no tratamento de sementes de trigo e de soja no sistema de sucessão trigo-soja, para supressão populacional de *M. javanica*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Esta revisão da literatura apresenta informações relacionadas à cultura do trigo e sua importância no sistema de rotação e sucessão de culturas, e sobre a cultura da soja, constituindo-se dos seguintes itens: A cultura do trigo e sua importância no sistema de rotação de culturas; a cultura da soja; Nematoides-das-galhas; Controle cultural como estratégia de manejo dos nematoides das galhas; Controle biológico como estratégia de manejo dos nematoides-das-galhas.

2.1 A cultura do trigo

O trigo, cereal originário do Oriente Médio, foi historicamente uma das primeiras espécies cultivadas pelos povos, estendendo-se para diferentes ambientes e regiões geográficas em todo o mundo ao longo do tempo. Sua importância econômica tomou proporção em diversas atividades industriais, contribuindo para a geração de produtos de valor agregado e para a empregabilidade (BAUMGRATZ et al., 2017; GONZÁLEZ-ESTEBAN, 2017). Dados apontam que o rendimento de seus principais produtores mundiais varia entre 47 a 160 milhões de toneladas (USDA, 2017), sendo a China um dos países de maior produção do cereal (LI et al., 2019).

A área plantada com trigo na safra de 2020 no Brasil foi de 2,46 milhões de hectares, os estados da Bahia, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. A safra nacional alcançou a estimativa de 6.234,6 mil toneladas (CONAB, 2020). Os estados do Rio Grande do Sul e Paraná concentram a maior parte da produção de trigo do país, representando cerca de 90% da produção nacional (CONAB, 2020).

Um dos produtos provenientes do trigo, a farinha, pode ser aplicada na produção de alimentos como panificação, produção de bolos, biscoitos e massas alimentícias. Da

produção total de 8 milhões de toneladas da farinha de trigo produzidas no Brasil, mais de 50% destinam-se à panificação, 15% à produção de macarrão, 10% à produção de biscoitos, 10% ao uso doméstico e 9% a outros segmentos (VANCINI, 2018).

Devido à exploração de seus produtos e por ser uma das principais opções de cultivo no inverno, o trigo pode ser alternativa no sistema de rotação e sucessão de culturas, inclusive para o manejo de fitonematoides (MORESCO, 2016). Por isso, identificar a reação de genótipos desta cultura quanto à resistência ou suscetibilidade aos nematoides é fundamental para subsidiar os programas de melhoramento genético de trigo e, ainda, proporcionar maior segurança ao produtor quanto ao uso desta cultura. Entretanto, poucas informações a respeito da reação de genótipos de trigo aos nematoides estão disponíveis e a maioria dos trabalhos encontrados na literatura classificam tais genótipos como resistentes ou imunes a *Meloidogyne* spp. (BRIDA, 2012; IBRAHIM; REZK; IBRAHIM, 1991; MORESCO, 2016), enquanto há relatos de genótipos suscetíveis a *M. incognita* e *M. javanica* (OLIVEIRA; MACHADO, 2017).

2.2 A cultura da soja

Na história da agricultura do Brasil e na balança comercial, o cultivo da soja ganhou repercussão como um dos produtos que mais se destaca. A alta demanda do mercado pelo uso da soja é devido ao alto teor nutricional de seus produtos, como óleo, farelo e grãos, servindo como fonte primária de proteína vegetal destinados para a alimentação humana e animal. Ainda, a soja pode ser utilizada para a produção de biodiesel, o que estimula os produtores a prosseguir com seu cultivo, classificando-a como uma das principais *commodities* no mercado internacional (CONAB, 2018; USDA, 2017).

A área destinada ao cultivo da soja no Brasil ultrapassa 36 mil hectares com uma produção estimada em 123 milhões de toneladas, tornando o Brasil o maior produtor mundial desta cultura, cuja produção se concentra em sua maior parte nos estados do Mato Grosso, Paraná, Goiás e Rio Grande do Sul (CONAB, 2020). Apesar da alta produtividade da cultura da soja e da demanda por seus produtos, esta cultura tem por

necessidade a aplicação de grande quantidade de agroquímicos e fertilizantes. Isso porque sua produção é afetada por fatores de estresse e por inúmeras doenças que limitam sua produção, causando danos e perdas crescentes a cada ano (EMBRAPA SOJA, 2013). A intensificação da monocultura, a expansão da soja para novas áreas e a adoção de práticas inadequadas de manejo favorecem o surgimento de doenças e pragas, como os nematoides (EMBRAPA SOJA, 2010). Por isso, é fundamental que haja maior controle de fitopatógenos na lavoura, o que favorecerá ainda mais a expansão do cultivo da soja.

2.3 Nematoides-das-galhas

Dentre as principais pragas presentes nas lavouras destacam-se os fitonematoides. No Brasil, mais de 100 espécies de nematoides encontram-se associadas a diversas culturas, especialmente à cultura da soja, sendo os nematoides-das-galhas (*Meloidogyne* spp.), os mais prejudiciais, seguidos dos nematoides-das-lesões-radiculares pertencentes ao gênero *Pratylenchus*, o nematoide-de-cisto-da-soja (NCS) *Heterodera glycines* (Ichinohe) e o nematoide-reniforme *Rotylenchulus reniformis* (Lindford & Oliveira) (ELLING, 2013; SANTOS, 2012).

Os nematoides-das-galhas pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, especificamente *M. javanica* e *M. incognita*, destacam-se pela sua relevância no Brasil e no mundo, consistindo em um dos principais problemas fitossanitários de diversas culturas. A infestação com estas espécies pode inviabilizar áreas de cultivo, uma vez que os danos nas culturas dependem do nível desta infestação e da suscetibilidade das plantas (KARURI et al., 2017). Estes fitopatógenos possuem alto grau de polifagia e fácil adaptação às condições edafoclimáticas, disseminam-se facilmente por meio de máquinas agrícolas, lixiviação e pelas atividades humanas, dificultando seu controle (DALLA CORTE et al., 2014; KARURI et al., 2017).

A fase infectiva dos nematoides do gênero *Meloidogyne* é atribuída ao juvenil de segundo estágio (J2), que penetra a raiz da planta hospedeira migrando pelo seu cilindro vascular por meio da força mecânica do estilete, o que causa a degradação enzimática da parede celular para formação do sítio de infecção e alimentação (GHEYSEN; FENOLL,

2002). Já no interior da raiz o J2 evolui para os estádios de J3 e J4. Em seguida, ocorre a evolução para os estádios de macho ou fêmea. Sob situações de estresses em espécies que se reproduzem por partenogênese, é frequente a ocorrência de reversão sexual em juvenis femininos que darão origem a machos anormais, com dois testículos (=diórquios), e não apenas com um testículo. A fêmea quando formada se reproduzirá por partenogênese dentro da raiz, fazendo a postura dos ovos que serão envolvidos por uma massa gelatinosa. A massa de ovos irá se exprimir para o exterior do complexo radicular. Assim, dentro do ovo acontecerá a fase inicial da formação do juvenil (J1). Este J1 evoluirá para J2, que ao eclodir infectará a raiz do hospedeiro, continuando o ciclo de vida do nematoide (FERRAZ; BROWN, 2016, p. 47-53).

A injeção de hormônios e enzimas pelo J2 após o seu estabelecimento na raiz induz alteração na fisiologia do tecido radicular como consequência da modificação do ciclo celular, balanço hormonal e expressão gênica. Dessa forma, ocorre a formação do cenócito, com alterações morfológicas como hiperplasia e hipertrofia (células gigantes ou nutridoras). Com isso, há um engrossamento das células do córtex radicular formando as galhas (BIRD; OPPERMAN; DAVIES, 2003). Sua formação dificulta a absorção de água e nutrientes, afetando o crescimento das plantas podendo torná-las totalmente improdutivas (ESCOBAR et al., 2015, p. 12-15). As galhas podem conter várias fêmeas que farão a postura dos ovos, iniciando novos ciclos infectivos na raiz da planta hospedeira (FERRAZ; BROWN, 2016, p. 47-53).

A interação entre o nematoide e a planta hospedeira é mediada quimicamente. Os J2 detectam, pelos órgãos quimiossensoriais das regiões anterior e posterior, os exsudatos radiculares produzidos pelas plantas hospedeiras, que podem ser ou não atrativos, desencadeando ou não o processo infectivo (JONES et al., 2013; LACERDA et al., 2017). Os microrganismos associados com a rizosfera podem produzir compostos orgânicos voláteis que também podem interferir no parasitismo do nematoide (KANCHISWAMY; MALNOY; MAFFEI, 2015).

Em áreas infestadas pelos nematoides, observa-se a ocorrência de sintomas-reflexo como as reboleiras. As folhas das plantas podem também exibir manchas

cloróticas ou necroses entre as nervuras, conhecidas como “folha carijó” (GRIGOLLI; ASMUS, 2014, p. 195-196). As consequências das meloidoginoses são amadurecimento prematuro das plantas e abortamento de seus produtos. A planta também apresenta redução do tamanho ou pode até morrer antes de completar seu ciclo de desenvolvimento (GRIGOLLI; ASMUS, 2014, p. 195-196). Por isso, é de fundamental importância que se apliquem estratégias de manejo para controle destes nematoides ou que se faça a prevenção da sua infecção na planta.

Diferentes estratégias de manejo podem ser usadas para controlar os nematoides do gênero *Meloidogyne*. Dentre elas estão a rotação de culturas com espécies antagonistas ou não hospedeiras, o controle genético utilizando cultivares resistentes e o controle químico sintético (MACHADO et al., 2015; MACHADO; ARAÚJO FILHO, 2016; MUKHTAR et al., 2017). Quanto ao tratamento químico, há poucas comprovações científicas de nematicidas aplicados em tratamento de sementes com potencial de reduzir a população de nematoides na área, uma vez que apresentam curto período de proteção após a emergência das plântulas (ARAÚJO; BRAGANTE; BRAGANTE, 2012). Além disso, há uma demanda global por produtos agrícolas produzidos com menor uso de agroquímicos (BACKER et al., 2018).

Aliado ao controle químico sintético, o controle biológico tem se destacado como ferramenta no manejo integrado de fitonematoides. Esses organismos, em sua maioria, passam uma parte do seu ciclo de vida no solo, podendo ser afetados por variação nos fatores físicos, químicos e biológicos. O controle biológico de nematoides pode ocorrer naturalmente ou com introduções artificiais de organismos antagonistas (DIAS et al., 2017; MEENA et al., 2016, p. 1-20). Por isso, o controle biológico associado à rotação/sucessão de culturas envolvendo o controle cultural com genótipos resistentes pode ser uma estratégia eficiente para o controle destes fitonematoides.

2.4 Controle cultural como estratégia de manejo dos-nematoides-das-galhas

A rotação de culturas tem como objetivo alternar espécies vegetais em uma mesma área agrícola e na mesma estação de cultivo. Esse procedimento influencia positivamente

a recuperação, manutenção e melhoria dos recursos naturais, aumentando a produtividade com mínima alteração ambiental (FRANCHINI et al., 2015). Além disso, seu uso contínuo tende a contribuir com a melhoria das características físicas, químicas e biológicas do solo, interferindo positivamente no desenvolvimento das plantas e nas respectivas produtividades, diminuindo, inclusive, a incidência de doenças e pragas (LI et al., 2021), como os nematoides. No entanto, os genótipos selecionados devem ser classificados como resistentes aos nematoides, evitando-se com isso o aumento da densidade populacional destes fitopatógenos em áreas de cultivo (BORGES et al., 2009).

Alguns genótipos de *Avena* spp., por exemplo, importantes espécies de cereal de inverno empregadas como cultura de cobertura para formação de palhada para o SPD com a soja, apresentam variabilidade quanto à reação a nematoides do gênero *Meloidogyne* encontrando-se genótipos resistentes e suscetíveis (BORGES et al., 2009; CARRAROLEMES et al., 2020; MACHADO et al., 2015). O cultivo do milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Brown) e do girassol (*Helianthus annuus* L.) como espécies de rotação indicadas para o cultivo em sistema de safrinha ou segunda safra, em regiões onde a chuva se estende por um maior período, permite a produção de grãos em uma segunda cultura (ASMUS et al., 2005). No entanto, alguns genótipos destas culturas também são suscetíveis a nematoides do gênero *Meloidogyne* (ASMUS et al., 2005).

Alguns genótipos de trigo, cereal de inverno de maior importância econômica em escala mundial, apresentam suscetibilidade a *M. javanica* e *M. incognita* (OLIVEIRA; MACHADO, 2017), enquanto outros foram classificados como resistentes (MORESCO, 2016; BRIDA, 2012). No entanto, estes genótipos que apresentam resistência foram testados sob altas densidades populacionais de nematoides, o que sugere que sua reação possa ter sido erroneamente classificada, em função da competição por sítios de alimentação que ocorre entre os nematoides quando em altas populações (DI VITO; GRECO; CARELLA, 1986). O aumento da densidade populacional dos nematoides nas raízes das plantas resulta na redução de alimento e espaço disponível para o parasitismo, dificultando seu desenvolvimento. Assim, a redução da população dos nematoides ocorre devido à diminuição dos recursos necessários no sistema radicular da planta, para sua

reprodução e sobrevivência, diminuindo o parasitismo, o que não ocorre com baixas concentrações do inóculo inicial (GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274).

Tal afirmação pôde ser comprovada quando genótipos de aveia preta, testados com elevada densidade populacional de *M. javania* e *M. incognita* (5000 e 2900 espécimes/planta, respectivamente), apresentaram resistência a ambos os nematoides. Porém, quando a reação dos mesmos genótipos foi verificada com densidade de inóculo de 1500 espécimes/planta, estes exibiram suscetibilidade (CARRARO-LEMES et al., 2020). Situação semelhante é observada em outras culturas, como o cafeeiro (*Coffea* sp.) (SERA et al., 2009; SHIGUEOKA et al., 2016). Isso demonstra que testes de reação de genótipos utilizando-se elevadas densidades de inóculo podem classificar os genótipos erroneamente como resistentes (CARRARO-LEMES et al., 2021; GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274). Confirmando este pressuposto, na avaliação de genótipos de trigo quanto à reação a *M. javanica* e *M. incognita*, com densidade do inóculo de 2000 espécimes/planta, os resultados obtidos classificaram todos os genótipos como suscetíveis a ambas as espécies de nematoides testadas (OLIVEIRA; MACHADO, 2017).

Genótipos de trigo classificados como suscetíveis aos nematoides devem ser evitados em áreas infestadas por estes patógenos, quando de sua utilização como cultura de inverno ou em rotação/sucessão de culturas (OLIVEIRA; MACHADO, 2017). O motivo disto é que os nematoides irão se multiplicar nas raízes das plantas, aumentando sua densidade populacional nas áreas de cultivo, prejudicando as condições fitossanitárias das lavouras para estabelecimento da cultura seguinte. Tratando-se da soja, por exemplo, no sistema de sucessão trigo-soja, as doenças causadas por fitopatógenos, como os fitonematoides, tornam-se um fator limitante para a produtividade, o que requer eficiente controle para evitar danos e perdas na cultura de uma forma progressiva (MORESCO, 2016; XIANG et al., 2017). Dessa forma, o manejo dos nematoides-das-galhas pode ser feito por meio do uso de culturas de cobertura, como cultivares de trigo, mas que sejam resistentes aos mesmos, para que seja possível reduzir sua densidade populacional, não comprometendo as culturas sucessoras, como a soja (BORGES et al., 2009).

Sabe-se que a maioria dos genótipos de soja selecionados com base na sua produtividade são suscetíveis aos nematoides-das-galhas (SCHMITT; BELLÉ, 2016), o que naturalmente acarreta danos e perdas. Estas consequências se agravariam caso a soja venha a ser implantada em solos altamente infestados, como consequência da suscetibilidade das culturas de cobertura utilizadas no sistema de rotação de culturas. Entretanto, mesmo os genótipos que apresentam resistência podem sofrer alterações em seus parâmetros agronômicos pela ação parasitária dos fitonematoides (ALMEIDA et al., 2016).

Algumas espécies vegetais utilizadas no controle cultural restringem a multiplicação dos nematoides pela produção de compostos orgânicos capazes de controlar as populações do patógeno, podendo ser alternativa ao uso de defensivos (MATEUS et al., 2014). Os compostos fenólicos, conhecidos como produtos do metabolismo secundário das plantas, são a principal classe de fitoquímicos encontrados nos cereais (SHAMLOO et al., 2017). A produção destes compostos pelas plantas varia de acordo com a diversidade genética e fatores ambientais (SANTOS et al., 2019).

Os genótipos de trigo apresentam alguns compostos dessa classe, como os ácidos ferúlico, vanílico, siríngico, caféico, *p*-cumárico e ácido sinápico, além dos ácidos fenólicos, flavonoides, ligninas e estilbenos (WANG et al., 2013; ZHANG et al., 2012). A produção de compostos fenólicos pelas plantas representa o mecanismo de defesa contra predadores e patógenos, sendo também essenciais para seu crescimento e reprodução, podendo ser indicativo da reação de resistência ou suscetibilidade aos nematoides. A variabilidade genética presente nas espécies é determinante para que a planta produza fitoquímicos em concentrações distintas, que irão interferir na população dos fitonematoides (MARINI et al., 2016). Por isso, outras medidas alternativas para controle de nematoides devem ser estudadas, como o controle biológico.

2.5 Controle biológico como estratégia de manejo dos nematoides-das-galhas

O controle biológico é um fenômeno natural em que uma população de seres vivos é regulada por outra população de seres vivos, havendo efeitos na taxa de crescimento

populacional, mantendo-se, com isso, o equilíbrio da natureza. O controle biológico é um componente da estratégia do manejo integrado de pragas (MIP) e de doenças (MID) e tem por objetivo manter as pragas e os fitopatógenos abaixo do nível de dano econômico para um determinado cultivo (PARRA et al., 2002).

A aplicação do controle biológico tem se apresentado como alternativa sustentável para o manejo de fitonematoides (GOPALAKRISHNAN et al., 2015). Dentro deste contexto, os fungos e as rizobactérias são importantes agentes de controle biológico de fitonematoides (DIAS et al., 2017; ENGELBRECHT et al., 2018).

O controle biológico baseia-se na relação antagônica entre o microrganismo agente de biocontrole e o fitopatógeno, como os fitonematoides. Os modos de ação dos agentes de biocontrole pode ser de forma direta por meio do parasitismo e/ou antibiose, como os fungos que aprisionam os nematoides em suas hifas, formando um anel constritor constituindo uma rede de adesão (NIU; ZHANG, 2011). Os fungos também produzem toxinas que podem estar envolvidas na imobilização e na morte dos nematoides, podendo ainda produzir substâncias com propriedades nematicidas (MACHADO; KANEKO; PINTO, 2016, p. 287-312). Nesse sentido, pode-se mencionar os fungos do gênero *Trichoderma* por sua capacidade de degradação da quitina, permitindo sua atuação sobre os ovos dos nematoides, uma vez que fungos pertencentes a este gênero são conhecidos pelo seu parasitismo direto sobre ovos (SAHEBANI; HADAVI, 2008). Adicionalmente, a antibiose por enzimas e metabólitos secundários e a indução de defesa da planta são modos de ação conhecidos de fungos do gênero *Trichoderma*, suprimindo a população de fitonematoides (DRUZHININA et al., 2011; SILVA et al., 2019).

Embora espécies de fungos do gênero *Trichoderma* sejam encontradas associadas a *Meloidogyne* spp. parasitando seus ovos e fêmeas, sua eficiência como agente de biocontrole de nematoides pode depender da compatibilidade entre o isolado fúngico, a planta hospedeira e o solo (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016).

Outro modo de ação dos microrganismos agentes de biocontrole sobre os nematoides é pela ação indireta, quando são produzidos metabólitos responsáveis pela degradação celular de ovos e J2, afetando assim a eclosão ou a mobilidade dos juvenis, podendo ocorrer, também, a alteração dos exsudatos radiculares de forma a dificultar a localização das raízes pelos nematoides (BACH et al., 2016; MACHADO; KANEKO; PINTO, 2016, p. 287-312). Os agentes de biocontrole podem, ainda, induzir o mecanismo de resistência sistêmica por meio do contato direto destes microrganismos com os tecidos radiculares das plantas, inclusive pela competição por substratos (MHATRE et al., 2019; RAMAMOORTHY et al., 2001).

Rizobactérias (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria* - PGPR) são bactérias promotoras do crescimento vegetal que possuem a habilidade de formar biofilme e competir por substratos, o que contribui para a sua sobrevivência. Elas facilitam, inclusive, a absorção de nutrientes pelas plantas, como a fixação de nitrogênio, solubilização do fosfato e produção de sideróforos (AHEMAD; KIBRET, 2014; DIAS et al., 2017; VEJAN et al., 2016), podendo ser ainda agentes de proteção de plantas contra o ataque de fitonematoides (SHARMA; SHARMA, 2017).

As rizobactérias podem exibir mecanismos diretos ou indiretos de supressão populacional de fitonematoides, como a bactéria *Pasteuria penetrans* (ex Thorne) que apresenta o mecanismo de ação direta sobre os nematoides do gênero *Meloidogyne*. Já as bactérias pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Streptomyces*, *Serratia*, *Pantoea*, *Alcaligenes*, *Azospirillum* e *Rhizobium* agem sobre os fitonematoides de forma indireta (ABALLAY et al., 2013; ADAM; HEUER; HALLMANN, 2014; ESCUDERO et al., 2016; TEREFE; TEFERA; SAKHUJA, 2009). As bactérias podem atuar isoladamente ou em consorciação, como por exemplo, as que pertencem aos gêneros *Bacillus*, *Lysinibacillus*, *Pseudomonas* e *Chryseobacterium*, incorporadas à mesma formulação (COLAGIERO; ROSSO; CIANCIO, 2018).

As rizobactérias do gênero *Bacillus* são importantes agentes de biocontrole de fitonematoides (SANTOS et al., 2019). Estas são formadoras de endósporos, o que as

torna capazes de sobreviver por períodos prolongados sob condições desfavoráveis (DAS et al., 2021; CAWOY et al., 2011, p. 272-302). Seus metabólitos interferem no ciclo de vida dos nematoides, na alimentação e reprodução, reduzindo sua penetração nas raízes e, conseqüentemente, reduzindo os danos causados na planta (CHINHEYA; YOBO; LAING, 2017). Como exemplo de metabólitos produzidos pelos microrganismos, podem-se citar os Compostos Orgânicos Voláteis (*Volatile Organic Compounds* - VOCs).

Uma variedade de metabólitos secundários e compostos orgânicos voláteis são produzidos por bactérias, concentrando-se na rizosfera e apresentando influência na modulação do crescimento e estabelecimento da planta, seu desenvolvimento e defesa contra fitopatógenos (BAILLY; WEISSKOPF, 2012; KUMAR et al., 2015). Um exemplo de VOC são as poliaminas que desempenham papéis fisiológicos e protetores importantes nas plantas. A bactéria *B. megaterium* (de Bary) estirpe BOFC15 secreta poliamina e espermidina e induz a produção de poliamina em *Arabidopsis*, resultando em aumento da biomassa, alteração na arquitetura radicular e aumento da capacidade fotossintética. As plantas inoculadas com essa bactéria apresentam maior tolerância à seca e teor de ácido abscísico (ABA) sob estresse por déficit hídrico induzido (ZHOU et al., 2016).

Estirpes bacterianas de *Pseudomonas* spp. produzem VOCs que inibem a germinação e o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* ((Lib.) de Bary), um dos principais fungos fitopatogênicos da cultura da soja e da canola (*Brassica napus* L.) (FERNANDO et al., 2005). VOCs produzidos por *P. fluorescens* (Migula) e por *B. subtilis* ((Ehrenberg) Cohn) são reportados por promoverem o crescimento de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.) e proporcionarem o aumento da biossíntese de óleos essenciais desta espécie.

3 CAPÍTULO I

Caracterização da reação de genótipos de trigo a *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*

3.1 Resumo

Meloidogyne javanica e *Meloidogyne incognita* são as espécies de nematoides mais comuns pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, causando extensas perdas de produção. Uma das principais estratégias de manejo destes fitopatógenos é a utilização de genótipos de trigo, mas poucas informações estão disponíveis sobre a reação dos genótipos aos nematoides. Assim, este trabalho teve como objetivo testar a reação dos genótipos de trigo a *M. javanica* e *M. incognita*. Para *M. javanica* foram testados 29 tratamentos, dos quais 27 incluíram os genótipos de trigo e dois, os controles de susceptibilidade ao nematoide, o tomateiro (*Solanum lycopersicum* cv. Santa Clara e o pepineiro (*Cucumis sativus*) cv. Caipira. Quatro ensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições para os Experimentos I e II, e seis repetições para os Experimentos III e IV. Para *M. incognita*, foram avaliados 12 tratamentos sendo 11 genótipos de trigo e um controle de suscetibilidade, o quiabeiro (*Abelmoschus esculentus*) cv. Santa cruz 47. Dois ensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições (Experimentos V e VI). Cada unidade experimental continha três plantas, que receberam os inóculos dos nematoides 15 dias após a germinação. Para *M. javanica*, a Pi usada foi de 1.000 ovos e J2 por vaso; para *M. incognita*, utilizou-se 2.000 ovos e J2 por vaso. A temperatura de cultivo foi mantida na faixa de 21 a 28° C, nos meses de março-maio/2020. Os genótipos avaliados foram suscetíveis a *M. javanica*, exceto TBIO Sossego que foi resistente (FR: 0,37; 0,13), podendo ser cultivado em áreas infestadas com o nematoide. Para *M. incognita*, todos os genótipos foram suscetíveis e, portanto, não são recomendados em áreas infestadas com esta espécie do nematoide.

Palavras-chave: 1. Controle cultural. 2. Resistência. 3. Sistemas de cultivo. 4. Suscetibilidade. 5. *Triticum aestivum*.

3.2 Introdução

O trigo (*Triticum aestivum* L. Poaceae) é um cereal de inverno que, historicamente, foi uma das primeiras espécies cultivadas. Seu cultivo atinge proporções econômicas em diversas atividades industriais em nível mundial, o que contribui para a geração de

produtos de valor agregado e para a empregabilidade (BAUMGRATZ et al., 2017). No Brasil, a safra nacional alcança cerca de 6 milhões de toneladas, concentrando a maior parte da produção nos estados do Rio Grande do Sul e Paraná (CONAB, 2020). Por ser uma das principais opções de cultivo no sistema de rotação e/ou sucessão de culturas, o trigo pode ser alternativa, inclusive, para o manejo dos nematoides-das-galhas, como *M. javanica* e *M. incognita* (MORESCO, 2016).

Meloidogyne javanica e *M. incognita* são as espécies de nematoides do gênero *Meloidogyne* mais comumente encontradas nos sistemas agrícolas em todo o mundo. Estes nematoides são endoparasitas sedentários obrigatórios de raízes de plantas, consistindo em um dos principais problemas fitossanitários de diversas culturas (KARURI et al., 2017). Sua infestação pode inviabilizar as áreas de cultivo, dependendo do nível populacional e da suscetibilidade das plantas. Devido à sua polifagia, fácil disseminação e adaptação às diversas condições edafoclimáticas, o manejo deste fitopatógeno é desafiador (DALLA CORTE et al., 2014; KARURI et al., 2017).

Considerando o fato de que a planta hospedeira pode afetar a dinâmica populacional dos nematoides na área, a rotação e/ou sucessão de culturas com plantas resistentes ou antagonicas pode suprimir o nível populacional destes fitopatógenos em áreas infestadas, podendo ser alternativa ao uso de nematicidas químicos (MIAMOTO et al., 2016; NIRO et al., 2016; OOSTENBRINK, 1966, p. 1-46). Por isso, identificar a reação de genótipos de trigo quanto à resistência ou suscetibilidade a nematoides é fundamental para subsidiar os programas de melhoramento genético de trigo e, ainda, proporcionar maior segurança ao produtor quanto ao uso desta cultura. Entretanto, poucas informações a respeito da reação de genótipos de trigo aos nematoides estão disponíveis. Além disso, a maioria dos trabalhos encontrados na literatura classificam tais genótipos como resistentes ou imunes a *Meloidogyne* spp., entretanto baseados em testes de reação utilizando-se altas densidades iniciais de inóculo (BRIDA, 2012; IBRAHIM; REZK; IBRAHIM, 1991; MORESCO, 2016). Isso contribui para que genótipos suscetíveis sejam erroneamente classificados como resistentes.

Neste trabalho, testou-se a hipótese de que os genótipos de trigo exibem variabilidade quanto à reação aos nematoides *M. javanica* e *M. incognita* e, quando suscetíveis, serão encontrados distintos graus de suscetibilidade a ambas as espécies. Por isso, o objetivo deste trabalho foi testar a reação de genótipos de trigo, provenientes de obtentores distintos, às espécies *M. javanica* e *M. incognita*, em condições de casa de vegetação.

3.3 Material e Métodos

Os genótipos de trigo avaliados foram desenvolvidos por diferentes obtentores (Biotrigo Genética, OR Sementes, Coodetec, Embrapa, LG Sementes, Iapar, Fundação Pró-Sementes e Fundacep), sendo IPR Catuara, IPR 85, IPR 144, IPR Taquari, IPR Panaty, IPR Potyporã, TBIO Iguaçu, TBIO Audaz, TBIO Sinuelo, TBIO Sonic, TBIO Sossego, TBIO Toruk, Quartzo, BRS Gaivota, BRS Gralha Azul, BRS 264, ORS 1403, ORS Agile, ORS Madreperola, ORS Marfim, FPS Nitron, Fundacep Cristalino, CD 150 e LG Oro. A fim de confirmar a viabilidade do inóculo de ambas as espécies de nematoides e que as condições ambientais eram adequadas aos experimentos, foram incluídos como testemunhas suscetíveis a *M. javanica* o tomateiro (*Solanum lycopersicum*. L.) cv. Santa Clara e o pepineiro (*Cucumis sativus* L.) cv. Caipira. O quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) cv. Santa Cruz 47 foi incluído como testemunha de suscetibilidade a *M. incognita*.

A pesquisa foi explicativa experimental, do tipo associação com interferência, com abordagem quantitativa. Para verificar a reação dos genótipos a *M. javanica*, foram avaliados 29 tratamentos, dos quais 27 eram genótipos de trigo e duas testemunhas de suscetibilidade ao nematoide. Quatro ensaios foram estabelecidos (Experimentos I a IV). O delineamento experimental foi completamente casualizado com cinco repetições (Experimentos I e II) ou seis repetições (Experimentos III e IV). As unidades experimentais foram vasos de isopor com capacidade para 945 mL, contendo três plantas.

Para *M. incognita*, foram avaliados 12 tratamentos, sendo 11 genótipos de trigo e uma testemunha de suscetibilidade. Foram realizados dois ensaios (Experimentos V e VI)

em delineamento experimental completamente casualizado com cinco repetições. As unidades experimentais foram os vasos de isopor com capacidade para 945 mL, contendo três plantas.

A pesquisa foi desenvolvida no município de Londrina, Paraná, em casa de vegetação do Laboratório de Nematologia do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-PR) (23° 21' 20" S, 51° 09' 58,2" W, altitude de 610 m), durante os meses de março a maio de 2020.

Os inóculos de *M. javanica* e de *M. incognita* foram obtidos de populações puras, multiplicadas em plantas de tomateiro cv. Santa Clara e quiabeiro cv. Santa Cruz 47, respectivamente, mantidas em casa de vegetação com temperatura média de 30 °C. Aos sessenta dias após a inoculação das plantas utilizadas para multiplicação, os nematoides foram extraídos dos sistemas radiculares pelo método de Boneti e Ferraz (1981). As raízes parasitadas foram cortadas em pedaços de aproximadamente 2,0 cm e trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante 30 segundos obtendo-se uma suspensão. Esta suspensão foi vertida sobre conjunto de peneiras sobrepostas de, respectivamente, 230 e 500 Mesh, lavada com jatos de água corrente para retirada do hipoclorito de sódio e recolhida em béquer. Os inóculos foram quantificados em microscópio de luz com auxílio de câmara de Peters.

Na execução dos experimentos, sementes dos genótipos de trigo e das testemunhas de suscetibilidade foram semeadas em vasos de isopor contendo uma mistura de areia e solo (3,5:0,5) previamente esterilizada por calor seco (120 °C/ 5 horas). A adubação inicial foi realizada acrescentando-se 3 g de Osmocote® por vaso (15% N, 9% P₂O₅, 12% K₂O, 1% Mg, 2,3% S, 0,05% Cu, 0,45% Fe, 0,06% Mn, 0,02% Mo).

As suspensões contendo os inóculos de cada espécie de nematoide foram inoculadas nas plântulas 15 dias após a germinação, depositando-se em cada vaso a quantidade de indivíduos respectiva para cada experimento (Pi: população inicial), incluindo as testemunhas de suscetibilidade. Para *M. javanica*, depositou-se 1mL da suspensão, contendo 1000 ovos e J2, por unidade experimental, enquanto para *M.*

incognita, depositou-se 2 mL da suspensão contendo 1000 ovos e J2 por mL, totalizando 2000 ovos e J2 por unidade experimental. Ambas as concentrações do inóculo são classificadas como concentrações intermediárias (501 a 2000 espécimes do nematoide) ideais para testes de reação de genótipos a ambas as espécies de nematoides (GRECO; DIVITO, 2009, p. 246-274).

Realizou-se diariamente a irrigação, conforme as condições climáticas e exigências do estágio fenológico da cultura. A temperatura de cultivo das plantas variou de 21 a 28 °C.

A avaliação da multiplicação de *M. javanica* e *M. incognita* no sistema radicular das plantas de trigo e das testemunhas de suscetibilidade foi realizada 60 dias após a inoculação (DAI). As raízes das plantas foram lavadas, secas em papel absorvente e pesadas, para posterior extração dos nematoides pelo método de Boneti e Ferraz (1981). Os nematoides extraídos foram contados sob microscópio de luz com auxílio de câmara de Peters, obtendo-se a densidade populacional final (população final: Pf) nas raízes, em cada unidade experimental. Para obtenção do fator de reprodução (FR) dos nematoides, que é a expressão do número de vezes que o nematoide se multiplicou no sistema radicular, a Pf foi dividida pela Pi por meio da equação 1:

$$FR = \frac{Pf}{Pi} \quad (1)$$

Onde: FR: fator de reprodução do nematoide; Pf: população final do nematoide; Pi: população inicial do nematoide inoculada.

Por meio do FR os genótipos foram classificados quanto à resistência ou suscetibilidade. Quando o FR apresentou valores menores que 1,0, os genótipos foram classificados como resistentes, enquanto aqueles com valores maiores ou iguais a 1,0, como suscetíveis (adaptado de OOSTENBRINK, 1966, p. 1-46).

O número de nematoides por grama de raiz (Nema/g) foi obtido por meio da equação 2:

$$Nema.g^{-1} = \frac{Pf}{mfr} \quad (2)$$

Onde: Nema/g: número de nematoides por grama de raiz; Pf: população final do nematoide; mfr: massa fresca de raiz.

Esta variável foi calculada para isolar o efeito do desenvolvimento radicular da planta em relação à Pf e permitir melhor comparação entre os genótipos avaliados, uma vez que o desenvolvimento do sistema radicular é uma característica intrínseca de cada genótipo.

Os dados obtidos de FR foram classificados de acordo com Oostenbrink (1996) e, juntamente com os dados de Nema/g, foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk ($p=0,05$) para a verificação da normalidade dos resíduos. Para atender aos pressupostos da análise, os dados dos experimentos com *M. javanica* foram transformados de acordo com BoxCox e posteriormente, as médias foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott ($p=0,05$). Já para os dados referentes aos experimentos com *M. incognita*, os dados de FR e Nema/g não atenderam aos pressupostos de normalidade dos resíduos e, por isso, foram submetidos à análise não paramétrica de Kruskal-Wallis ($p=0,05$). Para todas as análises, utilizou-se o pacote Agricolae (MENDIBURU, 2015) do programa estatístico R 2.15.2 (R CORE TEAM, 2018).

3.4 Resultados

3.4.1 Reação de genótipos de trigo a *M. javanica*

Os resultados mostram variação na suscetibilidade dos genótipos de trigo a *M. javanica* (Tabelas 1 e 2). Nos quatro ensaios (Experimentos I a IV), constatou-se elevada multiplicação de *M. javanica* nas testemunhas, o tomateiro (FR = 224,32 e 301,08, respectivamente para os Experimentos I e II) (Tabela 1), o pepineiro (FR = 67,44 no

Experimento III) (Tabela 2) e o genótipo de trigo Gralha Azul considerado como testemunha de suscetibilidade no Experimento IV (FR = 15,55) (Tabela 2). Dessa forma, comprovou-se a viabilidade do inóculo e das condições ambientais para o desenvolvimento dos nematoides.

Os genótipos de trigo apresentaram suscetibilidade a *M. javanica* nos Experimentos I e II, com FR variando entre 10,86 a 51,15, no Experimento I, e FR entre 22,19 a 139,43, no Experimento II (Tabela 1). No Experimento III, os genótipos testados apresentaram suscetibilidade a *M. javanica*, com FR variando entre 1,56 a 22,57, exceto os genótipos BRS 264 (FR = 0,65) e TBIO Sossego (FR = 0,37), classificados como resistentes a *M. javanica* (Tabela 2).

No Experimento III, todos os genótipos testados apresentaram suscetibilidade a *M. javanica*, com FR variando entre 1,56 a 22,57, exceto os genótipos BRS 264 (FR = 0,65) e TBIO Sossego (FR = 0,37), classificados como resistentes a *M. javanica* (Tabela 2).

No Experimento IV, incluiu-se ambos os genótipos classificados como resistentes no Experimento III; e a resistência do genótipo TBIO Sossego foi confirmada (FR = 0,13), mas o genótipo BRS 264 foi classificado como suscetível (FR = 18,16). É provável que este fato seja devido ao melhor desenvolvimento radicular do genótipo no Experimento IV proporcionando ao nematoide condições para o estabelecimento do sítio de alimentação (Tabela 2).

De maneira geral, a variável Nema/g corroborou os resultados de FR observados para os genótipos de trigo em todos os experimentos com *M. javanica*. Portanto, apesar de ter sido observada variação nos valores de Nema/g, estes foram elevados e mostraram que, independentemente do volume do sistema radicular obtido para os diferentes genótipos de trigo avaliados, o desenvolvimento radicular favoreceu a multiplicação de *M. javanica*.

Tabela 1 – Fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* e número de nematoides por grama de raiz (Nema/g) em genótipos de trigo, nos Experimentos I e II. Londrina, 2019-2020

Genótipo	Experimento I		Experimento II	
	FR	Nema/g	FR	Nema/g
IPR Catuara	51,15 a	2446 a	45,66 b	1834 b
BRS Gaivota	49,05 a	2192 a	26,90 c	2055 b
TBIO Iguaçu	36,43 a	3255 a	34,07 c	1966 b
ORS Marfim	35,31 a	1462 b	139,43 a	5401 a
FPS Nitron	30,60 a	1550 b	61,97 b	4375 a
BRS Gralha Azul	27,60 b	1992 a	52,35 b	5113 a
IPR 144	18,75 b	1344 b	22,19 c	1131 b
IPR 85	15,52 b	732 b	30,67 c	1808 b
IPR Taquari	14,82 b	924 b	38,71 c	2578 b
Quartzo	13,73 b	1156 b	65,29 b	3001 b
Fundacep Cristalino	10,86 b	1315 b	110,69 a	5894 a

Fonte: Dados do autor

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).
FR do tomateiro (testemunha suscetível a *M. javanica*): 224,32 e 301,08, respectivamente nos Experimentos I e II.

Tabela 2 – Fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* e número de nematoides por grama de raiz (Nema/g) em genótipos de trigo, nos Experimentos III e IV. Londrina, 2020

Genótipo	Experimento III		Experimento IV	
	FR	Nema/g	FR	Nema/g
BRS Gralha azul	22,57 a	696 a	15,55 a	391 a
IPR Catuara	9,56 b	328 b	... ¹	... ¹
ORS Agile	9,42 b	378 b
IPR Potyporã	8,67 b	325 b
IPR Panaty	7,45 b	407 b
CD 150	7,23 b	465 b
LG Oro	6,00 b	158 c
Quartzo	3,95 c	135 c
TBIO Sinuelo	3,82 c	107 c
ORS 1403	3,70 c	130 c
TBIO Toruk	3,53 c	110 c
ORS Madreperola	3,46 c	132 c
TBIO Sonic	2,09 c	104 c
TBIO Audaz	1,56 d	44 d
BRS 264	0,65 d	28 d	18,16 a	690 a
TBIO Sossego	0,37 d	97 d	0,13 b	3 b

Fonte: Dados do autor

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

FR do pepineiro (testemunha suscetível a *M. javanica*) = 67,44 (Experimento III); no Experimento IV a testemunha suscetível utilizada foi o genótipo de trigo BRS Gralha Azul. ¹ não avaliado.

3.4.2 Reação de genótipos de trigo a *M. incognita*

Diferenças significativas entre os genótipos de trigo foram observadas nos Experimentos V e VI (Tabela 3). Em ambos os Experimentos observou-se elevada multiplicação de *M. incognita* na testemunha, o quiabeiro (FR = 141,07 e 108,66, respectivamente para os Experimentos V e VI). Isso comprova a viabilidade do inóculo e das condições ambientais para a condução do experimento.

Com relação aos genótipos de trigo, todos foram classificados como suscetíveis a *M. incognita* no experimento V, com FR variando entre 15,75 a 96,90, exceto o genótipo Quartzo, que apresentou resistência (FR = 0,30) (Tabela 3). No experimento VI, todos os genótipos avaliados também foram caracterizados como suscetíveis, inclusive o genótipo Quartzo (FR = 2,83) que no experimento V foi caracterizado como resistente (FR = 0,30) (Tabela 3).

De maneira geral, novamente neste caso a variável Nema/g corroborou os resultados de FR observados para os genótipos de trigo nos experimentos com *M. incognita*. Variação nos valores de Nema/g também foram observadas e estes se mostraram bastante elevados, confirmando as condições adequadas para o desenvolvimento e multiplicação de *M. incognita* nos genótipos de trigo avaliados.

Tabela 3 – Fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita* e número de nematoides por grama de raiz (Nema/g) em genótipos de trigo, nos Experimentos V e VI. Londrina, 2020

Genótipo	Experimento V		Experimento VI	
	FR	Nema/g	FR	Nema/g
IPR Taquari	96,90 a	28546 a	19,27 a	8917 a
IPR 85	60,37 ab	21663 ab	7,78 b	3200 bc
ORS Marfim	57,76 ab	23066 a	7,75 b	3852 abc
TBIO Iguaçu	50,48 bc	17942 abc	3,87 bcd	1164 def
BRS Gralha azul	49,77 bc	14344 c	7,30 b	2701 cde
BRS Gaivota	45,50 bc	16020 bc	4,38 d	1700 ef
Fundacep Cristalino	36,49 cd	13671 bc	18,89 a	6748 ab
FPS Nitron	36,48 cde	16133 bc	9,10 bc	3868 cd
IPR Catuara	20,60 def	5868 d	4,60 bcd	1547 def
IPR 144	15,75 ef	3711 d	2,44 cd	1403 def
Quartzo	0,30 f	156 d	2,83 cd	937 f

Fonte: Dados do autor

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$). FR do quiabeiro (testemunha suscetível a *M. incognita*): 141,07 e 108,66, respectivamente nos Experimentos V e VI.

3.5 Discussão

Neste estudo testou-se a hipótese de que os genótipos de trigo exibem variabilidade quanto à reação aos nematoides *M. javanica* e *M. incognita* e, quando suscetíveis, foram observados distintos níveis de suscetibilidade a ambas as espécies. Dentre os genótipos de trigo testados neste trabalho para *M. javanica*, verificou-se que todos foram suscetíveis ao nematoide, exceto BRS 264 e TBIO Sossego, avaliados no

Experimento III. Neste experimento, de maneira geral, os valores de FR nos genótipos de trigo e na testemunha foram menores que os observados nos Experimentos I e II, talvez devido aos diferentes genótipos de trigo e a testemunha avaliados, ou à própria viabilidade do inóculo, uma vez que se trata de experimentos distintos.

Para confirmar a resistência observada nos genótipos de trigo no Experimento III, foi realizado um novo experimento, em que foram avaliados apenas os dois genótipos e como testemunha, o genótipo BRS Gralha Azul, que havia apresentado o maior FR no Experimento III. Neste caso, apenas o genótipo TBIO Sossego comprovou sua resistência a *M. javanica*, uma vez que BRS 264 permitiu a multiplicação do nematoide. Sendo assim, o genótipo TBIO Sossego pode ser uma opção para cultivo em áreas infestadas por *M. javanica* visando a supressão populacional do nematoide para a cultura subsequente.

O genótipo BRS 264 já havia sido classificado anteriormente como resistente a *M. javanica* (FR = 0,23) por Moresco et al. (2016). Entretanto, os autores utilizaram apenas uma planta por vaso, que foi inoculada cinco dias após a emergência com 5.000 ovos de *M. javanica*. No presente trabalho, foram utilizadas três plantas por vaso, inoculadas 10 dias após a emergência, o que provavelmente permitiu que um volume maior de raízes estivesse disponível aos nematoides no momento da inoculação, que foi feita com uma densidade de 1.000 ovos por planta, consideravelmente menor que aquela utilizada por Moresco et al. (2016). Essa menor densidade populacional inoculada, aliada ao maior volume do sistema radicular dos genótipos de trigo, provavelmente foram responsáveis pelos elevados valores de FR obtidos no presente trabalho para BRS 264 no Experimento IV (FR = 18,16) (GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274). Além disso, no trabalho de Moresco et al. (2016), todos os genótipos de trigo testados apresentaram valores de FR muito baixos para *M. javanica* e *M. incognita*, mas não há indicação de nenhuma testemunha utilizada para verificação da multiplicação dos nematoides e da viabilidade dos inóculos ou adequadas condições experimentais.

Situação semelhante pode ser observada no trabalho de Brida et al. (2017), que avaliaram genótipos de trigo a *M. javanica*, em condições de casa de vegetação. Estes autores também inocularam 5.000 ovos em plantas com apenas três dias após a

germinação, mantendo apenas uma planta por vaso. Apesar de terem sido avaliados genótipos de trigo distintos daqueles incluídos no presente trabalho, todos foram classificados como resistentes ao nematoide, com $FR = 0$. Para *M. incognita*, Brida et al. (2017) também obtiveram valores de FR muito baixos ($0 < FR < 0,2$), em experimento conduzido de maneira semelhante ao descrito para *M. javanica*. Apesar de serem outros genótipos de trigo, é arriscada a hipótese de que existam cultivares de trigo com níveis tão elevados de resistência a esses nematoides, pois os presentes resultados, utilizando menor volume de inóculo e maior volume de raízes no momento da inoculação, mostraram que apenas um deles, TBIO Sossego, pode ser classificado como resistente a *M. javanica*.

No trabalho de Oliveira; Monteiro; Ferraz (1990) observou-se uma classificação dos genótipos de trigo avaliados como suscetíveis, embora a densidade populacional (4.500 ovos por planta) do inóculo utilizada tenha sido elevada. Isso pode ser justificado pelo fato de que as plantas foram inoculadas 15 dias após a semeadura, o que provavelmente permitiu melhor desenvolvimento radicular, disponibilizando maior sítio de infecção no momento da inoculação (GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274). Isso evitou a morte dos nematoides por inanição devido à competição por sítios de alimentação (GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274). Situação semelhante é relatada também por Roberts; Van Gundy; McKinney (1981) e por Sharma (1981) evidenciando, inclusive, que plantas suscetíveis, quando infectadas por *M. javanica*, podem sofrer redução do seu desenvolvimento em condições de campo.

Em relação à reação dos genótipos de trigo a *M. incognita*, verificou-se que todos foram suscetíveis ao nematoide, exceto Quartzo, que apresentou $FR < 1,0$. Entretanto, quando o experimento foi repetido, para confirmação dos resultados, a reação de resistência deste genótipo não foi confirmada, o que nos indica que o cultivo de trigo deve ser evitado em áreas infestadas com esta espécie. O aumento populacional proporcionado pelo trigo poderá prejudicar o desenvolvimento da cultura principal em sucessão, geralmente a soja.

A mesma situação relatada para os trabalhos encontrados na literatura em que foi avaliada a reação de genótipos de trigo a *M. javanica* pode ser encontrada também para *M. incognita* (BRIDA et al., 2017; MORESCO, 2016). A literatura apresenta informações de que *M. incognita* é um importante fitopatógeno do trigo a nível mundial (McDONALD; NICOL, 2005, p. 131-191). Inclusive, é considerado um sério problema em lavouras de trigo da região noroeste da Índia (SWARUP; SOSA-MOSS, 1990, p. 109-136).

A seleção de genótipos de trigo classificados como resistentes, com base em testes de reação utilizando-se altas densidades iniciais do inóculo, pode ser equivocada, contribuindo para que tais genótipos sejam indicados erroneamente para o manejo de nematoides (CARRARO-LEMES et al., 2020; GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274). O processo infectivo torna-se favorável aos nematoides quando há volume radicular capaz de prover espaço e nutrientes para desencadear o parasitismo. Dessa forma, não há competição entre os indivíduos por espaço e alimento nas raízes da planta hospedeira, estimulando sua multiplicação. Quando se utiliza altas densidades iniciais de inóculo, as raízes da planta hospedeira são rapidamente parasitadas pelos indivíduos, reduzindo os sítios de infecção e, conseqüentemente, o alimento necessário para o desenvolvimento e multiplicação dos nematoides. Então, a taxa de multiplicação destes nematoides diminui pois as raízes serão menos infectadas devido à diminuição ou ausência dos recursos necessários para a sobrevivência e reprodução do nematoide. Como consequência, o FR estará abaixo de 1,0, caracterizando, equivocadamente, a reação de resistência da planta (GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274; SHIGUEOKA et al., 2016). Testes de reação de genótipos utilizando-se baixas e médias densidades iniciais de inóculo também devem estar associados a um tempo de inoculação suficiente para promover o crescimento das raízes das plantas. Isso contribuirá para a obtenção de resultados confiáveis, considerando que o desenvolvimento radicular da planta será suficiente para hospedar o número de indivíduos ali inoculados, garantindo a eles espaço e nutrientes, estimulando o processo infectivo e, assim, sua multiplicação, permitindo classificações mais assertivas da reação das plantas aos nematoides com base na variável FR (GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274).

No presente trabalho, os valores de Nema/g confirmaram a caracterização das cultivares. Esta variável é importante para permitir melhor comparação entre os genótipos, por considerar o volume radicular de cada genótipo, assegurando que os baixos valores de FR observados são devido à resistência do genótipo e não porque houve redução do volume radicular e, portanto, menor quantidade de alimento para os nematoides.

Além dessas variáveis, as plantas avaliadas neste trabalho não apresentaram o sintoma típico da presença de espécies de *Meloidogyne* nas raízes, que são as galhas radiculares, o que justifica que esta variável não tenha sido avaliada. Entretanto, vários trabalhos encontrados na literatura utilizaram o índice de galhas como uma das variáveis para classificação dos genótipos de trigo em relação à reação aos nematoides-das-galhas (BRIDA, 2012; BRIDA et al., 2017). A caracterização de genótipos de trigo com base no número de galhas presentes nas raízes, em alguns casos, torna a avaliação inconsistente, como verificado no presente trabalho, devendo, portanto, ser evitada.

Ademais, mesmo que genótipos de trigo sejam classificados como resistentes quando testados sob densidades de inóculo ideais, em casa de vegetação, os mesmos genótipos também devem ser testados sob condições de campo. A razão disso é que, mesmo cultivares resistentes, a depender do tipo de mecanismo envolvido na resistência, pode apresentar redução do seu desenvolvimento inicial, quando na presença de elevadas populações do nematoide no solo. Geralmente mecanismos de resistência que envolvem reação de hipersensibilidade, com morte do tecido nutridor do nematoide para evitar seu desenvolvimento e reprodução, podem levar a essa situação (MARINI et al., 2016; SHIGUEOKA et al., 2019). Além disso, o nível de tolerância das cultivares também deve ser mensurado, para garantia de que as cultivares selecionadas para cultivo em áreas infestadas apresentarão bons níveis de produção mesmo na presença de elevadas densidades populacionais dos nematoides no solo (GRECO; DI VITO, 2009, p. 246-274). A variabilidade genética das populações dos nematoides também pode interferir na indicação de cultivares com resistência para cultivo em áreas infestadas, uma vez que já foram relatadas populações virulentas em cultivares com genes de resistência para

espécies de *Meloidogyne* (CARNEIRO; ALMEIDA, 2000, p. 43-48; DAVIS et al., 1996; SHIGUEOKA, 2017).

Portanto, a indicação de que o cultivo de trigo pode ser realizado em áreas infestadas por *M. javanica* e *M. incognita*, como indicado por Moresco (2016), em função da resistência dessa cultura a ambas as espécies de nematoide, é temerária. Inclusive há sugestão de que a cultura do trigo possa ser melhor explorada em sistemas de rotação de culturas para redução populacional desses nematoides (BRIDA, 2012). Antes da adoção de genótipos de trigo em áreas infestadas por nematoides, são necessárias avaliações criteriosas da sua reação a esses patógenos, evitando-se seu aumento populacional no solo para cultivos subsequentes.

3.6 Conclusões

Os genótipos de trigo são suscetíveis a *M. javanica*, exceto TBIO Sossego que apresenta reação de resistência. Para *M. incognita*, todos os genótipos testados foram suscetíveis ao nematoide. Isso indica que genótipos suscetíveis a ambas as espécies de nematoide do gênero *Meloidogyne* não podem ser cultivados em áreas infestadas com os fitopatógenos.

4 CAPÍTULO II

Ação de nematicidas microbiológicos aplicados via tratamento de sementes de trigo no controle de *Meloidogyne javanica*

4.1 Resumo

A cultura do trigo tem sido alternativa no sistema de rotação e/ou sucessão de culturas podendo servir para o manejo de *Meloidogyne javanica*, associado ao controle biológico, para suprimir o nível populacional do nematoide no solo. Poucas informações estão disponíveis a respeito da interação entre agentes microbianos e a cultura do trigo no manejo de *M. javanica*. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de nematicidas microbiológicos comerciais aplicados via tratamento de sementes em cultivar de trigo suscetível para controle de *M. javanica*. Para isso avaliou-se a penetração de juvenis de *M. javanica* e a multiplicação do nematoide, nas raízes das plantas. O desenvolvimento das plantas também foi avaliado. Os tratamentos foram *Bacillus firmus*, *B. subtilis* + *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum*, *Trichoderma harzianum* e as testemunhas sem tratamento de sementes com e sem inoculação do nematoide. O delineamento experimental foi completamente casualizado, com seis ou sete repetições, respectivamente, para os testes de penetração e multiplicação do nematoide. Para ambas as avaliações, cinco dias após a semeadura, depositou-se 2000 ovos do nematoide em cada vaso contendo uma planta. Aos dez dias após a inoculação avaliou-se a penetração de juvenis nas raízes. Todos os tratamentos, exceto *B. firmus*, apresentaram o número de nematoides inferior à testemunha. A multiplicação do nematoide foi avaliada aos 60 e 69 dias após a inoculação. Os tratamentos que melhor suprimiram a multiplicação do nematoide foram *T. harzianum* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*. *T. harzianum* também proporcionou melhor desenvolvimento das plantas. O potencial de microrganismos no manejo de *M. javanica* na cultura do trigo é reconhecido.

Palavras-chave: 1. Agentes de biocontrole. 2. Controle biológico. 3. Estratégias de manejo. 4. Nematoide-das-galhas. 5. *Triticum aestivum*.

4.2 Introdução

As plantas de cobertura exercem papel importante na supressão populacional de fitonematoides. Isso porque os resíduos dessas plantas são incorporados ao solo como matéria orgânica podendo favorecer a proliferação dos microrganismos com habilidades

saprobílicas, antagonistas a nematoides (SINGH et al., 2019; TIMPER; STRICKLAND; JAGDALE, 2021). A cultura do trigo tem sido importante alternativa no sistema de rotação e/ou sucessão de culturas em algumas regiões de cultivo brasileiras, favorecendo a cobertura do solo e incrementando os níveis de matéria orgânica, podendo inclusive ser indicado para o manejo dos nematoides-das-galhas, como *M. javanica* (MORESCO, 2016), desde que as cultivares selecionadas sejam resistentes a esse fitopatógeno.

Para incrementar os sistemas de produção e como uma estratégia de manejo de nematoides, o ideal seria o uso de uma cultura resistente ao fitopatógeno que, associada a outras ferramentas de manejo, como o controle biológico, venha interferir na sua multiplicação e infestação do solo, interrompendo seu ciclo de desenvolvimento (COLAGIERO; ROSSO; CIANCIO, 2018; TEREFE; TEFERA; SAKHUJA, 2009). Como os agentes microbianos de controle biológico de nematoides no Brasil são registrados por alvo biológico e não por cultura (AGROFIT, 2021), a adoção em culturas onde não há disponibilidade de cultivares resistentes ou nematicidas químicos, tem aumentado.

Por isso, o controle biológico torna-se importante ferramenta que pode ser utilizada em associação ao controle cultural ou genético de nematoides (ABBAS et al., 2019; GOPALAKRISHNAN et al., 2015). Dentro deste contexto, poucas informações estão disponíveis a respeito da interação entre agentes microbianos de controle e a cultura do trigo no manejo de *M. javanica*, uma das espécies do gênero *Meloidogyne* mais comumente encontradas nos sistemas agrícolas em todo o mundo, considerada um dos principais problemas fitossanitários de diversas culturas (DALLA CORTE et al., 2014; KARURI et al., 2017).

Neste trabalho testou-se a hipótese de que a aplicação de pelo menos um bionematicida via tratamento de sementes de trigo reduz a densidade populacional de *M. javanica*, considerando-se os diferentes mecanismos de ação e as eficiências dos microrganismos em suprimir a população de *M. javanica*. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de diferentes nematicidas microbiológicos comerciais aplicados via tratamento de sementes em cultivar de trigo suscetível para controle de *M.*

javanica, em condições de casa de vegetação. Para isso, verificou-se a penetração de juvenis de *M. javanica* em raízes de plantas tratadas e não tratadas com os nematicidas microbiológicos, além do fator de reprodução do nematoide nos diferentes tratamentos.

4.3 Material e Métodos

O genótipo de trigo IPR Catuara foi selecionado devido à sua suscetibilidade a *M. javanica* e à sua representatividade no mercado de sementes de genótipos de trigo. Os nematicidas microbiológicos utilizados no tratamento de sementes de trigo IPR Catuara e suas respectivas doses estão citados no Quadro 1.

Quadro 1 – Nematicidas microbiológicos aplicados ao tratamento de sementes (TS) de trigo IPR Catuara. Londrina, 2020

Princípio ativo	Concentração	Nome comercial	Dose comercial (p.c.) (118 Kg semente) ¹	Volume utilizado (g semente) ²
<i>Bacillus firmus</i> linhagem I-1582	4,8 x 10 ⁹ UFC/mL ³	Votivo Prime [®]	50 mL	0,5 µl
<i>B. subtilis</i> linhagem FMCH002(DSM32155) + <i>B. licheniformis</i> linhagem FMCH001(DSM32154)	1,0 x 10 ¹¹ UFC/g 1,0 x 10 ¹¹ UFC/g	Presence [®]	150 g	1,5 mg
<i>B. subtilis</i> linhagem UFPEDA 764	3 x 10 ⁹ UFC/mL	Rizos [®]	2 mL	2 µl
<i>Pochonia chlamydosporia</i> cepa Pc 10	5,2 x 10 ⁷ UFC/g	Rizotec [®]	250 g	2,11 mg
<i>Purpureocillium lilacinum</i> Isolado UEL PAE 10	7,5x10 ⁹ UFC/g	Nemat [®]	50 g	0,5 mg
<i>Trichoderma harzianum</i> Isolado IBLF006	1 x 10 ¹⁰ UFC/g	Ecotrich [®]	250 g	2,1 mg

Fonte: Dados do autor, de acordo com as formulações indicadas pelos fabricantes dos produtos.

¹Dose comercial (p.c.) com base no peso de sementes de trigo cultivar IPR Catuara por ha (118 Kg/ha).

²Volume utilizado nos experimentos por grama de semente (g semente).

³UFC: Unidade Formadora de Colônia (número de células bacterianas ou fúngicas viáveis, por mL ou g).

Esta pesquisa foi explicativa experimental, do tipo associação com interferência, com abordagem quantitativa. Foram avaliados seis nematicidas microbiológicos utilizados via tratamento de sementes de trigo cultivar IPR Catuara. Para verificação da penetração de juvenis de *M. javanica* no sistema radicular do trigo, foram avaliados sete tratamentos (seis nematicidas microbiológicos e uma testemunha, sem nematicida, mas

com inoculação do nematoide), enquanto para verificação da multiplicação do nematoide, oito tratamentos (seis nematicidas microbiológicos, uma testemunha sem nematicida e com inoculação do nematoide e uma testemunha sem nematicida e sem nematoide). O delineamento experimental foi completamente casualizado, com seis ou sete repetições, respectivamente para os testes de penetração e multiplicação do nematoide. As unidades experimentais foram os vasos de plástico com capacidade para 500 mL, contendo uma planta de trigo, para os testes de penetração do nematoide. Para avaliação da multiplicação do nematoide, as unidades experimentais foram os vasos de isopor com capacidade para 945 mL, contendo uma planta de trigo.

A pesquisa foi desenvolvida no município de Londrina, Paraná, em casa de vegetação do Laboratório de Nematologia do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-PR) (23° 21' 20" S, 51° 09' 58,2" W, altitude de 610 m), durante os meses de maio a agosto de 2020.

O inóculo de *M. javanica* foi obtido a partir de população pura multiplicada em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) cv. Santa Clara, mantidas em casa de vegetação em temperatura média de 30 °C. Aos sessenta dias após a inoculação (DAI) das plantas de tomateiro, os nematoides foram extraídos dos sistemas radiculares pelo método de Boneti e Ferraz (1981). As raízes parasitadas foram cortadas em pedaços de aproximadamente 2,0 cm e trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante 30 segundos obtendo-se uma suspensão. Esta suspensão foi vertida sobre conjunto de peneiras sobrepostas de, respectivamente, 230 e 500 Mesh, lavada com jatos de água corrente para retirada do hipoclorito de sódio e recolhida em béquer. O inóculo foi quantificado em microscópio de luz com auxílio de câmara de Peters.

As sementes de trigo tratadas previamente com os nematicidas microbiológicos (Quadro 1) e as sementes correspondentes aos tratamentos controle foram semeadas em vasos de isopor contendo uma mistura de areia e solo (3,5:0,5) previamente esterilizada por calor seco (120 °C/ 5 horas). A adubação inicial foi realizada acrescentando-se 3 g de Osmocote® por vaso (15% N, 9% P₂O₅, 12% K₂O, 1% Mg, 2,3% S, 0,05% Cu, 0,45% Fe, 0,06% Mn, 0,02% Mo).

Cinco dias após a semeadura, realizou-se a inoculação dos nematoides, pela deposição de 2 mL da suspensão previamente calibrada, contendo 1000 ovos do nematoide por mL (Pi: População inicial), totalizando 2000 ovos para cada unidade experimental. A irrigação foi realizada diariamente, conforme as condições climáticas e exigências do estágio fenológico da cultura. A temperatura de cultivo das plantas foi de 21 a 28 °C. O experimento foi repetido para confirmação dos resultados.

Aos 10 DAI, as raízes das plantas correspondentes às seis repetições de cada tratamento foram avaliadas, determinando-se a penetração do nematoide nas raízes de trigo para determinação do número de nematoides presentes no interior das raízes, após coloração do sistema radicular. Com isso, foram submetidas ao processo de coloração em fucsina ácida (BYRD; KIRPATRICK; BARKER, 1983), para posterior mensuração do número de indivíduos de *M. javanica* presentes no interior das raízes. Após lavagem em água corrente, as raízes foram pesadas para posterior clarificação. Estas foram submersas em béquer contendo solução de hipoclorito de sódio 2,5% + água (3:5, v:v), durante 6 min. Para melhor clarificação, as raízes foram agitadas com auxílio de bastão de vidro. Em seguida, sobre peneira de malha de nylon (500 mesh de abertura) evitando-se a perda de pedaços radiculares, procedeu-se a lavagem em água corrente para retirada de quaisquer resíduos de hipoclorito de sódio que pudessem interferir no processo de coloração. Posteriormente, as raízes foram submersas em béquer com água por 15 min, com agitação esporádica. Dado o tempo, a água do béquer foi descartada e as raízes foram lavadas novamente em água corrente, buscando-se remover completamente o hipoclorito de sódio. Para a coloração, as raízes foram transferidas para um béquer contendo a solução corante composta por 30 mL de água + 1 mL de fucsina ácida e levadas ao forno micro-ondas para fervura por 60 segundos. Após a fervura, as raízes permaneceram em repouso na solução corante por 5 min., sendo lavadas em seguida em água corrente e recobertas por glicerina acidificada. Após conclusão da etapa de coloração, todo o sistema radicular das plantas de cada unidade experimental foi montado em lâminas de microscopia para contagem dos nematoides, por meio da visualização em microscópio de luz utilizando-se a objetiva de 10 X. Com isso, obteve-se o número de nematoides presentes no interior do sistema radicular em cada unidade experimental.

A avaliação da multiplicação de *M. javanica* ocorreu aos 60 ou aos 69 DAI, respectivamente nos Experimento IX e X. Além da multiplicação do nematoide, verificou-se o desenvolvimento das plantas por meio das variáveis massa fresca da parte aérea (MFPA), que foi obtida separando-se esta estrutura do restante da planta para pesagem imediata; a massa fresca das raízes (MFR), obtida lavando-se as raízes por imersão em água para retirada do substrato aderido e secagem destas em papel absorvente, para pesagem imediata; e a massa seca da parte aérea (MSPA), obtida por meio da pesagem da parte aérea das plantas após sua secagem em estufa de ar forçado a 45 °C até a obtenção de peso constante.

Para avaliação da multiplicação de *M. javanica* nas raízes do trigo, empregou-se as variáveis fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raiz (Nema/g), calculadas após a extração dos nematoides das raízes (população final = Pf) pela metodologia de Boneti e Ferraz (1981). O FR foi calculado de acordo com a equação 1 e Nema/g foi calculado de acordo com a equação 2.

Os valores correspondentes à penetração do nematoide, sendo o número de nematoides presentes no interior das raízes do trigo, além dos dados das variáveis de desenvolvimento das plantas (MFPA, MSPA e MFR) e da multiplicação do nematoide (FR e Nema/g) foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk ($p=0,05$) para verificação da normalidade dos resíduos. As variáveis FR e Nema/g foram transformados usando-se o método de transformação logarítmica ($\log(\text{FR})$; $\log(\text{Nema/g})$). As médias de todas as variáveis analisadas foram comparadas pelo teste de Tukey ($p=0,05$). Para todas as análises utilizou-se o pacote Agricolae (MENDIBURU, 2015) do programa estatístico R 2.15.2 (R CORE TEAM, 2018).

4.4 Resultados

4.4.1 Penetração de juvenis de *M. javanica* nas raízes do trigo IPR Catuara

Em ambos os experimentos, a quantidade de nematoides presentes no interior das raízes de trigo na testemunha inoculada, sem nematicida microbiológico, foi maior em relação à quantidade observada nas raízes das plantas tratadas com nematicidas microbiológicos exceto no tratamento com *B. firmus*, cujos valores não diferenciaram da testemunha (Tabela 4).

Tabela 4 – Penetração de *Meloidogyne javanica* nas raízes de trigo IPR Catuara mensurada por meio do número de nematoides presentes no interior das raízes após coloração do sistema radicular com fucsina ácida. Londrina, 2020

Princípio ativo	Número de nematoides nas raízes	
	Experimento VII	Experimento VIII
Testemunha inoculada	400 a	429 a
<i>Bacillus firmus</i>	281 ab	241 ab
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i>	244 b	220 b
<i>B. subtilis</i>	232 b	212 b
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	213 b	197 b
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	200 b	189 b
<i>Trichoderma harzianum</i>	144 b	163 b

Fonte: Dados do autor

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4.4.2 Multiplicação de *M. javanica* em trigo IPR Catuara sob diferentes tratamentos microbiológicos

A multiplicação de *M. javanica* na testemunha inoculada foi adequada em ambos os experimentos, confirmando a viabilidade do inóculo e as boas condições ambientais durante o período experimental (Tabela 5). Em relação aos nematicidas microbiológicos, houve diferença significativa entre os tratamentos em ambos os experimentos (Tabela 5). Os tratamentos que apresentaram maior supressão populacional de *M. javanica* foram aqueles à base de *T. harzianum*, no Experimento IX e *B. subtilis* + *B. licheniformis* e *T. harzianum*, no Experimento X, de acordo com os valores significativamente menores de FR e Nema/g (Tabela 5). Os tratamentos à base de *P. chlamydosporia*, *B. firmus* e *P.*

lilacinum não diferiram significativamente da testemunha inoculada (Tabela 5). Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários de FR (Tabela 5). Os valores de Nema/g corroboram, de maneira geral, os resultados obtidos para a variável FR no Experimento IX, mas no Experimento X, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para essa variável (Tabela 5).

Tabela 5 – Multiplicação de *Meloidogyne javanica* nas raízes do trigo IPR Catuara mensurada por meio do Fator de reprodução (FR) e do número de nematoides por grama de raiz (Nema/g), sob diferentes tratamentos com nematicidas microbiológicos. Londrina, 2020

Princípio ativo	Experimento IX		Experimento X	
	FR	Nema/g	FR	Nema/g
Testemunha inoculada	17,19 a	5929 a	14,15 a	1463 a
<i>Bacillus firmus</i>	14,87 a	9511 a	16,00 a	1802 a
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i>	3,88 b	3048 ab	3,46 b	1233 a
<i>B. subtilis</i>	6,90 b	3120 ab	7,16 ab	1020 a
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	19,08 a	3189 a	13,28 a	1709 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	13,42 a	6557 a	11,29 ab	1448 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	1,11 c	794 b	1,90 b	1042 a

Fonte: Dados do autor

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

No Experimento IX, o tratamento à base de *T. harzianum* proporcionou melhor desenvolvimento das plantas, com os valores significativamente maiores de MFPA, MSPA e MFR (Tabela 6). Por outro lado, os tratamentos à base de *P. lilacinum* e *B. firmus* prejudicaram o desenvolvimento das plantas, pois os valores obtidos foram significativamente menores de MFPA e MFR; considerando-se a variável MSPA, apenas *P. lilacinum* apresentou menor efeito sobre o desenvolvimento deste atributo (Tabela 6). Os demais tratamentos corresponderam aos valores intermediários de MFPA, MSPA e MFR. Já no Experimento X, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para nenhuma das variáveis de desenvolvimento das plantas analisadas.

Tabela 6 – Massa fresca da parte aérea (MFPA), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa fresca de raiz (MFR) de trigo IPR Catuara sob diferentes tratamentos com nematicidas microbiológicos e inoculado com *Meloidogyne javanica*. Londrina, 2020

Princípio ativo	Experimento IX			Experimento X		
	(MFPA) (g)	(MSPA) (g)	(MFR) (g)	(MFPA) (g)	(MSPA) (g)	(MFR) (g)
Testemunha inoculada	12,28 ab	3,21 ab	11,97 ab	51,78 a	10,20 a	20,96 a
Testemunha absoluta	15,71 ab	3,86 ab	14,41 ab	49,64 a	11,94 a	21,68 a
<i>B. firmus</i>	5,14 b	2,21 ab	6,22 b	44,85 a	9,65 a	18,54 a
<i>B. subtilis</i> + <i>B. licheniformis</i>	11,86 ab	2,78 ab	10,98 ab	43,21 a	9,40 a	18,92 a
<i>B. subtilis</i>	11,08 ab	1,86 ab	9,58 b	41,85 a	9,39 a	20,39 a
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	14,71 ab	3,57 ab	12,74 ab	40,07 a	8,92 a	18,45 a
<i>Purpureocillium lilacinum</i>	6,07 b	0,93 b	6,93 b	39,50 a	8,58 a	17,42 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	22,71 a	4,28 a	20,09 a	45,21 a	10,44 a	23,78 a

Fonte: Dados do autor

Nota: Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

4.5 Discussão

O tratamento de sementes com os diferentes nematicidas microbiológicos avaliados reduziu a penetração de juvenis nas raízes das plantas de trigo. Entretanto, o tratamento à base de *B. firmus* não se diferenciou significativamente da testemunha inoculada, indicando menor eficiência deste tratamento na redução da penetração dos J2 de *M. javanica*. De maneira geral, o mecanismo principal pelo qual as espécies de *Bacillus* atuam no controle de nematoides é a proteção do sistema radicular contra a penetração dos J2 dos nematoides do gênero *Meloidogyne* (VLAMAKIS et al., 2013). Este efeito foi comprovado quando da utilização de *B. subtilis* isolado ou em mistura com *B. licheniformis*, neste trabalho. A menor eficiência demonstrada por *B. firmus*, em relação às outras espécies de *Bacillus* avaliadas, talvez possa ser explicada por alguma incompatibilidade desta espécie com as raízes do trigo, já que o exsudato da planta hospedeira pode interferir na colonização desse grupo de bactérias (HASHEM; TABASSUM; ABD_ALLAH, 2019). Os tratamentos com agentes fúngicos apresentaram menores taxas de penetração do nematoide, provavelmente devido ao parasitismo direto dos seus ovos. Como o inóculo foi composto em grande parte de ovos, provavelmente houve esse efeito de parasitismo de ovos, inviabilizando-os e impedindo que os juvenis eclodissem e penetrassem o sistema radicular das plantas.

Já em relação à multiplicação de *M. javanica*, nem todos os nematocidas microbiológicos utilizados foram eficientes em reduzir o FR do nematoide. Dessa forma, o tratamento à base de *T. harzianum* proporcionou maior redução do FR em ambos os experimentos (93,54% e 86,57%, respectivamente nos Experimentos IX e X). Embora a formulação comercial de *T. harzianum* utilizada não seja destinada à supressão populacional de nematoides, mas sim para o controle de fungo do solo (AGROFIT, 2021), sua atividade antagônica ficou evidente em *M. javanica*, quando utilizado via tratamento de sementes de trigo IPR Catuara. Supressão populacional de *P. brachyurus* em raízes de soja, em condições de casa de vegetação e de campo, foi observada por Dias-Arieira et al. (2018) após o tratamento de sementes com produto comercial formulado com *T. harzianum*, o mesmo isolado estudado neste trabalho. Isso sugere que o fungo agente de biocontrole apresenta resultados positivos na supressão populacional de nematoides.

Fungos do gênero *Trichoderma* atuam como agentes de biocontrole sobre os nematoides-das-galhas, *M. javanica* e *M. incognita*, sobre o nematoide-das-lesões-radiculares, *P. brachyurus*, e sobre o nematoide-do-cisto-da-batata, *Globodera pallida* (Behrens & Stone) (KIRIGA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2021; PEIRIS et al., 2020; CONTINA; DANDURAND; KNUDSEN, 2017). O gênero *Trichoderma* é reconhecido por sua ação antagônica sobre fungos, por meio do micoparasitismo, atuando também por meio da competição por espaço e nutrientes e antibiose pela produção de enzimas e metabólitos secundários, sendo que a influência destes mecanismos já é reconhecida na supressão populacional de nematoides (GOMES et al., 2015; KIRIGA et al., 2018; SILVA et al., 2019). A produção de enzimas e metabólitos secundários por fungos do gênero *Trichoderma* causa degradação da parede celular dos nematoides e induzem a resistência em plantas por meio de moléculas eliciadoras (GOMES et al., 2015; KIRIGA et al., 2018; SILVA et al., 2019).

Estudos mostram que a colonização de raízes de plantas por *Trichoderma* spp. reduz a infecção de fitonematoides nas plantas, como *M. javanica*, suprimindo sua reprodução e diminuindo os danos causados pelo seu parasitismo, na cultura do tomateiro (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016; YAN et al., 2021), abacaxizeiro (KIRIGA et al., 2018), grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) (SINGH et al., 2020). A ação antagonista de

espécies de fungos do gênero *Trichoderma* sobre *M. incognita* na cultura do tomateiro também é conhecida (KHAN et al., 2020; MARTINEZ-MEDINA et al., 2017; POCURULL et al., 2020), e ainda, sobre *P. brachyurus* em soja (MIAMOTO et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2019). O desempenho de fungos pertencentes ao gênero *Trichoderma* no controle do nematoide-das-galhas pode superar os resultados obtidos por meio da aplicação de nematicidas químicos e/ou compostos orgânicos (SINGH et al., 2020). As proteínas envolvidas no comportamento parasitário das espécies do gênero *Trichoderma* estão sendo estudadas, como a produção da proteína G, influenciando no antagonismo sobre fitonematoides (SHARON et al., 2007; ZEILINGER et al. 2005).

Redução da multiplicação de *M. javanica* também foi observada nos tratamentos à base de *B. subtilis*, utilizado de forma isolada, ou em consorciação entre *B. subtilis* + *B. licheniformis*. Além da provável interação entre os microrganismos e os exsudatos radiculares das plantas de trigo que pode ter dificultado a localização das raízes pelos nematoides, também pode ocorrer a indução de resistência sistêmica, por meio do contato direto destes microrganismos com os tecidos radiculares, ativando rotas metabólicas de resistência a doenças (BACH et al., 2016; MACHADO; KANEKO; PINTO, 2016, p. 287-312; MHATRE et al., 2019; RAMAMOORTHY et al., 2001). Resultados semelhantes foram encontrados por Colagiero, Rosso e Ciancio (2018), que relataram que bactérias do gênero *Bacillus* suprimiram a população de *M. incognita* em plântulas de tomateiro.

A bactéria *B. subtilis*, cuja formulação comercial tem como um dos organismos-alvo *M. javanica*, é um importante agente de biocontrole potencialmente ativo para controlar a multiplicação do nematoide. O contato desta bactéria com o fitopatógeno *in vitro* é capaz de inibir sua sobrevivência (DAS; WADUD; KHOKON, 2021). Ainda, *B. subtilis* promoveu o controle de outras espécies do gênero *Meloidogyne* em três ciclos de produção de genótipos de cana-de-açúcar suscetíveis, superando até mesmo a performance de moléculas químicas já efetivas para o controle dos nematoides (MAZZUCHELLI; MAZZUCHELLI; ARAUJO, 2020).

Neste sentido, o contato entre a bactéria com a raiz da planta hospedeira pode modificar a produção dos exsudatos radiculares, interferindo na orientação do nematoide em direção à raiz, reduzindo sua penetração nos tecidos (ABBAS et al., 2019; ABBASI et al., 2014). O nematoide, por sua vez, passa a desperdiçar suas reservas energéticas, culminando na sua morte (ARAUJO; SILVA; ARAUJO, 2002). Espécies de bactérias do gênero *Bacillus* também podem produzir os lipopeptídeos surfactinas, iturinas e fengicinas, já estudados quanto à sua atividade antagônica para uma ampla gama de fitopatógenos (ONGENA; JACQUES, 2007).

O desempenho da bactéria *B. subtilis* na supressão populacional de *M. javanica* neste trabalho pode ser devido, inclusive, à formação de biofilme, que é desencadeada pela proteína regulatória GltB identificada nesta espécie (ABBAS et al., 2019; ZHOU et al., 2016). Biofilme é uma conglomeração de microrganismos que funciona como uma barreira protetora entre suas células e a rizosfera da planta hospedeira (ZAIN et al., 2016). A presença do biofilme nas raízes das plantas visa sua proteção contra fitopatógenos, que ocorre devido à secreção de compostos antimicrobianos e pelo reconhecimento da planta em resposta à bactéria (VLAMAKIS et al., 2013). *B. subtilis* tem servido, inclusive, como um organismo modelo para estudar os mecanismos moleculares de formação de biofilme (VLAMAKIS et al., 2013). Assim como *B. subtilis*, *B. licheniformis* também é uma bactéria com habilidade para formar biofilme e produzir metabólitos que atuam na supressão de *M. javanica*, motivo pelo qual ambos os microrganismos são utilizados na forma de consorciação (ZAIN et al., 2016).

Neste trabalho, os resultados obtidos pela aplicação de *B. firmus* na supressão populacional de *M. javanica* contrapõe-se aos resultados obtidos quando da utilização de *B. subtilis* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*, já nos estágios iniciais de parasitismo do nematoide. Corroborando com os resultados apresentados neste trabalho, a formulação de *B. firmus* usada em campos de trigo infestados com *Pratylenchus* spp. e *Heterodera avenae* (Woll.) nos Estados de Oregon e Washington, foi ineficiente para controlar nematoides nos campos de trigo (SMILEY et al., 2012). Em trabalhos anteriores, efeito inibitório sobre a eclosão e mobilidade de juvenis de *M. incognita* infectando plantas de tomateiro foi exercido por isolados de *B. firmus* (TEREFE; TEFERA; SAKHUJA, 2009).

Tal efeito pode ser atribuído a substâncias nematicidas e/ou nematostáticas presentes nos produtos formulados com esta bactéria ou secretados por ela quando em contato com as raízes de determinadas plantas (SMILEY et al., 2012). Embora *B. firmus* seja conhecido por sua rápida colonização da rizosfera de raízes em desenvolvimento, competindo com os nematoides por exsudatos radiculares, reduzindo a atração de juvenis infecciosos para as raízes (SMILEY et al., 2012), esta bactéria não demonstrou interação positiva com as raízes das plantas de trigo, nas condições de casa de vegetação aqui testadas.

Os agentes de biocontrole do gênero *Bacillus* podem, ainda, induzir o mecanismo de resistência sistêmica por meio do contato direto destes microrganismos com os tecidos radiculares das plantas, inclusive pela competição por substratos (BACH et al., 2016; MACHADO; KANEKO; PINTO, 2016, p. 287-312; MHATRE et al., 2019; RAMAMOORTHY et al., 2001).

Neste trabalho também foi avaliada a atividade dos fungos *P. chlamydosporia* e *P. lilacinum*, aplicados em formulação comercial, sobre a supressão de *M. javanica* infectando as raízes do trigo. Embora a formulação comercial à base destes princípios ativos tenha como alvo a espécie de nematoide *M. javanica*, não foi observada ação supressiva de ambos os microrganismos sobre a população do nematoide, quando associados à cultura do trigo, de acordo com os resultados aqui obtidos. A performance de *P. lilacinum* já foi comprovada controlando a multiplicação de *M. incognita* em plantas de tomateiro e quiabeiro, aumentando, inclusive, a produtividade de ambas as culturas (KEPENEKCI et al., 2018; MUKHTAR; HUSSAIN; KAYANI, 2013). Isolados de *P. chlamydosporia*, quando em contato com plantas de tomateiro e alface, demonstraram ação antagonista sobre *M. javanica* (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2012; PODESTÁ et al., 2016).

Apesar da reconhecida capacidade parasitária de *P. lilacinum* e *P. chlamydosporia* sobre ovos de nematoides e seu sucesso como bons competidores na rizosfera, estes fungos apresentam variabilidade sobre o biocontrole e estabelecimento no solo (MUKHTAR; HUSSAIN; KAYANI, 2013). Isso revela que estas características como agentes de biocontrole são expressas quando os fungos encontram compatibilidade com

determinados microbiomas (MUKHTAR; HUSSAIN; KAYANI, 2013; RODRIGUEZ-KÁBANA et al., 1984).

Quando as plantas de trigo tratadas com os diferentes nematicidas microbiológicos foram avaliadas pelo seu desenvolvimento, verificou-se que apenas *T. harzianum* proporcionou melhor desenvolvimento das plantas no Experimento IX, efeito que não se repetiu no Experimento X. Ao contrário, *P. lilacinum* e *B. firmus* causaram efeito negativo, especialmente considerando-se as variáveis MFPA e MFR. Isso demonstra que nem todas as bactérias consideradas eficientes no controle dos nematoides-das-galhas serão também eficientes na promoção do crescimento de plantas, mesmo que possuam a característica de promoção de crescimento. Esse fato é fundamentado pela capacidade de biocontrole e de promoção de crescimento ser derivada de dois conjuntos independentes de caracteres, que podem estar presentes, juntos, eventualmente em algum clone ou linhagem específica (COLAGIERO; ROSSO; CIANCIO, 2018).

Espécies do gênero *Trichoderma*, como *T. harzianum*, podem incrementar o desenvolvimento de algumas espécies vegetais, como o abacaxizeiro (*Ananas comosus* (L.) Merrill), a soja, o tomateiro, além de aumentar o rendimento de grãos, como na cultura do grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.), aumentando também sua nodulação (KIRIGA et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2021; SINGH et al., 2020; YAN et al., 2021). Estas informações validam os resultados aqui encontrados, tendo em vista a performance do produto comercial formulado a partir de *T. harzianum* inibindo a multiplicação de *M. javanica* e interferindo positivamente no desenvolvimento das plantas de trigo.

Estudos com microrganismos visando o controle populacional de nematoides, especificamente *M. javanica*, tornam-se cada vez mais frequentes, com vistas à descoberta da capacidade supressora de diferentes espécies com atividade antagônica que possam ser utilizadas no controle biológico destes fitopatógenos (COLAGIERO; ROSSO; CIANCIO, 2018; VLAMAKIS et al., 2013). Estes primeiros resultados sobre diferentes princípios ativos em associação com as raízes das plantas de trigo IPR Catuara, sob condições de casa de vegetação, podem fornecer resultados confiáveis sobre a aplicabilidade do controle biológico sobre *M. javanica* na cultura. Porém, estudos futuros

com os mesmos princípios ativos precisam ser conduzidos sob condições de campo, para confirmação dos resultados.

4.6 Conclusões

Neste trabalho os tratamentos que expressivamente suprimiram a população de *M. javanica* foram aqueles à base de *T. harzianum* e *B. subtilis* + *B. licheniformis*. *T. harzianum* também incrementou o desenvolvimento das plantas.

Estes primeiros resultados sobre a aplicação de diferentes princípios ativos em associação com as raízes das plantas de trigo IPR Catuara, sob condições de casa de vegetação, podem fornecer resultados confiáveis com relação a sua aplicabilidade para o controle de *M. javanica* na cultura. Porém, estudos futuros com os mesmos princípios ativos precisam ser conduzidos sob condições de campo, para confirmação dos resultados. E ainda, são necessários estudos para compreender os mecanismos de interação entre os agentes de biocontrole com os exsudatos das raízes das plantas de trigo, que pode ou não desencadear a eficiência do controle biológico de *M. javanica*.

5 CAPÍTULO III

Ação de nematicidas microbiológicos no controle de *Meloidogyne javanica* em sistema de sucessão trigo-soja

5.1 Resumo

A rotação/sucessão de culturas no sistema de plantio direto com o trigo visa melhorar as características físicas, químicas e microbiológicas do solo, melhorando a produtividade da cultura sucessora, como a soja. Ela também auxilia no controle de pragas, como *Meloidogyne javanica*, que causa danos e perdas em diversas culturas. O controle cultural associado ao controle biológico podem ser estratégias de manejo deste nematoide, porém, ainda são escassos os estudos envolvendo os microrganismos, as plantas e o nematoide. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de dois nematicidas microbiológicos utilizados via tratamento de sementes de trigo e de soja para controle de *M. javanica*. Os experimentos foram conduzidos em esquema fatorial 4x2 em delineamento completamente casualizado com cinco repetições. Os tratamentos foram *Bacillus firmus* e *Pochonia chlamydosporia* aplicados em tratamento de sementes de genótipo de trigo e de soja e as testemunhas sem tratamento de sementes, com e sem inoculação do nematoide. As unidades experimentais foram vasos de plástico contendo cinco plantas de trigo ou de soja. Sete dias após a semeadura do trigo depositou-se 2000 ovos do nematoide em cada vaso. Semeou-se a soja em sucessão ao trigo e aos 76 e 80 dias após a semeadura avaliou-se a multiplicação do nematoide na soja. O desenvolvimento da soja também foi avaliado. O melhor resultado quanto à supressão populacional de *M. javanica* foi observado quando ambas as culturas receberam tratamento à base de *P. chlamydosporia*, o que proporcionou também o desenvolvimento do sistema radicular da soja. Pode-se confirmar a efetividade do controle biológico sobre *M. javanica* no sistema de sucessão trigo-soja.

Palavras-chave: 1. Agentes de biocontrole. 2. Controle biológico. 3. Microrganismos. 4. Nematoide-das-galhas. 5. Estratégias de manejo.

5.2 Introdução

A rotação e a sucessão de culturas sob o sistema de plantio direto com espécies de cobertura como o trigo melhora as características físicas e químicas do solo, além de interferir positivamente no desenvolvimento e na produtividade da cultura cultivada em

sucessão, como a soja. As plantas de cobertura também ajudam a manter o equilíbrio nutricional do solo, aumentando a fertilidade e incrementando o conteúdo de matéria orgânica. Isso é devido a matéria seca formadas pelos restos culturais que antecedem a cultura principal, aumentando as comunidades microbianas da rizosfera, que tendem a melhorar as características biológicas do solo, favorecendo o sistema de sucessão trigo-soja (WANG et al., 2020). Consequentemente, isso ajudará no controle de doenças e pragas (FRANCHINI et al., 2007; LI et al., 2021; MOREIRA; MORAES; SCHROTH, 2019).

Dentre os principais patógenos presentes nos sistemas agrícolas destaca-se o nematoide-das-galhas *M. javanica*, que devido à sua polifagia e fácil disseminação, apresenta diversas limitações para o manejo (DALLA CORTE et al., 2014; KARURI et al., 2017). Uma das estratégias de manejo deste nematoide é o controle cultural associado ao controle biológico, porém, ainda são escassos os estudos sobre a interação entre os microrganismos agentes de biocontrole, as plantas e o nematoide, o que necessita ser melhor investigada (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016; MIAMOTO et al., 2016; NIRO et al., 2016).

Com relação ao controle cultural utilizando-se genótipos de trigo, são poucas as informações disponíveis sobre a reação de genótipos de trigo a *M. javanica*, o que limita o seu uso no sistema de sucessão trigo-soja visando o manejo desta espécie de nematoide. Além do mais, existe grande variação entre os genótipos estudados, sendo relatados exemplos de resistência e suscetibilidade na literatura (BRIDA, 2012; IBRAHIM; REZK; IBRAHIM, 1991; MORESCO, 2016; OLIVEIRA; MONTEIRO; FERRAZ, 1990). Neste sentido, novos estudos precisam ser conduzidos incluindo o controle biológico visando a supressão populacional de *M. javanica*, pois os agentes de biocontrole podem apresentar variabilidade em sua eficiência quando associados a diferentes espécies de plantas (ABBAS et al., 2019; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2012; PODESTÁ et al., 2016). Isso sugere que o mesmo microrganismo possa ter efeitos diferentes quando associado às raízes de trigo e de soja em sistema de sucessão. Neste trabalho testou-se a hipótese de que a aplicação de agentes de biocontrole em formulações comerciais inibe a multiplicação de *M. javanica* quando associados, pelo menos, a uma das duas espécies de

plantas aqui testadas. Por isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de dois nematicidas microbiológicos utilizados via tratamento de sementes de trigo e de soja para controle de *M. javanica*, em condições de casa de vegetação.

5.3 Material e Métodos

O genótipo de trigo IPR Catuara e o genótipo de soja BMX Bônus foram selecionados devido à sua suscetibilidade a *M. javanica*. Os nematicidas microbiológicos à base de *Bacillus firmus* e *Pochonia chlamydosporia* foram selecionados para o trabalho devido ao baixo controle do nematoide na cultura do trigo, conforme Resultados do Capítulo II, deste trabalho. Por isso tornou-se necessário verificar a eficiência de controle destes bionematicidas sobre *M. javanica*, na soja em sucessão ao trigo. As doses dos bionematicidas utilizados estão relacionadas na Tabela 7.

Tabela 7 – Nematicidas microbiológicos utilizados via tratamento de sementes de trigo IPR Catuara e de soja BMX Bônus

Princípio ativo	Nome comercial	Dose comercial	Volume utilizado
Dosagens utilizadas em trigo			
<i>Bacillus firmus</i> linhagem I-1582	Votivo Prime [®]	50 mL/100 Kg sementes	0,5 µl/g semente
<i>Pochonia chlamydosporia</i> cepa Pc 10	Rizotec [®]	250 g/118 Kg sementes ¹	2,11 mg/g semente
Dosagens utilizadas em soja			
<i>Bacillus firmus</i> linhagem I-1582	Votivo Prime [®]	50 mL/100 Kg sementes	0,5 µl/g semente
<i>Pochonia chlamydosporia</i> cepa Pc 10	Rizotec [®]	250 g/60 Kg sementes ²	23,26 mg/g semente

Fonte: Dados do autor, de acordo com as formulações indicadas pelos fabricantes dos produtos.

¹Dose do produto recomendada pelo fabricante para aplicação em sulco de semeadura, convertida para aplicação em tratamento de sementes com base no peso de sementes de trigo por ha (118 Kg/ha).

²Dose do produto recomendada pelo fabricante para aplicação em sulco de semeadura, convertida para aplicação em tratamento de sementes com base no peso de sementes de soja (60 Kg/ha).

A pesquisa foi explicativa experimental, do tipo associação com interferência, com abordagem quantitativa. A pesquisa foi explicativa experimental, do tipo associação com interferência, com abordagem quantitativa. Foram avaliados dois nematicidas microbiológicos utilizados via tratamento de sementes de trigo e de soja.

Para verificação da multiplicação do nematoide nas raízes das plantas de soja, os tratamentos foram avaliados em esquema fatorial 4x2 (sementes de trigo e soja tratadas

ou não com dois nematicidas microbiológicos, *B. firmus* e *P. chlamydosporia*). Quatro esquematizações foram estabelecidas para o cultivo da soja nos mesmos vasos de cultivo do trigo (em sucessão ao trigo) obedecendo a combinação de aplicação dos nematicidas microbiológicos para o tratamento de ambas as culturas: 1) trigo sem nematicida, sem nematoide - soja sem nematicida, sem nematoide (testemunha absoluta); 2) trigo sem nematicida, com nematoide – soja sem nematicida, com nematoide (testemunha inoculada), soja com *B. firmus*, com nematoide, soja com *P. chlamydosporia*, com nematoide; 3) trigo com *B. firmus*, com nematoide - soja sem nematicida, com nematoide, soja com *B. firmus*, com nematoide; 4) trigo com *P. chlamydosporia*, com nematoide – soja sem nematicida, com nematoide, soja com *P. chlamydosporia*, com nematoide. Para complementar a descrição dos tratamentos, o Quadro 2 está representado a distribuição de ambas as culturas, trigo e soja, tratadas ou não com nematicidas microbiológicos, para implantação dos experimentos. O delineamento experimental foi completamente casualizado, com cinco repetições. As unidades experimentais foram os vasos de plástico com capacidade para 3 L contendo cinco sementes de trigo ou cinco sementes de soja.

Quadro 2 – Esquematizações estabelecidas para o cultivo da soja nos mesmos vasos de cultivo do trigo (em sucessão ao trigo), obedecendo a combinação de aplicação dos nematicidas microbiológicos para o tratamento de ambas as culturas

Trigo	Soja
1) Trigo sem nematicida, sem nematoide.	1) Soja sem nematicida, sem nematoide (testemunha absoluta).
2) Trigo sem nematicida, com nematoide.	2) Soja sem nematicida, com nematoide (testemunha inoculada); 2) Soja com <i>B. firmus</i> , com nematoide; 2) Soja com <i>P. chlamydosporia</i> , com nematoide.
3) Trigo com <i>B. firmus</i> , com nematoide.	3) Soja sem nematicida, com nematoide; 3) Soja com <i>B. firmus</i> , com nematoide.
4) Trigo com <i>P. chlamydosporia</i> , com nematoide.	4) Soja sem nematicida, com nematoide; 4) Soja com <i>P. chlamydosporia</i> , com nematoide.

A pesquisa foi desenvolvida no município de Londrina, Paraná, em casa de vegetação do Laboratório de Nematologia do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-PR) (23° 21' 20" S, 51° 09' 58,2" W, altitude de 610 m), durante o ano de 2020. O cultivo do trigo ocorreu durante os meses de maio a setembro de 2020 e a soja

foi cultivada durante os meses de setembro a dezembro de 2020, em ambos os experimentos.

O inóculo de *M. javanica* foi obtido de população pura, multiplicada em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) cv. Santa Clara mantidas em casa de vegetação em temperatura média de 30 °C. Aos sessenta dias após a inoculação das plantas de tomateiro, os nematoides foram extraídos dos sistemas radiculares pelo método de Boneti e Ferraz (1981). As raízes parasitadas foram cortadas em pedaços de aproximadamente 2,0 cm e trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% durante 30 seg, obtendo-se uma suspensão. Esta suspensão foi vertida sobre conjunto de peneiras sobrepostas de, respectivamente, 230 e 500 Mesh, lavada com jatos de água corrente para retirada do hipoclorito de sódio e recolhida em béquer. O inóculo foi quantificado em microscópio de luz com auxílio de câmara de Peters.

Para condução dos experimentos, as sementes de trigo, tratadas previamente com os nematicidas biológicos (Tabela 7) e as sementes não tratadas, foram semeadas em vasos de plástico totalizando cinco sementes por vaso. Cada vaso continha uma mistura de areia e solo (3,5:0,5) esterilizada por calor seco (120 °C/ 5 horas). A adubação inicial foi realizada acrescentando-se 3 g de Osmocote® por vaso (15% N, 9% P₂O₅, 12% K₂O, 1% Mg, 2,3% S, 0,05% Cu, 0,45% Fe, 0,06% Mn, 0,02% Mo).

Sete dias após a semeadura, 2 mL da suspensão, previamente calibrada para 1000 ovos do nematoide (Pi: População inicial) por mL, foi depositada em cada unidade experimental, totalizando 2000 ovos por unidade experimental. A irrigação foi realizada diariamente conforme as condições climáticas e exigências do estágio fenológico da cultura. A temperatura de cultivo das plantas de trigo foi de 21 a 28 °C.

O trigo foi cultivado até o período para sua colheita (Experimento XI: 103 DAI; Experimento XII: 83 DAI). Após a colheita das plantas de trigo, cinco sementes de soja, tratadas e não tratadas com os nematicidas biológicos (Tabela 7) foram semeadas nos mesmos vasos que continham as plantas de trigo, seguindo a combinação previamente estabelecida (Quadro 2). As plântulas de soja não receberam inoculação adicional da

suspensão contendo o inóculo de *M. javanica*, mantendo-se a densidade populacional do fitopatógeno já existente na unidade experimental, por ocasião da inoculação nas plântulas de trigo. A irrigação foi realizada diariamente, conforme as condições climáticas e exigências do estágio fenológico da cultura. A temperatura de cultivo das plantas de soja foi de 27 a 43 °C. O experimento foi repetido para confirmação dos resultados.

A avaliação da multiplicação de *M. javanica* na soja ocorreu aos 76 dias após a semeadura (DAS), no Experimento XI, e aos 80 DAS, no Experimento XII. Para avaliação da multiplicação de *M. javanica* nas raízes da soja, empregou-se as variáveis FR e Nema/g, de acordo com a metodologia de Boneti e Ferraz (1981). Após a pesagem das raízes, estas foram submetidas ao processo de extração para posterior quantificação dos nematoides (Pf), para assim obter-se os valores correspondentes às variáveis; o FR foi calculado de acordo com a equação 1 e Nema/g foi calculado de acordo com a equação 2, descritas no Capítulo II deste trabalho.

Além da multiplicação do nematoide, verificou-se o desenvolvimento das plantas de soja por meio das variáveis massa fresca da parte aérea (MFPA), que foi obtida separando-se esta parte do restante da planta para pesagem imediata; massa fresca de raízes (MFR), obtida no momento da retirada das plantas das unidades experimentais, lavando-as por imersão em água para retirada do substrato aderido e secas em papel absorvente, para pesagem imediata; e massa seca de parte aérea (MSPA), obtida por meio da pesagem desta após sua secagem em estufa de ar forçado a 45 °C até a obtenção de peso constante.

Em ambos os experimentos, os dados das variáveis correspondentes à multiplicação de *M. javanica* (FR e Nema/g) foram submetidas ao teste de Shapiro Wilk ($p=0,05$) para verificação da normalidade dos resíduos, prosseguindo-se com a transformação dos dados pelo método de transformação logarítmica (\log (FR); \log (Nema/g)), seguidos do teste de comparações múltiplas (*False Discovery Rates*) ($p=0,05$) por meio de matrizes de contrastes. Os dados das variáveis correspondentes ao desenvolvimento da soja BMX Bônus (MFPA, MSPA e MFR) foram submetidas ao teste de Shapiro Wilk ($p=0,05$) para verificação da normalidade dos resíduos. Posteriormente

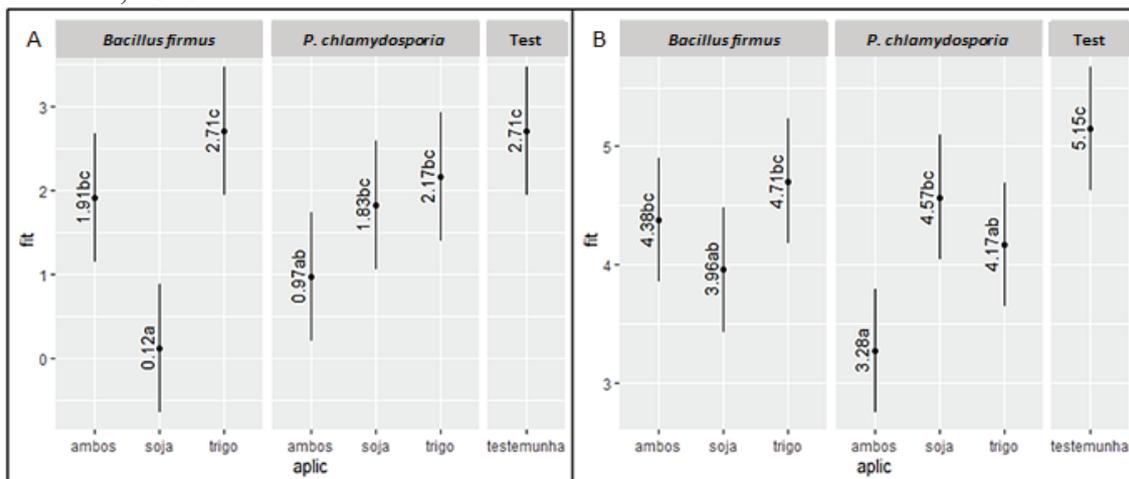
as médias foram comparadas pelo teste de comparações múltiplas (*False Discovery Rates*) ($p=0,05$) por meio de matrizes de contrastes. Em todas as análises, utilizou-se o pacote multcomp (BRETZ; HOTHORN; WESTFALL, 2011, p. 41-67) do programa estatístico R 2.15.2 (R CORE TEAM, 2018).

5.4 Resultados

A multiplicação de *M. javanica* nas raízes de soja foi avaliada em dois ensaios (Experimentos XI e XII, respectivamente) por meio das variáveis FR e Nema/g (Figuras 1 e 2). A testemunha inoculada (soja sem nematicida cultivada em vasos de trigo sem nematicida, com nematoide) permitiu o aumento populacional do nematoide em ambos os experimentos confirmando a viabilidade do inóculo e as adequadas condições ambientais.

Com relação à variável FR, no Experimento XI (Figura 1A), os valores significativamente maiores foram observados na testemunha inoculada com nematoide e nas plantas de soja sem nematicida cultivadas na sequência de trigo com *B. firmus*; o menor valor de FR foi observado no tratamento em que a soja tratada com *B. firmus* foi cultivada na sequência de trigo sem tratamento com nematicida, enquanto os demais tratamentos apresentaram valores intermediários de FR. No Experimento XII (Figura 1B), a testemunha inoculada diferenciou-se significativamente dos demais tratamentos, por apresentar o maior valor de FR. Neste caso, o menor valor de FR foi observado no tratamento em que a soja tratada com *P. chlamydosporia* foi cultivada na sequência de trigo tratado com *P. chlamydosporia*, enquanto os demais tratamentos apresentaram valores intermediários de FR.

Figura 1 – Fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne javanica* nas raízes de soja dos experimentos XI (A) e XII (B) tratadas e não tratadas com nematicidas microbiológicos. Londrina, 2020

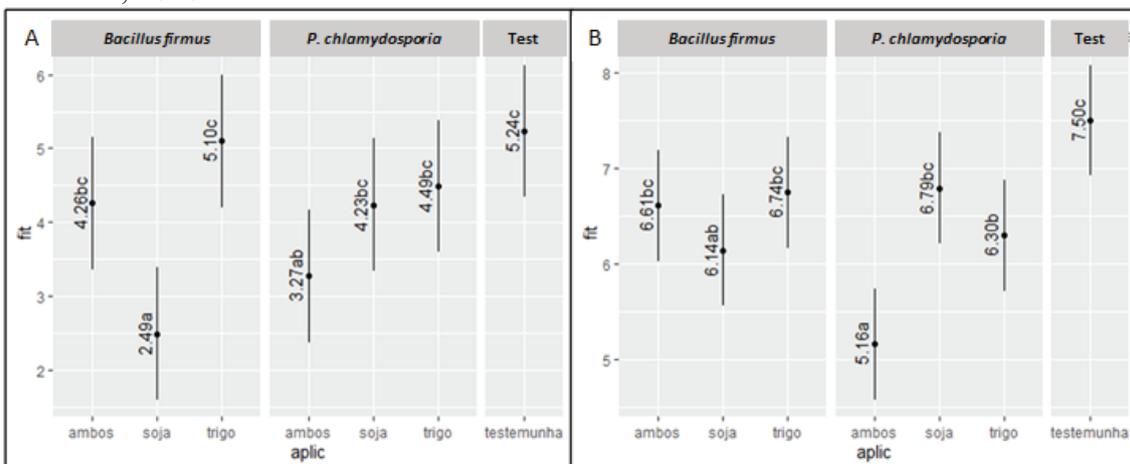


Fonte: Dados do autor

Nota: “Ambos” significa que o nematicida foi aplicado às sementes de trigo e de soja; “Soja”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de soja; “Trigo”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de trigo. “Testemunha”: sementes de soja e de trigo sem nematicida, com inoculação de *Meloidogyne javanica*.

Observou-se por meio da variável Nema/g, no Experimento XI (Figura 2A), que a testemunha inoculada e o tratamento em que as plantas de soja sem nematicida foram cultivadas na sequência de trigo com *B. firmus* apresentaram os valores significativamente maiores para essa variável, assim como observado para FR. O menor valor de Nema/g também foi observado no tratamento em que a soja com *B. firmus* foi cultivada na sequência de trigo sem tratamento nematicida, corroborando os resultados de FR; os demais tratamentos apresentaram valores intermediários de Nema/g. No Experimento XII (Figura 2B), os resultados obtidos para Nema/g também corroboraram aqueles de FR, ou seja, a testemunha inoculada diferenciou-se significativamente dos demais tratamentos, por apresentar o maior valor, enquanto o menor valor foi observado no tratamento em que a soja tratada com *P. chlamydosporia* foi cultivada na sequência de trigo tratado com *P. chlamydosporia*; os demais tratamentos também apresentaram valores intermediários de Nema/g.

Figura 2 – Número de nematoides por grama de raiz (Nema/g) nas plantas de soja nos experimentos XI (A) e XII (B) tratadas e não tratadas com nematicidas microbiológicos. Londrina, 2020

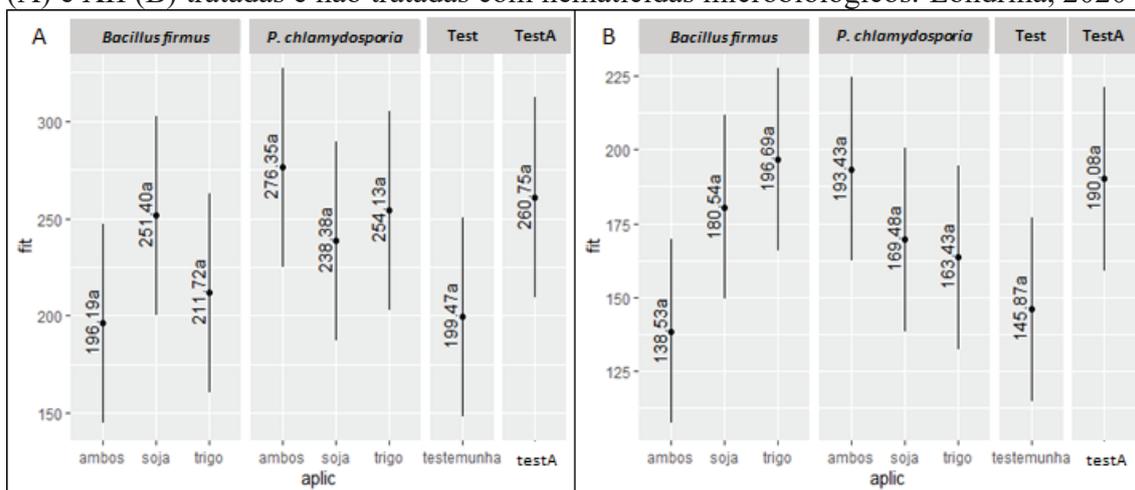


Fonte: Dados do autor

Nota: “Ambos” significa que o nematicida foi aplicado às sementes de trigo e de soja; “Soja”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de soja; “Trigo”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de trigo. “Testemunha”: sementes de soja e de trigo sem nematicida, com inoculação de *Meloidogyne javanica*.

O desenvolvimento das plantas de soja, avaliado pelas variáveis MFPA e MSPA (Figuras 3 e 4, respectivamente), em ambos os experimentos, evidenciou-se que não houve interferência dos tratamentos no crescimento da parte aérea das plantas, uma vez que não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para essas variáveis.

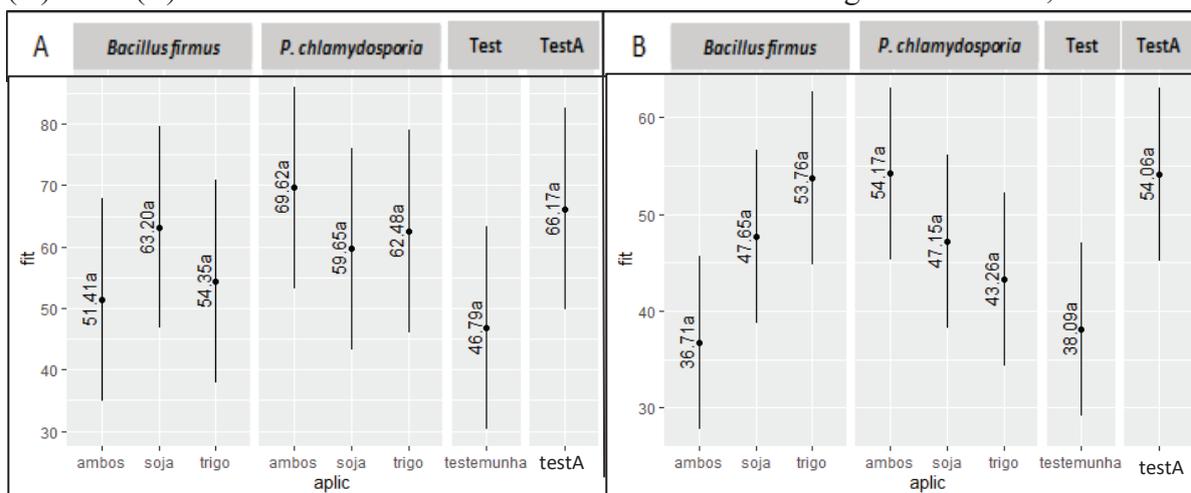
Figura 3 – Massa fresca da parte aérea (MFPA) das plantas de soja nos experimentos XI (A) e XII (B) tratadas e não tratadas com nematicidas microbiológicos. Londrina, 2020



Fonte: Dados do autor

Nota: “Ambos” significa que o nematicida foi aplicado às sementes de trigo e de soja; “Soja”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de soja; “Trigo”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de trigo. “Testemunha”: sementes de soja e de trigo sem nematicida, com inoculação de *Meloidogyne javanica*. “TestA”: sementes de soja e de trigo sem nematicida, sem inoculação de *M. javanica*.

Figura 4 – Massa seca da parte aérea (MSPA) das plantas de soja nos experimentos XI (A) e XII (B) tratadas e não tratadas com nematicidas microbiológicos. Londrina, 2020

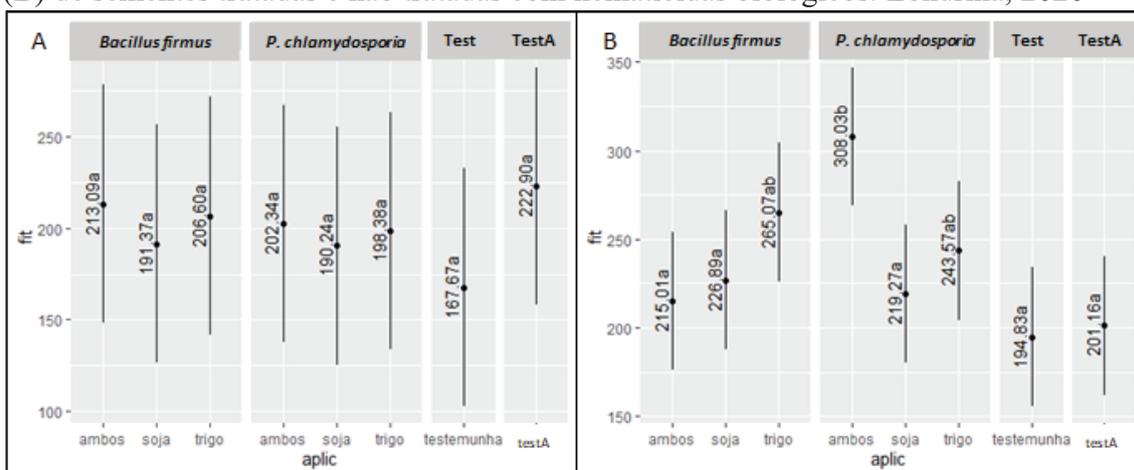


Fonte: Dados do autor

Nota: “Ambos” significa que o nematicida foi aplicado às sementes de trigo e de soja; “Soja”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de soja; “Trigo”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de trigo. “Testemunha”: sementes de soja e de trigo sem nematicida, com inoculação de *Meloidogyne javanica*. “TestA”: sementes de soja e de trigo sem nematicida, sem inoculação de *M. javanica*.

Já para a variável MFR, apesar de não ter sido evidenciada diferença significativa entre os tratamentos no Experimento XI (Figura 5A), no Experimento XII (Figura 5B) verificou-se que o tratamento em que *P. chlamydosporia* foi utilizada tanto no trigo quanto na soja proporcionou melhor desenvolvimento do sistema radicular, uma vez que o valor de MFR neste tratamento foi significativamente maior que dos demais tratamentos. *B. firmus* e *P. chlamydosporia* aplicados somente no trigo não diferiu dos demais tratamentos. Por outro lado, os tratamentos em soja que foi cultivada na sequência de trigo, tratado ou não com *B. firmus*, não tratado com *P. chlamydosporia* e as duas testemunhas (inoculada e absoluta) apresentaram os valores significativamente menores de MFR.

Figura 5 – Massa fresca de raiz (MFR) das plantas de soja dos experimentos XI (A) e XII (B) de sementes tratadas e não tratadas com nematicidas biológicos. Londrina, 2020



Fonte: Dados do autor.

Nota: “Ambos” significa que o nematicida foi aplicado às sementes de trigo e de soja; “Soja”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de soja; “Trigo”: refere-se ao nematicida aplicado apenas nas sementes de trigo. “Testemunha”: sementes de soja e de trigo sem nematicida, com inoculação de *Meloidogyne javanica*. “TestA”: sementes de soja e de trigo sem nematicida, sem inoculação de *M. javanica*.

5.5 Discussão

Neste trabalho verificou-se que a aplicação dos agentes de biocontrole no tratamento de sementes de trigo e soja apresentou resultados variáveis na redução da multiplicação de *M. javanica*, avaliada nas plantas de soja cultivadas em sucessão ao trigo. O melhor resultado quanto à redução populacional de *M. javanica* foi observado no tratamento em que ambas as culturas receberam o nematicida microbiológico à base de *P. chlamydosporia*.

Isolados de *P. chlamydosporia* podem variar em sua capacidade de colonizar a rizosfera de plantas infectadas com nematoides e parasitar seus ovos, produzindo enzimas como quitinases e proteases responsáveis pela degradação celular de ovos e juvenis (ESCUADERO et al., 2016). A capacidade de colonizar a rizosfera de determinada planta hospedeira para produzir clamidósporos e infectar ovos de nematoides, impedindo a eclosão de juvenis, também são parâmetros importantes que diferem isolados de *P. chlamydosporia* (PODESTÁ et al., 2016). Por isso, este fungo é um dos agentes de biocontrole mais estudados para a supressão populacional de nematoides fitoparasitas.

A performance de *P. chlamydosporia* tem sido explorada em associação com outras substâncias para otimizar a ação do fungo sobre *M. javanica*, como a aplicação de *P. chlamydosporia* associada com quitosana, um polissacarídeo encontrado no exoesqueleto de crustáceos, que aumentou a infectividade e eficácia do fungo suprimindo a população do nematoide, em experimentos *in vitro* (ESCUDERO et al., 2016). Isso porque este fungo helmintófago parasita ovos de nematoides por meio de seus apressórios, formados a partir de hifas indiferenciadas quando em contato com esses ovos. As proteases e quitinases presentes nesta estrutura são produzidas em maior quantidade na presença de quitosana (ESCUDERO et al., 2016).

Atendendo as informações apresentadas, pode-se considerar que a ação de *P. chlamydosporia* sobre *M. javanica*, quando em associação com as plantas de trigo, pode ser potencializada por meio de um agente ou substância adjuvante, melhorando sua ação sobre o fitopatógeno. Além do mais, de acordo com os resultados aqui expostos, o fungo não suprimiu a população do nematoide quando apenas uma das culturas recebeu o tratamento. Em tomateiros inoculados com *M. javanica* ou *M. incognita*, a aplicação de *P. chlamydosporia*, isolado ou em mistura com manipueira (50%), resíduo orgânico subproduto da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), proporcionou maior redução da população dos nematoides (CARVALHO, 2017). O efeito combinado de *P. chlamydosporia* com a adição de matéria orgânica também foi relatado por Figueiredo (2014), observando que a adição de materiais com maior teor de nitrogênio havia estimulado a atividade do fungo sobre ovos de *M. javanica* em tomateiro, enquanto materiais ricos em carbono exerceram efeito contrário. Tal conhecimento pode otimizar a utilização desse fungo para controle de nematoides em áreas infestadas, aliando materiais que estimulam a fase parasítica do agente de controle biológico (FIGUEIREDO, 2014). Portanto, para esta estratégia de manejo do nematoide utilizando-se o sistema de sucessão trigo-soja vinculado ao controle biológico com *P. chlamydosporia*, deve-se levar em consideração o tempo necessário para estabelecimento do fungo no solo, que provavelmente potencializará sua habilidade parasitária sobre os nematoides (DALLA PASQUA et al., 2020; PODESTÁ et al., 2016).

Além da redução populacional de *M. javanica*, *P. chlamydosporia* proporcionou melhor desenvolvimento do sistema radicular das plantas de soja que receberam o nematicida em sucessão ao trigo, que também recebeu o mesmo tratamento. Esse fungo é caracterizado pelo seu hábito endofítico no tecido vegetal, promovendo o crescimento e desenvolvimento de plantas (ZAVALA-GONZALEZ et al., 2015).

Por outro lado, *B. firmus* não demonstrou a mesma eficiência na redução da multiplicação de *M. javanica* nas plantas de trigo, tendo sido observado tal efeito quando a bactéria foi utilizada somente na cultura da soja. Embora a formulação comercial desenvolvida com *B. firmus* seja destinada ao controle de *M. javanica*, como um dos fitopatógenos alvo, a bactéria não demonstrou interação com as raízes das plantas de trigo nas condições de casa de vegetação aqui avaliadas.

Em geral, as bactérias do gênero *Bacillus* não são consideradas parasitas de nematoides, mas apresentam múltiplas formas de ação, que conferem elevada eficiência e versatilidade de uso (HASHEM; TABASSUM; ABD_ALLAH, 2019). Entre os principais mecanismos de ação destes organismos destacam-se a antibiose, a formação de biofilme na rizosfera das plantas, a competição por sítios de penetração, a alteração da rizosfera, a promoção de crescimento de plantas e a indução de resistência (HASHEM; TABASSUM; ABD_ALLAH, 2019). Dessa forma, sua ação primária é no rizoplano por meio da sua colonização e crescimento em associação às raízes, estimuladas pelos exsudatos radiculares (HASHEM; TABASSUM; ABD_ALLAH, 2019). Por isso, o controle de nematoides por este mecanismo de ação depende da eficiência da bactéria em colonizar rapidamente as raízes, de forma que no processo de penetração, os nematoides tenham que vencer as barreiras impostas pela bactéria (HASHEM; TABASSUM; ABD_ALLAH, 2019). A transformação dos exsudatos radiculares pela ação de espécies de *Bacillus* pode causar desorientação do nematoide no solo, pelo não reconhecimento do estímulo quimiotrópico da planta hospedeira, o que faz com que o nematoide continue movimentando-se no solo até morrer (JONES et al., 2013; KANCHISWAMY; MALNOY; MAFFEI, 2015; LACERDA et al., 2017; YANG et al., 2016).

Estes dados reforçam o conceito de que as características do microrganismo como agente de biocontrole são expressas quando há compatibilidade deste com o microbioma ao qual está inserido (MUKHTAR; HUSSAIN; KAYANI, 2013; RODRIGUEZ-KÁBANA et al., 1984). A compatibilidade entre a cepa do microrganismo, a espécie-alvo do fitopatógeno e a planta hospedeira é primordial para que se obtenha resultados satisfatórios no controle biológico (AL-HAZMI; TARIQJAVEED, 2016). Desse modo, pode-se recomendar a aplicação de *B. firmus* via tratamento de sementes de soja, visando suprimir a população de *M. javanica*, que já é relatada na literatura como uma eficiente ferramenta para reduzir as populações desse nematoide (CHINHEYA; YOBO; LAING, 2017).

Experimentos conduzidos em casa de vegetação mostraram efeito positivo no controle de *M. incognita* em algodão com a utilização de *B. firmus* via tratamento de sementes, especialmente aos 60 dias após a inoculação do nematoide. Houve redução de pelo menos 60% do FR em algodão cultivar FM966, tendo sido observado efeito também na proteção das raízes contra a penetração do nematoide (MACHADO et al., 2013; MATTOS et al., 2015). Eficiência de controle semelhante foi relatada para *M. incognita* em milho (OLIVEIRA et al., 2015) também para *M. javanica* em soja (CHINHEYA; YOBO; LAING, 2017).

A rotação/sucessão de culturas sob o sistema de plantio direto com espécies de cobertura apropriadas ajuda a manter o equilíbrio nutricional do solo, aumentando sua fertilidade e incrementando o conteúdo de matéria orgânica (FRANCHINI et al., 2007; MOREIRA; MORAES; SCHROTH, 2019). As plantas de cobertura incrementam as características físicas e químicas do solo, interferindo positivamente no desenvolvimento e na produtividade das plantas da cultura sucessora, como a soja, devido à cobertura morta e à matéria seca formadas pelos restos culturais que antecedem a cultura principal (WANG et al., 2020). Além do mais, o sistema de sucessão trigo-soja aumenta a diversidade das comunidades microbianas da rizosfera podendo interferir positivamente sobre o crescimento e o desenvolvimento da cultura principal (LI et al., 2021). Estas características, quando associadas ao correto uso dos microrganismos agente de biocontrole, avaliados neste trabalho, poderão auxiliar no controle de *M. javanica*. Por

isso, os resultados apresentados neste trabalho irão contribuir para a aplicação destas estratégias de manejo de *M. javanica* na cultura da soja nos sistemas agrícolas. Porém, estudos futuros com os mesmos princípios ativos precisam ser conduzidos sob condições de campo, para confirmação dos resultados. E ainda, estudos para compreender a relação entre os microrganismos agentes de biocontrole, o nematoide e a planta hospedeira torna-se primordial para que se obtenha sucesso quanto ao controle deste fitopatógeno.

5.6 Conclusões

O melhor tratamento que resultou na supressão populacional de *M. javanica* no sistema de sucessão trigo-soja foi observado quando as sementes de ambas as culturas foram tratadas com *P. chlamydosporia*. Este microrganismo também proporcionou melhor desenvolvimento do sistema radicular da cultura da soja. Com isso pode-se confirmar a efetividade do controle biológico sobre *M. javanica* no sistema de sucessão trigo-soja pelo fungo agente de biocontrole *P. chlamydosporia*.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo testou-se a reação de genótipos de trigo aos nematoides-das-galhas (*Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood e *M. incognita* (Kofoid e White) Chitwood), a eficiência de diferentes nematicidas microbiológicos comerciais aplicados no tratamento de sementes em cultivar de trigo suscetível para controle de *M. javanica* e finalmente, a eficiência de dois nematicidas microbiológicos utilizados no tratamento de sementes de trigo e de soja para controle de *M. javanica*, no sistema de sucessão trigo-soja.

Quanto à reação de genótipos de trigo aos nematoides do gênero *Meloidogyne*, todos os genótipos foram submetidos a concentrações intermediárias do inóculo. Isso certifica maior confiabilidade nos resultados em relação a testes realizados apenas com altas concentrações do inóculo.

Todos os genótipos de trigo, exceto TBIO Sossego, apresentaram reação de suscetibilidade a *M. javanica*. Por sua vez, quanto à reação a *M. incognita* todos os genótipos de trigo testados foram suscetíveis ao nematoide. Com estes resultados demonstra-se a importância dos testes de reação de genótipos de trigo aos nematoides antes de seu cultivo no campo, conferindo conhecimento e segurança aos produtores sobre a importância da seleção de genótipos para o manejo adequado dos nematoides-das-galhas.

Os genótipos testados nos Experimentos III e IV para reação a *M. javanica* também foram testados para reação a *M. incognita*. Têm-se o caso de ORS Agile, IPR Potyporã, IPR Panaty, CD 150, LG Oro, TBIO Sinuelo, ORS 1403, TBIO Toruk, ORS Madreperola, TBIO Sonic, TBIO Audaz, BRS 264 e TBIO Sossego. Porém, os resultados não foram apresentados devido à inadequação do desenvolvimento das plantas no

momento das avaliações. Provavelmente as condições ambientais não foram favoráveis para o desenvolvimento delas, o que poderia ter mascarado os resultados. Esse é um aspecto a ser considerado em trabalhos futuros, submetendo o mesmo germoplasma a testes de reação com ambas as espécies de nematoides do gênero *Meloidogyne*.

Com relação aos nematicidas microbiológicos testados para o controle de *Meloidogyne javanica* na cultura do trigo observou-se variabilidade com relação à sua performance quando associados ao genótipo de trigo suscetível ao nematoide, selecionado para os trabalhos. Por isso sugere-se que testes sejam realizados com diferentes genótipos de trigo para avaliar a interação entre os microrganismos e as plantas. Do mesmo modo, sugere-se que todos os nematicidas também sejam testados em sistema de sucessão trigo-soja, para verificação de sua eficiência em ambas as culturas, o trigo e a soja.

Os resultados dos estudos aqui apresentados trazem novidades, uma vez que se abordou temas ainda pouco explorados relacionados à cultura do trigo, como os testes de reação dos genótipos provenientes de obtentores distintos, submetidos a concentrações intermediárias do inóculo de *M. javanica*. Outro aspecto relevante relacionado a este trabalho é sobre o controle biológico de *M. javanica* na cultura do trigo e no sistema de sucessão trigo-soja. A vantagem atribuída aos resultados encontrados é a avaliação de diferentes nematicidas microbiológicos para controle de *M. javanica* em associação à cultura de cobertura, o trigo, e como esta associação pode interferir na cultura de sucessão, a soja, para o controle do nematoide.

A informação de caracteres como esses poderia proporcionar maior conhecimento aos obtentores, técnicos e produtores sobre o adequado uso dos genótipos de trigo e da aplicação do controle biológico, para manejo dos nematoides-das-galhas. Assim, a rotação ou sucessão de culturas com genótipos de trigo associada ao controle microbiológico pode ser uma estratégia de manejo para supressão populacional dos nematoides.

Sugere-se a continuidade dos trabalhos, por meio de:

a) estudos no campo, em condições comumente praticadas pelos agricultores, a fim de verificar a reação de genótipos de trigo aos nematoides-das-galhas;

b) testes dos diferentes nematicidas microbiológicos em sistema de sucessão trigo-soja para controle de *M. javanica* e *M. incognita*;

c) avaliação dos exsudatos radiculares do trigo para comparação entre o genótipo resistente e os genótipos suscetíveis;

d) testes bioquímicos que comprovem a interação entre os microrganismos agentes de biocontrole com os exsudatos radiculares do trigo e da soja.

7 CONCLUSÃO GERAL

A suscetibilidade dos genótipos de trigo a *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita* e seus diferentes níveis de suscetibilidade são indicativos de que estes genótipos não podem ser cultivados em áreas infestadas com estes fitopatógenos. Isso porque os genótipos promovem a multiplicação da densidade populacional dos fitopatógenos existente no solo, podendo causar danos e perdas na cultura do trigo e na cultura sucessora, geralmente a soja. As concentrações intermediárias do inóculo de *M. javanica* e *M. incognita* mostram-se ideais para a classificação de genótipos de trigo em resistente ou suscetível a ambas as espécies de nematoides do gênero *Meloidogyne*.

A supressão populacional de nematoides em áreas de cultivo, como *M. javanica*, pode ser realizada por meio do controle cultural utilizando-se genótipos de trigo, associado ao controle biológico. No entanto, os microrganismos agentes de biocontrole devem apresentar atividade supressora que possa ser explorada no controle de nematoides. E ainda, a compatibilidade entre o microrganismo agente de biocontrole e os exsudatos radiculares da planta hospedeira é primordial para que se obtenha eficiência de controle biológico do fitopatógeno. Dessa forma, são necessários estudos para compreender os mecanismos de interação entre os microrganismos agentes de biocontrole e os exsudatos das raízes das plantas de trigo e de soja, que pode consistir no fator determinante para a eficiência do controle biológico do nematoide-das-galhas.

REFERÊNCIAS

- ABALLAY, E.; ORDENES, P.; MARTENSSON, A.; PERSSON, P. Effects of rhizobacteria on parasitism by *Meloidogyne ethiopica* on grapevines. **European Journal of Plant Pathology**, v. 135, p. 137-145, 2013.
- ABBAS, A.; KHAN, S. U.; KHAN, W. U.; SALEH, T. A.; KHAN, M. H. U.; ULLAH, S.; ALI, A. Antagonist effects os strains of *Bacillus* spp. against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides. **Comptes Rendus Biologies**, v. 342, p. 124-135, 2019.
- ABBASI, M. W.; AHMED, N.; ZAKI, M. J.; SHUAKAT, D. S.; KHAN, D. Potential of *Bacillus* species against *Meloidogyne javanica* parasitizing eggplant (*Solanum melongena* L.) and induced biochemical changes. **Plant and Soil**, v. 375, n. 2, p. 159–173, 2014.
- ADAM, M.; HEUER, H.; HALLMANN, J. Bacterial antagonists of fungal pathogens also control root-knot nematodes by induced systemic resistance of tomato plants. **PloS One**, v. 9, n. 2, e90402, 2014.
- AGROFIT. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. 2021. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 08 jun. 2021.
- AHEMAD, M.; KIBRET, M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **Journal of King Saud University**, v. 26, p. 1-20, 2014.
- AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, p. 288–292, 2016.
- ALMEIDA, F. A. de; CARVALHO, R. M.; LEITE, M. L. T.; FONSECA, W. L.; PEREIRA, F. F. Reação de cultivares de soja aos nematoides das galhas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 59, n. 3, p. 228-234, 2016.
- ARAÚJO, F. F.; SILVA, J. F. V.; ARAÚJO, A. S. F. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, v. 32, n. 2, p. 197–203, 2002.

ARAÚJO, F. F.; BRAGANTE, R. J.; BRAGANTE, C. E. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 2, n. 2, p. 220-224, 2012.

ASMUS, G. L.; INOMOTO, M. M.; SAZAKI, C. S. S.; FERRAZ, M. A. Reação de algumas culturas de cobertura utilizadas no sistema plantio direto a *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 47-52, 2005.

BACH, E.; SEGER, G. D. S.; FERNANDES, G. C.; LISBOA, B. B.; PASSAGLIA, L. M. P. Evaluation of biological control and rhizosphere competence of plant growth promoting bacteria. **Applied Soil Ecology**, v. 99, p. 141-149, 2016.

BACKER, R.; ROKEM, S.; ILANGUMARAN, G.; LAMONT, J.; PRASLICKOVA, D.; RICCI, E.; SUBRAMANIAN, S.; SMITH, D. L. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1473, 2018.

BAILLY, A.; WEISSKOPF, L. The modulating effect of bacterial volatiles on plant growth: current knowledge and future challenges. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, p. 79–85, 2012.

BAUMGRATZ, E. I.; MERA, C. M. P.; FIORIN, J. E.; CASTRO, N. L. M.; CASTRO, R. Produção de trigo. A decisão por análise econômico-financeira. **Revista de política agrícola**, n. 3, p. 8-21, 2017.

BIRD, D. M.; OPPERMAN, C. H.; DAVIES, K. G. Interactions between bacteria and plant-parasitic nematodes: now and then. **International Journal for Parasitology**, v. 33, n. 11, p. 1269-1276, 2003.

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

BORGES, D. C.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; INOMOTO, M. M. Reação de genótipos de *Avena* spp. a *Meloidogyne incognita* raça 4. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 1, p. 24-28, 2009.

BRETZ, F.; HOTHORN, T.; WESTFALL, P. **Multiple comparisons using R**. 1. ed. CRC Press, 2011. 208 p.

BRIDA, A. L. de. **Reação de aveia branca, feijão, sorgo e trigo a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *M. enterolobii***. 2012. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

BRIDA, A. L.; CORREIA, E. C. S. S.; CASTRO, B. M. C.; ZANUNCIO, J. C.; WILCKENS, R. S. Oat, wheat, and sorghum genotype reactions to *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 49, n. 4, p. 386–389, 2017.

BYRD, D. W.; KIRPATRICK, T.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v. 15, p. 142- 143, 1983.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Distribution of *Meloidogyne* spp. on *Coffea* in Brazil: identification, characterization and intraspecific variability. In: ANTHONY, F.; RODRÍGUEZ, E. **Mejoramiento sostenible del café arabica por los recursos genéticos, asistido por los marcadores moleculares, com énfasis em la resistencia a los nemátodos**. Publicación Especial. Turrialba: CATIE/IRD, 2000. p. 43-48.

CARRARO-LEMES, C. F.; DEUNER, C. C.; SCHEFFER-BASSO, S. M.; MAZZETTI, V. C. G.; NOVAKOWISKI, J. H. Reaction of *Avena* spp. to different concentration levels of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* inoculum. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 1, p. 196-203, 2020.

CARRARO-LEMES, C. F.; DEUNER, C. C.; MACHADO, A. C. Z. Determining the impact of initial population densities of *Meloidogyne paranaensis* on phenotyping coffee genotypes to nematode resistance: a meta-analysis of studies from 2008 to 2019. **European Journal of Plant Pathology**, v. 161, p. 969-980, 2021.

CARVALHO, P. H. **Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em tomateiro**. 2017. 98f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

CAWOY, H.; WAGNER, B.; FICKERS, P.; ONGENA, M. *Bacillus*-based biological control of plant diseases. In: STOYTCHIEVA, M. (Ed.). **Pesticides in the modern world – pesticides use and management**. Rijeka: InTech, 2011. p. 272–302.

CHINHEYA, C. C.; YOBO, K. S.; LAING, M. D. Biological control of the rootknot nematode, *Meloidogyne javanica* (Chitwood) using *Bacillus* isolates, on soybean. **Biological Control**, v. 109, p. 37-41, 2017.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. 2018. **Perspectivas para a agropecuária. Safra 2017/2018**. Disponível em: <file:///C:/Users/Cl%C3%A1udia/Downloads/Perspectivas_para_a_Agropecuaria_-_V.5_-_Safra_2017-2018.pdf>. Acesso em: 01 mar. 2021.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. 2020. **Acompanhamento da safra Brasileira: grãos, quinto levantamento, fevereiro 2020**. Disponível em: <file:///C:/Users/Cl%C3%A1udia/Downloads/GrosZfevereiroZresumo%20(1).pdf>. Acesso em: 08 jun. 2021.

COLAGIERO, M.; ROSSO, L. C.; CIANCIO, A. Diversity and biocontrol potential of bacterial consortia associated to root-knot nematodes. **Biological Control**, v. 120, p. 11-16, 2018.

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

DAS, S.; WADUD, M. A.; KHOKON, M. R. Functional evaluation of culture filtrates of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* on the mortality and hatching of *Meloidogyne javanica*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, p. 1318-1323, 2021.

DALLA CORTE, G.; PINTO, F. F.; STEFANELLO, M. T.; GULART, C.; RAMOS, J. P. DE; BALARDIN, R. S. Technology application technology of pesticides for control of soybean nematodes. **Ciência Rural**, v. 44, n. 9, p. 1534-1540, 2014.

DALLA PASQUA, S.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; SANTOS, I.; REINER, D. A.; LOPES, E. A. Combined application of *Pochonia chlamydosporia* and solid by-product of the wine industry for the control of *Meloidogyne javanica*. **Applied Soil Ecology**, v. 147, p. 103397, 2020.

DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; PEREIRA, O. L.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol agents of *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection**, v. 42, p. 102-107, 2012.

DAVIS, E. L.; KOENNING, S. R.; BURTON, J. W.; BARKER, K. R. Greenhouse evaluation of selected soybean germplasm for resistance to North Carolina populations of *Heterodera glycines*, *Rotylenchulus reniformis*, and *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v. 28, p. 590-598, 1996.

DIAS, M. P.; BASTOS, M. S.; XAVIER, V. B.; CASSEL, E.; ASTARITA, L. V.; SANTAREM, E. R. Plant growth and resistance promoted by *Streptomyces* spp. in tomato. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 118, p. 479-493, 2017.

DIAS-ARIEIRA, C. R.; ARAÚJO, F. G. de; KANEKO, L.; SANTIAGO, D. C. Biological control of *Pratylenchus brachyurus* in soya bean crops. **Journal of Phytopathology**, v. 00, p. 1-7, 2018.

DI VITO, M.; GRECO, N.; CARELLA, A. The effect of *Meloidogyne incognita* and importance of the inoculum on yield of eggplant. **Journal of Nematology**, v. 18, p. 487-490, 1986.

DRUZHININA, I. S.; SEIDL-SEIBOTH, V.; HERRERA-ESTRELLA, A.; HORWITZ, B. A.; KENERLEY, C. M.; MONTE, E.; MUKHERJEE, P. K.; ZEILINGER, S.; GRIGORIEV, I. V.; KUBICEK, C. P. *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, p. 749–759, 2011.

ELLING, A. A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. **Phytopathology**, v. 103, p. 1092-1102, 2013.

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2010. 1. ed.** Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. (Documentos, 14).

EMBRAPA SOJA. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014. 1. ed.** Londrina: Embrapa Soja, 2013. (Documentos, 16).

ENGELBRECHT, G.; HORAK, I.; RENSBURGB, P. J. J.; CLAASSENS, S. *Bacillus*-based bionematicides: development, modes of action and commercialization. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 7, p. 629-653, 2018.

ESCOBAR, C.; BARCALA, M.; CABRERA, J.; FENOLL, C. Overview of Root-Knot Nematodes and Giant Cells. In: ESCOBAR, C.; FENOLL, C. **Advances in Botanical Research. Pant nematode interactions: a view on compatible interrelationships. 1. ed.** London: Academic Press, 2015. p. 1-32.

ESCUDERO, N.; FERREIRA, S. R.; LOPEZ-MOYA, F.; NARANJO-ORTIZ, M. A.; MARIN-ORTIZ, A. I.; THORNTON, C. R.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Chitosan enhances parasitism of *Meloidogyne javanica* eggs by the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia*. **Fungal Biology**, v. 120, p. 572-585, 2016.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância.** Manaus: Norma Editora, 2016. 251 p.

FERNANDO, W. G. D.; RAMARATHNAM, R.; KRISHNAMOORTHY, A. S.; SAVCHUK, S. C. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 37, p. 955–964, 2005.

FIGUEIREDO, L. D. de. **Atividade de *Pochonia chlamydosporia* sobre nematoides do gênero *Meloidogyne* na presença de matéria orgânica.** 2014. 53f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.

FRANCHINI, J. C.; CRISPINO, C. C.; SOUZA, R. A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various tillage and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil & Tillage Research**, v. 92, p. 18–29, 2007.

FRANCHINI, J. C.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; DEBIASI, H.; CONTE, O. Desempenho da soja em consequência de manejo de pastagem, época de dessecação e adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 12, p.1131-1138, 2015.

GHEYSEN, G.; FENOLL, C. Gene expression in nematode feeding sites. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 191-219, 2002.

GOMES, E. V.; COSTA, M. N.; PAULA, R. N.; AZEVEDO, R. R.; SILVA, F. L.; NORONHA, E. F.; ULHOA, C. J.; MONTEIRO, V. N.; CARDOZA, R. E.; GUTIÉRREZ, S.; SILVA, R. N. The Cerato-Platanin protein Epl-1 from *Trichoderma harzianum* is involved in mycoparasitism, plant resistance induction and self cell wall protection. **Scientific Reports**, v. 5, p. 17998, 2015.

GONZÁLEZ-ESTEBAN, A. L. Why wheat? International patterns of wheat demand, 1939-2010. Investigaciones de História Económica. **Economic History Research**, v. 13, p. 135-150, 2017.

GOPALAKRISHNAN, S.; SRINIVAS, V.; ALEKHYA, G.; PRAKASH, B.; KUDAPA, H.; RATHORE, A.; VARSHNEY, R. K. The extent of grain yield and plant growth enhancement by plant growth-promoting broad-spectrum *Streptomyces* sp. in chickpea. **SpringerPlus**, v. 4 n. 1, p. 31, 2015.

GRECO, N.; DI VITO, M. Population dynamics and damage levels. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, F. J. **Root-Knot Nematodes**. Wallingford: CAB International, 2009. p. 246-274.

GRIGOLLI, J. F. J.; ASMUS, G. L. Manejo de nematoides na cultura da soja. In: LOURENÇÃO, A. L. F.; GRIGOLLI, J. F. J.; MELOTTO, A. M.; PITOL, C.; GITTI, D. de C.; ROSCOE, R. (Ed). **Tecnologia e produção: Soja 2013/2014**. Maracaju: Fundação MS, 2014. p. 194-203.

HASHEM, A.; TABASSUM, B.; ABD_ALLAH, E. F. *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n. 6, p. 1291-1297, 2019.

IBRAHIM, I. K. A.; REZK, M. A.; IBRAHIM, A. A. M. Reactions of some gramineous and leguminous plant cultivars to *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. **Nematologia Mediterranea**, v. 19, n. 2, p. 331-333, 1991.

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

- KANCHISWAMY, C. N.; MALNOY, M.; MAFFEI, M. E. Chemical diversity of microbial volatiles and their potential for plant growth and productivity. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 151, 2015.
- KARURI, H. W.; OLAGO, D.; NEILSON, R.; MARARO, E.; VILLINGER, J. A survey of root knot nematodes and resistance to *Meloidogyne incognita* in sweet potato varieties from Kenyan fields. **Crop Protection**, v. 92, p. 114-121, 2017.
- KHAN, R. A. A.; NAJEEB, S.; MAO, Z.; LING, J.; YANG, Y.; LI, Y.; XIE, B. Bioactive secondary metabolites from *Trichoderma* spp. against phytopathogenic bacteria and root-knot nematode. **Microorganisms**, v. 8, p. 401, 2020.
- KEPENEKCI, I.; HAZIR, S.; OKSAL, E.; LEWIS, E. E. Application methods of *Steinernema feltiae*, *Xenorhabdus bovienii* and *Purpureocillium lilacinum* to control root-knot nematodes in greenhouse tomato systems. **Crop Protection**, v. 108, p. 31-38, 2018.
- KIRIGA, A. W.; HAUKELAND, S.; KARIUKI, G. M.; COYNE, D. L.; BEEK, N. V. Effect of *Trichoderma* spp. and *Purpureocillium lilacinum* on *Meloidogyne javanica* in commercial pineapple production in Kenya. **Biological Control**, v. 119, p. 27-32, 2018.
- KUMAR, A.; BAHADUR, I.; MAURYA, B.; RAGHUWANSHI, R.; MEENA, V.; SINGH, D.; DIXIT, J. Does a plant growth promoting rhizobacteria enhance agricultural sustainability? **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 9, p. 715–724, 2015.
- LACERDA, J. T. J. G. de; LACERDA, R. R. e.; ASSUNÇÃO, N. A.; TASHIMA, A. K.; JULIANO, M. A.; SANTOS JR, G. A. dos; SOUZA, M. D. de; BATISTA, J. L.; ROSSI, C. E.; GADELHA, C. A. A.; SANTI-GADELHA, T. New insights into lectin from *Abelmoschus esculentus* seeds as a kunitz-type inhibitor and its toxic effects on *Ceratitidis capitata* and root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. **Process Biochemistry**, v. 63, p. 96-104, 2017.
- LI, H.; ZHOU, Y.; XIN, W.; WEI, Y.; ZHANG, J.; GUO, L. Wheat breeding in northern China: Achievements and technical advances. **The Crop Journal**, v. 7, n. 6, p. 718-729, 2019.
- LI, T.; LI, Y.; SHI, Z.; WANG, S.; WANG, Z.; LIU, Y.; WEN, X.; MO, F.; HAN, J.; LIAO, Y. Crop development has more influence on shaping rhizobacteria of wheat than tillage practice and crop rotation pattern in an arid agroecosystem. **Applied Soil Ecology**, v. 165, p. 104016, 2021.
- MACHADO, A. C. Z.; MATTEI, D.; MARINI, P. M.; DADAZIO, T.; NAMUR, F. M. Efeito de Votivo (*Bacillus firmus*), utilizado via tratamento de sementes, no controle de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. In: XXXI CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2013, Cuiabá. **Anais...Cuiabá**, 2013. p. 61.

MACHADO, A. C. Z.; SILVA, S. A.; DORIGO, O. F.; RIEDE, C. R.; GARBUGLIO, D. D. Phenotypic variability and response of Brazilian oat genotypes to different species of root-knot and root-lesion nematodes. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 1, p. 111-117, 2015.

MACHADO, A. C. Z.; ARAÚJO FILHO, J. V. Broad -sense heritability and variance component estimates for *Pratylenchus brachyurus* resistance in Brazilian soybean genotypes. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, p. 390–396, 2016.

MACHADO, A. C. Z.; KANEKO, L.; PINTO, Z. V. Controle biológico. In: GALBIERI, R.; LAMAS, F. M.; SOARES, P. L. M.; DAVIS, R. F.; SUASSUNA, N. D.; INOMOTO, M. M.; MACHADO, A. C. Z. **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle**. Cuiabá, Instituto Mato-grossense do algodão, 2016. p. 287-312.

MARINI, P.; GARBUGLIO, D. D.; DORIGO, O.; MACHADO, A. C. Z. Histological characterization of resistance to *Meloidogyne incognita* in *Avena sativa*. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, n. 4, p. 203-209, 2016.

MARTINEZ-MEDINA, A.; FERNANDEZ, I.; LOK, G. B.; POZO, M. J.; PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M. Shifting from priming of salicylic acid- to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. **New Phytologist**, v. 213, p. 1363–1377, 2017.

MATEUS, M. A. F.; FARIA, C. M. D. R.; BOTELHO, R. V.; DALLEMOLEGIARETTA, R.; FERREIRA, S. G. M.; ZALUSKI, W. L. Extratos aquosos de plantas medicinais no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3, p. 730-736, 2014.

MATTOS, C. B. F. de; ZENI, F.; DADAZIO, T. S.; SILVA, S. A.; MACHADO, A. C. Z. Votivo® (*Bacillus firmus*) no controle de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. In: XXXII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2015, Londrina. **Anais...**Londrina, 2015, p.169-170.

McDONALD, A. H.; NICOL, J. M. Nematode parasites of cereals. In: LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J. (eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. CAB International, 2005, p. 131-191.

MHATRE, P. H.; KARTHIK, C.; KADIRVELU, K.; DIVYA, K. L.; VENKATASALAM, E. P.; SRINIVASAN, S.; RAMKUMAR, G.; SARANYA, C.; SHANMUGANATHAN, R. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A potential alternative tool for nematodes bio control. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 17, p. 119-128, 2019.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; MAZZUCHELLI, E. H. L.; ARAUJO, F. F. Efficiency of *Bacillus subtilis* for root-knot and lesion nematodes management in sugarcane. **Biological Control**, v. 143, p. 104185, 2020.

MEENA, V. S.; BAHADUR, I.; MAURYA, B. R.; KUMAR, A.; MEENA, R. K.; MEENA S. K.; VERMA, J. P. Potassium solubilizing microorganism in evergreen agriculture: an overview. In: MEENA, V. S.; MAURYA, B. R.; VERMA, J. P.; MEENA, R. S. (eds) **Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture**. Singapore: Springer, 2016, p. 1–20.

MENDIBURU, F. D. **Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R Package Version 1.2-3**. Disponível em: <<http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>> Acesso em: 25 fev. 2020.

MIAMOTO, A.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; PUERARI, H. H. Penetration and reproduction of *Meloidogyne javanica* on leguminous crops. **Journal of Phytopathology**, v. 164, n. 11-12, p. 890-895, 2016.

MIAMOTO, A.; SILVA, M. T. R.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; PUERARI, H. H. Alternative products for *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne javanica* management in soya bean plants. **Journal of Phytopathology**, v. 1, p. 1–6, 2017.

MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.; SCHROTH, G. Copper fertilization in soybean–wheat intercropping under no–till management. **Soil & Tillage Research**, v. 193, p. 133-141, 2019.

MORESCO, E. R. **Uso da cultura do trigo no controle de fitonematoides**. 1. ed. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2016. (Documentos, 367).

MUKHTAR, T.; HUSSAIN, M. A.; KAYANI, M. Z. Biocontrol potential of *Pasteuria penetrans*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* and *Trichoderma harzianum* Against *Meloidogyne incognita* in okra. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 52, n. 1, p. 66-76, 2013.

MUKHTAR, T.; AROOJ, M.; ASFAQ, M.; GULZAR, A. Resistance evaluation and host status of selected green gram germplasm against *Meloidogyne incognita*. **Crop Protection**, v. 92, p. 198-202, 2017.

NIRO, E.; MARZAIOLI, R.; CRESCENZO, S. de; D'ABROSCA, B.; CASTALDI, S.; ESPOSITO, A.; FIORENTINO, A.; RUTIGLIANO, F. A. Effects of the allelochemical coumarin on plants and soil microbial community. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 95, p. 30-39, 2016.

NIU, X. M.; ZHANG, K. Q. Mycology: An International Journal on Fungal Biology. **Mycology**, v. 2, n. 2, p. 59-78, 2011.

OLIVEIRA, C. M. G.; MONTEIRO, A. R.; FERRAZ, L. C. C. B. Reação de 18 cultivares de trigo a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 10, 1990.

OLIVEIRA, L. F. C.; BARBOSA, G. G.; MARINI, P. M.; SILVA, S. A.; MACHADO, A. C. Z. Votivo[®] (*Bacillus firmus*) no controle de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus brachyurus* em milho. In: XXXII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2015, Londrina. **Anais...**Londrina, 2015.

OLIVEIRA, L. F. C. de.; MACHADO, A. C. Z. Avaliação de genótipos de trigo a nematoides. In: RELATÓRIO DO PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IAPAR. ProICI/PIBIC/CNPq, 2016, Londrina. **Anais...**, Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 2017.

OLIVEIRA, K. C. L.; ARAÚJO, D. V.; MENESES, A. C.; SILVA, J. M.; TAVARES, R. L. C. Biological management of *Pratylenchus brachyurus* in soybean crops. **Caatinga**, v. 32, p. 41-51, 2019.

OLIVEIRA, C. M.; ALMEIDA, N. O.; CÔRTEZ, M. V. C.; LOBO JÚNIOR, M.; ROCHA, M. R.; ULHOA, C. J. Biological control of *Pratylenchus brachyurus* with isolates of *Trichoderma* spp. on soybean. **Biological Control**, v. 152, p. 104425, 2021.

ONGENA, M.; JACQUES, P. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 115–25, 2007.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededelingen Van De landbouwhogeschool Te Wageningen**, v. 66, n. 4, p.1-46, 1966.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. **Controle biológico no Brasil: Parasitóides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002. 635 p.

PEIRIS, P. U. S.; LI, Y.; BROWN, P.; XU, C. Fungal biocontrol against *Meloidogyne* spp. in agricultural crops: A systematic review and meta-analysis. **Biological Control**, v. 144, p. 104235, 2020.

POCURULL, M.; FULLANA, A. M.; FERRO, M.; VALERO, P.; ESCUDERO, N.; SAUS, E.; GABALDÓN, T.; SORRIBAS, F. J. Commercial formulations of *Trichoderma* induce systemic plant resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato and the effect is additive to that of the *Mi-1.2* resistance gene. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 3042, 2020.

PODESTÁ, G. S.; AMORA, D. X.; MAFFIA, L. A.; NASU, E. G. C.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Effect of time between soil infestation with *Pochonia chlamidosporia* and planting on the efficacy of the fungus in managing *Meloidogyne javanica*. **Crop Protection**, v. 90, p. 77-83, 2016.

R Core Team, 2018. **R: a Language and Environment for Statistical Computing**. Available. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>> Acesso em: 10 out. 2020.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRAKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction by systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, p. 1-11. 2001.

ROBERTS, P. A.; VAN GUNDY, S. D.; MCKINNEY, H. E. Effects of soil temperature and planting date of wheat on *Meloidogyne incognita* reproduction, soil populations, and grain yield. **Journal of Nematology**, v. 13, p. 338-345, 1981.

RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; MORGAN-JONES, G.; GODOY, G.; GINTIS, H. O. Effectiveness of species of *Gliocladium*, *Paecilomyces* and *Verticillium* for control of *Meloidogyne arenaria* in field soils. **Nematropica**, v. 14, p. 155–170, 1984.

SAHEBANI, N.; HADAVI, N. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 40, n. 8, p. 2016-2020, 2008.

SANTOS, T. F. S. **Metodologia de avaliação a *Pratylenchus brachyurus* e reação de genótipos de soja aos nematoides-das-galhas e das lesões**. 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Instituto de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Universidade Federal de Mato Grosso, Rondonópolis, 2012.

SANTOS, M. C. B.; LIMA, L. R. S.; NASCIMENTO, F. R.; NASCIMENTO, T. P. do; CAMERON, L. C.; FERREIRA, M. S. L. Metabolomic approach for characterization of phenolic compounds in different wheat genotypes during grain development. **Food Research International**, v. 124, p. 118–128, 2019.

SCHMITT, J.; BELLÉ, C. Reação de cultivares de soja a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita*. **Nematropica**, v. 46, n. 1, p. 76-80, 2016.

SERA, G. H.; SERA, T.; MATA, J. S. da; ALEGRE, C. R.; FONSECA, I. C. B.; ITO, D. S.; KANAYAMA, F. S.; BARRETO, P. C. Reaction of coffee cultivars Tupi IAC 1669-33 and IPR 100 to nematode *Meloidogyne paranaensis*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, p. 293-298, 2009.

SHAMLOO, M.; BABAWALE, E. A.; FURTADO, A.; HENRY, R. J.; ECK, P. K.; JONES, P. J. H. Effects of genotype and temperature on accumulation of plant secondary metabolites in Canadian and Australian wheat grown under controlled environments. **Scientific Reports**, v. 7, p. 9133, 2017.

SHARMA, R. D. Resistência de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) ao nematoide *Meloidogyne javanica* (Treub, 1985) Chitwood, 1949. **Nematologia Brasileira**, v. 5, p. 119-127, 1981.

SHARMA, I. P.; SHARMA, A. K. Physiological and biochemical changes in tomato cultivar PT-3 with dual inoculation of mycorrhiza and PGPR against root-knot nematode. **Symbiosis**, v. 71, p. 175–183, 2017.

SHARON, E.; CHET, I.; VITERBO, A.; BAR-EYAL, M.; NAGAN, H.; SAMUELS, G. J.; SPIEGEL, Y. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **European Journal of Plant Pathology**, v. 118, p. 247-258, 2007.

SHIGUEOKA, L. H.; SERA, G. H.; SERA, T.; SILVA, S. A.; FONSECA, I. C. B.; MACHADO, A. C. Z. Host reaction of arabica coffee genotypes derived from “Sarchimor” to *Meloidogyne paranaensis*. **Nematoda**, v. 3, 2016. eCC042016.

SHIGUEOKA, L. H. **Caracterização morfológica, bioquímica e fisiológica de populações de *Meloidogyne paranaensis***. 2017. 78f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

SHIGUEOKA, L. H.; DORIGO, O. F.; ARITA, L. Y.; FONSECA, I. C. B.; SILVA, S. A.; SERA, G. H.; MACHADO, A. C. Z. Histopathological characterization of *Coffea arabica* cultivar IPR 106 resistance to *Meloidogyne paranaensis*. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 5, p. 434-438, 2019.

SILVA, R. N.; MONTEIRO, V. N.; STEINDORFF, A. S.; GOMES, E. V.; NORONHA, E. F.; ULHOA, C. J. *Trichoderma*/pathogen/plant interaction in pre-harvest food security. **Fungal Biology**, v. 123, p. 565-583, 2019.

SINGH, R. P.; MANCHANDA, G.; MAURYA, I. K.; MAHESHWARI, N. K.; TIWARI, P. K.; RAI, A. R. *Streptomyces* from rotten wheat straw endowed the high plant growth potential traits and agro-active compounds. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 17, p. 507-513, 2019.

SINGH, B.; DEVINDRAPPAN; HAZRA, K. K.; SINGH, U.; GUPTA, S. Ecofriendly management of *Meloidogyne javanica* in chickpea (*Cicer arietinum* L.) using organic amendments and biocontrol agent. **Journal of Cleaner Production**, v. 257, p. 120542, 2020.

SMILEY, R. W.; GOURLIE, J. A.; RHINHART, K. E. L.; MARSHALL, J. M.; ANDERSON, M. D.; YAN, G. Influence of nematicides and fungicides on spring wheat in fields infested with soilborne pathogens. **Plant Disease**, v. 96, p. 1537-1547, 2012.

SWARUP, G.; SOSA-MOSS, C. Nematode parasites of cereals. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (eds). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CAB International, 1990. p. 109-136.

TEREFE, M.; TEFERA, T.; SAKHUJA, P. K. Effect of a formulation of *Bacillus firmus* on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infestation and the growth of tomato plants in the greenhouse and nursey. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 100, p. 94-99, 2009.

TIMPER, P.; STRICKLAND, T. C.; JAGDALE, G. B. Biological suppression of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* following winter cover crops in conservation tillage cotton. **Biological Control**, v. 155, p. 104525, 2021.

USDA. United States Department of Agriculture. **Foreign Agricultural Service. Databases: production, supply and distribution online.** 2017. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/home>> Acesso em: 08 jun. 2021.

VANCINI, C. **Caracterização de alelos de glutenina de alto peso molecular, influência sobre a qualidade de uso final de trigo no Brasil e análise de marcadores moleculares.** 2018. 112 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

VEJAN, P.; ABDULLAH, R.; KHADIRAN, T.; ISMAIL, S.; BOYCE, A. N. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability - a Review. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 573, 2016.

VLAMAKIS, H.; CHAI, Y.; BEAUREGARD, P.; LOSICK, R.; KOLTER, R. Sticking together: building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 3, p. 157-168, 2013.

WANG, L.; YAO, Y.; HE, Z.; WANG, D.; LIU, A.; ZHANG, Y. Determination of phenolic acid concentrations in wheat flours produced at different extraction rates. **Journal of Cereal Science**, v. 57, p. 67-72, 2013.

WANG, Z. T.; LI, T.; LI, Y. Z.; ZHAO, D. Q.; HAN, J.; LIU, Y.; LIAO, Y. C. Relationship between the microbial community and catabolic diversity in response to conservation tillage. **Soil & Tillage Research**, v. 196, p. 104431, 2020.

XIANG, N.; LAWRENCE, K. S.; KLOEPPER, J. W.; DONALD, P. A.; MCINROY, J. A. Biological control of *Heterodera glycines* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on soybean. **PLoS One**, v. 12, n. 7: e0181201, 2017.

YAN, Y.; MAO, Q.; WANG, Y.; ZHAO, J.; FU, Y.; YANG, Z.; PENG, X.; ZHANG, M.; BAI, B.; LIU, A.; CHEN, S.; AHAMMED, G. J. *Trichoderma harzianum* induces resistance to root-knot nematodes by increasing secondary metabolite synthesis and defense-related enzyme activity in *Solanum lycopersicum* L. **Biological Control**, v. 158, p. 104609, 2021.

YANG, G.; ZHOU, B.; ZHANG, X.; ZHANG, Z.; WU, Y.; ZHANG, Y.; LÜ, S.; ZOU, Q.; GAO, Y.; TENG, L. Effects of tomato root exudates on *Meloidogyne incognita*. **PLoS One**, v. 11, n. 4, p. e0154675, 2016.

ZAIN, S. N. M.; FLINT, S. H.; BENNETT, R.; TAY, H. S. Characterisation and biofilm screening of the predominant bacteria isolated from whey protein concentrate 80. **Dairy Science & Technology**, v. 96, p. 285-295, 2016.

ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; ESCUDERO, N.; LOPEZ-MOYA, F.; ARANDA-MARTINEZ, A.; ESPOSITO, A.; RICAÑO-RODRÍGUEZ, J.; NARANJO-ORTIZ, M. A.; RAMÍREZ-LEPE, M.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Some isolates of the nematophagous fungus *Pochonia chlamydosporia* promote root growth and reduce flowering time of tomato. **Annals of Applied Biology**, v. 166, n. 3, p. 472–483, 2015.

ZEILINGER, S.; REITHNER, B.; SCALA, V.; PEISSL, I.; LORITO, M.; MACH, R. L. Signal transduction by Tga3, a novel G protein a subunit of *Trichoderma atroviride*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 1591–1597, 2005.

ZHANG, Y., WANG, L., YAO, Y., YAN, J., HE, Z.H. Phenolic acid profiles of Chinese wheat cultivars. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 629-635, 2012.

ZHOU, C.; MA, Z. Y.; ZHU, L.; XIAO, X.; XIE, Y.; ZHU, J.; WANG, J. Rhizobacterial strain *Bacillus megaterium* bofc15 induces cellular polyamine changes that improve plant growth and drought resistance. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 5, e0156247, 2016.



PPGAgro
Programa de Pós-Graduação
em Agronomia