

X Jornada Acadêmica da Embrapa Soja

Resumos expandidos



ISSN 2176-2937

Julho, 2015

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 359

X Jornada Acadêmica da Embrapa Soja

Resumos expandidos

Paula Geron Saiz
Editora Técnica

Embrapa Soja
Londrina, PR
2015

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, acesso Orlando Amaral, Distrito de Warta
Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR

Fone: (43) 3371 6000

Fax: (43) 3371 6100

www.embrapa.br/soja

www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Embrapa Soja

Presidente: Ricardo Vilela Abdelnoor

Secretária-Executiva: Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite

Coordenador de Editoração: Vanessa Fuzinato Dall' Agnol

Bibliotecário: Ademir Benedito Alves de Lima

Membros eleitos: Alvadi Antonio Balbinot Junior, Claudine Dinali Santos Seixas, Fernando Augusto Henning, Eliseu Binneck, Liliâne Márcia Mertz-Henning, Maria Cristina Neves de Oliveira, Norman Neumaier e Vera de Toledo Benassi.

Supervisão editorial: *Vanessa Fuzinato Dall' Agnol*

Normalização bibliográfica: *Ademir Benedito Alves de Lima*

Editoração eletrônica: *Vladimir Henrique Moreira Silva*

Capa: *Marisa Yuri Horikawa*

1ª edição

Online (2015)

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) Embrapa Soja

Jornada Acadêmica da Embrapa Soja (10. : 2015: Londrina, PR).

Resumos expandidos [da] X Jornada Acadêmica da Embrapa Soja.

[recurso eletrônico] - Londrina: Embrapa Soja, 2015.

264 p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937; n. 359)

Editora técnica: Paula Geron Saiz.

1. Soja-Pesquisa. 2. Pesquisa agrícola. I. Título. II. Série.

CDD 633.34072

© Embrapa 2015

Editora técnica

Paula Geron Saiz
Relações Públicas
Analista da Embrapa Soja
Londrina/PR
paula.saiz@embrapa.br

Apresentação

A Jornada Acadêmica da Embrapa Soja tem como objetivo promover o trabalho desenvolvido pelos estudantes que integram o Programa de Estágio de Complementação Educacional da Embrapa, junto às equipes de pesquisa e apoio da Unidade.

Por meio da inscrição de trabalhos nas modalidades escrita e oral, os participantes vivenciam a dinâmica de um evento científico, contando com o suporte de seus orientadores e do Comitê de Publicações da Embrapa Soja. Além disso, interagem com seus pares e com o público interno da empresa, em um significativo processo de aprendizagem.

Em sua 10ª edição, realizada em julho de 2015, a Jornada contou com 32 trabalhos inscritos e 30 apresentações orais. Os resumos encontram-se nesta publicação, que temos a satisfação de apresentar.

Cabe à Embrapa Soja agradecer aos orientadores e estagiários que contribuíram para a realização da X Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. Aproveitamos, ainda, para parabenizar a todos pelos resultados alcançados.

Ricardo Vilela Abdelnoor

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento
Embrapa Soja

Sumário

Resumos Expandidos	12
Estoque de carbono em sistemas de manejo do solo e rotação de culturas	12
Resposta de plantas de soja transformadas com fator de transcrição aba dependente ao nematoide de cisto <i>Heterodera glycines</i>	21
Parâmetros biológicos do predador <i>Podisus nigrispinus</i> alimentado com a lagarta <i>Spodoptera frugiperda</i> em soja Bt.....	27
Contribuição do potássio não trocável para a produtividade de soja e milho safrinha	35
Validação de um sistema para estudo funcional de genes de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> baseado em silenciamento gênico	44
Ocorrência de insetos-praga contaminantes em grãos comerciais de soja colhidos na safra 2014/2015	53
Transformação de soja via <i>Agrobacterium tumefaciens</i> para tolerância a seca	60
Suscetibilidade de lagartas <i>Helicoverpa armigera</i> a uma formulação comercial de <i>Bacillus thuringiensis</i>	67
Resistência do solo em sistemas de manejo e rotação de culturas em Latossolo Vermelho.....	74

Avaliação da reação de linhagens de soja ao vírus do mosaico comum da soja (<i>Soybean mosaic virus</i>) e ao vírus causador da necrose da haste (<i>Cowpea mild mottle virus</i>)	80
Análise da segregação da progênie de plantas de soja transformadas via <i>Agrobacterium tumefaciens</i> para tolerância a seca	88
Análise de lignina em diferentes partes da soja utilizando o método do brometo de acetila.	94
Preferência hospedeira de <i>Telenomus remus</i> nixon (Hymenoptera: Platygastriidae) entre ovos de <i>Corcyra cephalonica</i> Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) e <i>Spodoptera frugiperda</i> Smith (Lepidoptera: Noctuidae).	101
Resistência tênil e friabilidade de agregados do solo sob diferentes preparos e sistemas de culturas	109
Compostagem sob condições naturais e controladas para o tratamento de resíduos sólidos orgânicos	118
Sensibilidade de populações de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> a fungicidas inibidores da quinona oxidase	127
Purificação de <i>Potyvirus</i> de ocorrência natural em <i>Hypochaeris brasiliensis</i>	134
Patogenicidade de isolados de <i>Fusarium</i> spp. da Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja	139
Avaliação de similaridade e estruturação genética em <i>Spodoptera frugiperda</i> através de marcadores moleculares de microssatélites.	147
Seletividade de inseticidas utilizados no controle de <i>Helicoverpa armigera</i> à pupas de <i>Telenomus podisi</i> ashmead (Hymenoptera: Platygastriidae)	156

Análise de dados com medidas correlacionadas no tempo com a cultura da cana-de-açúcar	165
Os repositórios como veículos de divulgação de informações técnicas e científicas agrárias.	174
Isolamento e quantificação de microesclerócios de <i>Macrophomina phaseolina</i> e análise da atividade microbiana no solo em diferentes sistemas de manejo.	181
Efeito da aplicação de glifosato e zinco na avaliação de extratores em solo cultivado com soja	189
Avaliação de genótipos de girassol para resistência a <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> em folhas destacadas	196
Fertilidade do solo e produção de soja em áreas infestadas por <i>Pratylenchus brachyurus</i> no Mato Grosso.	206
Seletividade de inseticidas a adultos de <i>Telenomus podisi</i> Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae)	213
Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de girassol cultivados em segunda safra, 2013 e 2014	222
Avaliação fenotípica e de metabólitos secundários de genótipos de soja resistentes e suscetíveis à ferrugem asiática.	229
Mecanismos de resposta da cultivar de soja BR 16 submetida ao déficit hídrico	239
Atributos físicos de um Latossolo Vermelho em função da escarificação e gessagem.	246

Controle de qualidade de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera:
Platygastridae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton)
(Lepidoptera: Pyralidae) por diferentes gerações..... 255

Resumos Expandidos

Estoque de carbono em sistemas de manejo do solo e rotação de culturas

CHICOWSKI A. S.¹; FURLANETO, B. G.¹; BALBINOT JUNIOR, A. A.²; FRANCHINI, J. C.²; DEBIASI, H.²; SANTOS, E.L.³;

¹Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Londrina-PR, sandro_chicowski@hotmail.com; ²Embrapa Soja; Londrina-PR ³Centro Universitário Filadélfia de Londrina – UNIFIL, Campus Palhano, Londrina-PR.

Introdução

As práticas de manejo do solo têm grande importância para a sustentabilidade ambiental dos sistemas de produção. A semeadura das culturas pode ser realizada utilizando o preparo do solo por meio de aração ou gradagem (sistema plantio convencional - SPC) ou de forma direta sem que haja o revolvimento do solo (sistema plantio direto - SPD). A adoção do SPD tem aumentado continuamente desde a década de 1990 e atualmente é o principal sistema de manejo do solo, adotado em cerca de 80% das áreas agrícolas (BOLLINGER et al. 2007). Existe o consenso de que a mudança do SPC para o SPD proporciona o aumento de carbono no solo resultando em acréscimos na biomassa e atividade microbiana, na reciclagem de nutrientes e melhoria da estrutura do solo (LAL et al., 2003; FRANCHINI et al., 2007), o que se reflete em aumento

do potencial produtivo (FRANCHINI et al., 2012). A aração e a gradagem estimulam a ação microbiana sobre o carbono do solo e resíduos vegetais pelo aumento da aeração, do contato solo/resíduos e pela ruptura dos agregados do solo, expondo material orgânico lábil (COSTA et al., 2008). O aumento do carbono no solo, quando se compararam sistemas de manejo do solo em combinação com sistemas de culturas, está associado a ausência de revolvimento do solo e a inclusão de espécies vegetais com alto potencial de produção de biomassa, especialmente leguminosas para adubação verde, devido ao aporte de nitrogênio proveniente da fixação biológica (BAYER et al., 2001; SÁ et al., 2001; SISTI et al., 2004).

O potencial de acúmulo de matéria orgânica no sistema de plantio direto tem sido indicado como estratégico para a mitigação das emissões de CO₂ e conseqüente redução do efeito estufa (LAL et al., 2003). No entanto, ainda existe a necessidade de se estabelecer o potencial do SPD em relação as diferentes configurações dos sistemas de culturas (BODDEY et al., 2010), uma vez que, em grande parte das áreas de produção os sistemas predominantes são baseados na sucessão de culturas (soja-trigo e soja-milho), com aporte limitado de biomassa vegetal. Desta forma, a hipótese é que o SPD aliado a sistemas de culturas com maior aporte de biomassa poderá acumular mais C no solo, e assim contribuir para mitigar emissões de Gases de Efeito Estufa (GEE), com sustentabilidade produtiva. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a contribuição do SPD em diferentes sistemas de culturas sobre o estoque de carbono orgânico do solo.

Material e métodos

O experimento vem sendo conduzido na área experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Soja, em Londrina, PR, a 23°12' S e 51°11'w, a 560m de altitude. O clima da região é subtropical úmido (Cfa), com precipitação e temperatura média anuais de 1.615 mm e máximas e mínimas de 28,5°C em fevereiro e 13,3°C em julho, respectivamente. O experimento foi instalado no ano de 2003/2004, com o delineamento experimental

de blocos completamente casualizado, com quatro repetições com os tratamentos em esquema fatorial 2 x 3. O primeiro fator foi constituído por dois sistemas de preparo: preparo do solo com arado de discos antes do plantio das culturas de verão e preparo do solo com grade pesada antes das culturas de inverno (sistema de plantio convencional - SPC) e semeadura direta das culturas sem preparo do solo (sistema de Plantio direto - SPD) e o segundo por três sistemas de culturas (R1 = tremoço/milho – aveia/soja – trigo/soja – trigo/soja; R2 = soja/milho; e S1 soja/trigo). No caso do R2, a partir da safra de inverno de 2007 foi inserido a braquiária (*Urochloa ruziziensis*) em consórcio com o milho.

As parcelas foram constituídas de 50 m de comprimento e 8 m de largura, totalizando 400 m². Em março de 2014, foram coletadas amostras deformadas e indeformadas nas camadas de 0-5, 5-10, 10-20, 20-30 cm de profundidade. As amostras indeformadas foram coletadas em trincheiras (1,0x1,0x1,0 m) com cilindros de aço de 100 cm³. Três amostras foram coletadas por camada e secas a 105oC por 72 h para determinação da densidade do solo. As amostras deformadas foram secas ao ar e peneiradas a 2 mm. Subamostras foram moídas novamente para diâmetro <0,15 mm. Alíquotas contendo entre 200 a 400 mg de C total foram analisadas em analisador elementar de C (Thermo Flash EA 1112). O estoque de carbono na camada de 0-30 cm foi estimado após correção da massa de solo segundo a metodologia descrita por Sisti et al. (2004). Os resultados foram submetidos à análise de variância e os valores médios comparados entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e discussão

Os estoques de carbono do solo foram influenciados pelos sistemas de manejo do solo e de culturas, porém não houve interação entre os fatores. Isso indica que o efeito do sistema de culturas não foi influenciado pelos sistemas de manejo do solo. Desta forma são apresentados apenas resultados de médias de sistemas de culturas (Figura 1) e de sistemas de manejo (Figura 2). O sistema de culturas

R2 apresentou o maior estoque de carbono entre os sistemas de culturas, porém a diferença somente foi significativa em relação ao sistema R1. A diferença entre estes sistemas foi de $9,2 \text{ Mg ha}^{-1}$, o que determina uma taxa média de acúmulo durante o período de 10 anos de comparação entre os sistemas de culturas, de $920 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. Provavelmente o maior acúmulo de C no sistema R2, pode estar relacionado à maior produção de biomassa de parte aérea e raízes da forrageira tropical perene *Urochloa ruziziensis* utilizada em consórcio com o milho safrinha. Este resultado de certa forma é surpreendente uma vez que a espécie foi incluída no sistema em 2007, ou seja, apenas nos últimos sete anos. Também chama a atenção que a inclusão do tremoço antes do milho de verão no sistema R1 teve efeito contrário ao observado por Sisti et al. (2004) e Boddey et al. (2010), que obtiveram aumento no estoque de carbono do solo com a inclusão de leguminosas antecedendo o milho no Rio Grande do Sul. Provavelmente nas condições de clima e solo do Paraná o tremoço tenha estimulado o processo de mineralização da matéria orgânica, contribuindo para a redução do carbono armazenado no solo.

A diferença nos estoques de carbono induzida pelos sistemas de manejo foi de menor intensidade do que a observada para os sistemas de culturas (Figura 2). O sistema SPD apresentou maior estoque de carbono do que o sistema SPC, porém essa diferença foi de apenas $4,2 \text{ Mg ha}^{-1}$, o que determina uma taxa média de acúmulo durante o período de 10 anos do experimento de $4,2 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$. Também se observa na figura 2 que praticamente toda a diferença no estoque entre os sistemas de manejo ficou concentrada na camada superficial do solo. Este comportamento está associado à deposição da biomassa vegetal na superfície do solo, o que reduz o seu contato com o solo e aumenta a quantidade de carbono preservada ao longo do tempo. Segundo Machado e Silva (2001) o aumento nos estoques de carbono é dependente de vários fatores, tais como: quantidade de palha e conseqüentemente do tipo de rotação de cultura adotada, do grau de revolvimento do solo determinado pelo sistema de manejo, associado às condições climáticas da região de estudo e finalmente das doses de fertilizantes aplicadas nas lavouras.

O maior estoque de C no SPD está relacionado principalmente à manutenção dos restos culturais na superfície do solo e à proteção física dos compostos orgânicos contra o ataque microbiano, exercida pelos agregados do solo (DIEKOW et al., 2005), cuja formação e estabilidade são favorecidas em condições de menor intensidade de revolvimento do solo (GOLDCHIN et al., 1997). No caso do plantio convencional, o fato do solo ser revolvido aumenta a disponibilidade de O_2 aos micro-organismos, o que também aumenta a taxa de mineralização dos compostos orgânicos. Para que os sistemas de produção de grãos sejam estáveis do ponto de vista da produção, e ainda funcionem como dreno de CO_2 , é necessário maximizar a produção de biomassa vegetal e aumentar a eficiência metabólica dos sistemas biológicos (SOUZA, et al., 2014). Quando o carbono acumulado na biomassa vegetal é maior que as emissões associadas aos diferentes processos biológicos dentro do solo, espera-se que haja acúmulo ou sequestro de carbono da atmosfera pelo solo. Essa é uma das bases do sistema plantio direto (SPD), em que a eliminação da desagregação do solo com arados e grades reduz a decomposição da matéria orgânica, pois parte se mantém fisicamente inacessível aos microrganismos (SIX et al., 2002).

Conclusão

A importância do sistema de culturas para o aumento do estoque de carbono do solo pode ser maior do que do sistema de manejo.

Existe aumento do potencial de sequestro de carbono em sistemas conservacionistas com a associação do SPD com sistemas de culturas com maior aporte de biomassa vegetal.

Referências

BAYER, C.; MARTIN NETO, L; MIELNICZUCK, J; PILLON, C.N.; SANGOI, L. Changes in soil organic matter fractions under subtropical no-till cropping systems. **Soil Science Society of America Journal**, v. 65, p. 1473-1478, 2001.

BODDEY, R.M. ; JANTALIA, C. P. ; CONCEIÇÃO, P.C. ; ZANATTA, J.A.; BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; DIECKOW, J.; SANTOS, H.P.; DENARDIN, J.E. ; AITA, C.; GIACOMINI, S.J. ; ALVES, B.J.R. ; URQUIAGA, S. Carbon accumulation at depth in Ferralsols under zero-till subtropical agriculture. **Global Change Biology**, v. 16, p. 784-795, 2010.

BOLLINGER, A., MAGID, J., AMADO, T. J. C., SKORA, F. N., SANTOS, M. F. R., CALEGARI, A., RALISCH, R., NEERGAARD, A. Taking stock of the Brazilian zero-till revolution: A review of landmark research and farmers practice. **Advances in Agronomy**., v. 91, p. 47–64, 2007.

COSTA, F.S.; BAYER, C.; ZANATTA, J.A.; MIELNICZUK, J. Estoque de carbono orgânico no solo e emissões de dióxido de carbono influenciadas por sistemas de manejo no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, n. 1, p. 323-332, 2008.

DIEKOW, J.; MIELNICZUK, J.; KNICKER, H.; BAYER, C.; DICK, D. P.; KÖGEL-KNABNE, I. Carbon and nitrogen stocks in physical fractions of a subtropical Acrisol as influenced by long-term no-till cropping systems and N fertilization. **Plant and Soil**, v. 268, p. 319-328, 2005.

FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v.92, n.1, p.18-29, 2007.

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; TONON, B.C.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N.; TORRES, E. Evolution of crop yields in different tillage and cropping systems over two decades in southern Brazil **Field Crops Research**, v.137, p.178-185, 2012.

GOLDCHIN, A.; BALDOCK, J. A.; OADES, J. M. A model linking organic matter decomposition, chemistry, and aggregate dynamics. In: LAL, R.; KIMBLE, J. M.; FOLLET, R. F.; STEWART, B. **Soil process and the carbon cycle**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 245-266.

LAL, R.; FOLLET, R.F.; KIMBLE, J.M. Achieving soil carbon sequestration in the United States: a challenge to policy makers. **Soil Science**, v. 168, p. 827-845, 2003.

MACHADO, P.L.O. de A.; SILVA, C.A. Soil management under no-tillage systems in the tropics with special reference to Brazil. **Nutrient Cycling In Agroecosystems**, v. 61, p. 119–130. 2001.

SA, J.C. DE M., CERRI, C.C., DICK, W.A., LAL, R., FILHO, S.P.V., PICCOLO, M.C., FEIGL, B.E. Organic matter dynamics and carbon sequestration rates for a tillage chronosequence in a Brazilian Oxisol. **Soil Science Society of American Journal**, v. 65, p. 1486-1499, 2001.

SISTI C.P.J.; SANTOS, H.P. DE; KOCHHANN R.A.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S.; BODDEY, R. M. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional or zero tillage in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v. 76, p. 39-58, 2004.

SIX, J., CONANT, R.T., PAUL, E.A., PAUSTIAN, K. Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils. **Plant Soil**, v. 241, p. 155–176, 2002.

SOUZA, I.C.; LIMA, I.R.; ARAUJO, K.; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; BALBINOT JR, A.A.; ALVES, B.J.R. Estoques de carbono em sistemas de manejo do solo no bioma mata atlântica após 29 anos. In: IX Jornada Acadêmica da Embrapa Soja, 9., 2014. **Resumos expandidos ... Londrina: Embrapa Soja, 2014. p. 180-186.**

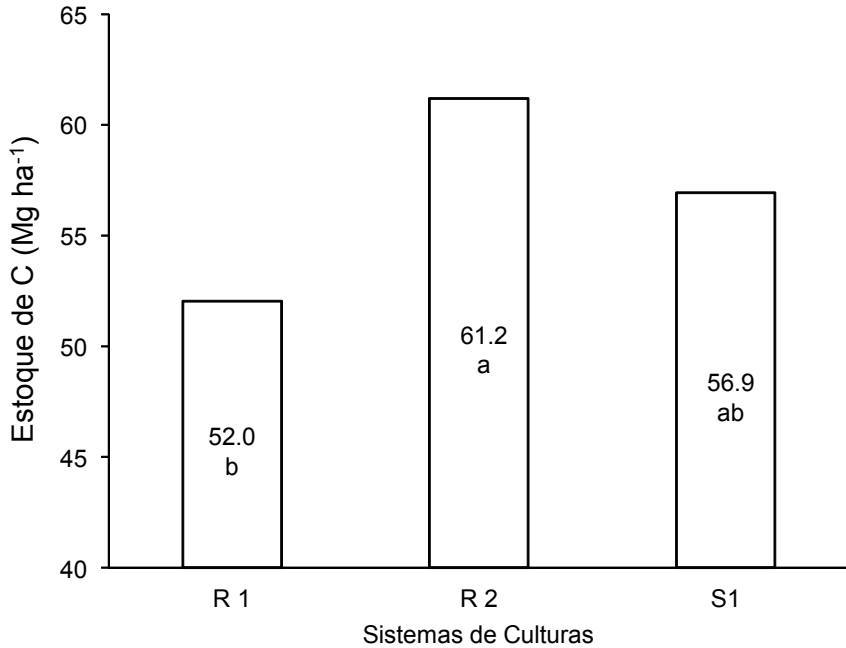


Figura 1. Estoque de carbono do solo (Mg C ha⁻¹) em sistemas de culturas na camada de 0-30 cm. R1 = tremoço/milho – aveia/soja – trigo/soja – trigo/soja; R2 = soja/milho; e S1 soja/trigo. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

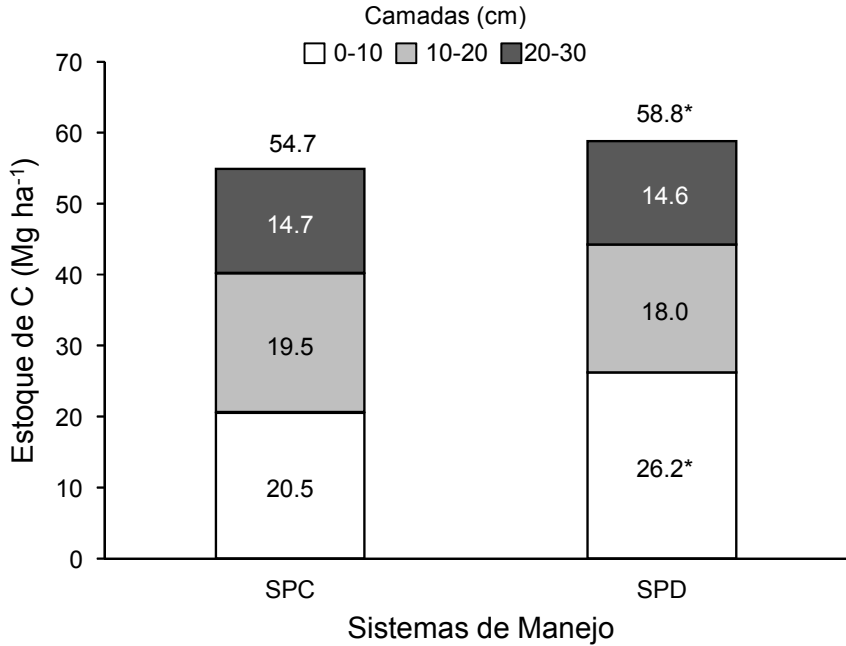


Figura 2. Estoque de carbono do solo (Mg C ha⁻¹) em sistemas de manejo do solo na camada de 0-30 cm. SPC: sistema de plantio convencional; SPD: sistema de plantio direto. * indica diferença significativa entre sistemas de manejo dentro de cada camada de solo pelo teste F ($p \leq 0,05$).

Resposta de plantas de soja transformadas com fator de transcrição aba dependente ao nematoide de cisto *Heterodera glycines*

DIAS, A. S.¹; MARIN, S. R. R.²; FUGANTI-PAGLIARINI, R.²; SILVEIRA, C. A.²; NEPOMUCENO, A. L.²; MARCELINO-GUIMARÃES F. C. M.²; DIAS, W. P.²

¹Centro Universitário Filadélfia – Unifil; ²Embrapa Soja

Introdução

O desempenho das lavouras de soja nas diversas regiões produtoras do país aponta para uma expectativa de produção na temporada 2014/15 de 94.280,5 mil toneladas, representando um incremento de 9,5% em relação ao produzido no ano passado (CONAB, 2015).

Diante dos dados apurados pela Conab (2015), pode se dizer que há boa produtividade em relação a produção na temporada de 2014/2015, porém há grande demanda por soja em diversas áreas e uma maior produtividade é necessária. Para atender essa demanda deve-se combater fatores que diminuem a produção como os fatores externos, sejam eles bióticos ou abióticos. Esses fatores causam estresses que afetam, de modo adverso, o crescimento, o desenvolvimento e

a produtividade. Os fatores, bióticos e/ou abióticos, atuando juntos ou isoladamente, fazem com que as condições ideais de cultivo dificilmente sejam atingidas (BONATO, 2000). Essa interação entre estresses bióticos e abióticos é orquestrada por vias de sinalização de hormônios em particular a de ácido abscísico (ABA). O ABA é atualmente considerado um regulador global de respostas aos estresses abióticos e bióticos, e a produção desse hormônio pode ser um fator crucial para determinar como as plantas respondem a estresses múltiplos (ATKINSON, 2012).

Estresses abióticos como a seca, salinidade alta e baixa temperatura podem afetar gravemente o crescimento e a produção das plantas. De modo geral, as plantas, em resposta a condições ambientais adversas, ativam o sinal apropriado da via de transdução e induzem a expressão de uma série de genes que respondem ao estresse, protegendo as estruturas celulares (HUSSAIN et al. 2011, LIU et al. 2011). Nessa complexa rede de resposta, o ABA desempenha importante papel na resposta ao déficit hídrico (SEKI et al. 2007), ligando-se a região ABRE (ABA- binding responsive element) de alguns genes e induzindo sua expressão, levando a respostas moleculares e celulares, agindo assim como uma plataforma para o *crossstalk* entre as vias de respostas a estresses bióticos e abióticos, acionando inclusive, em determinadas situações, mecanismos de defesa a patógenos (LEE, 2012).

Em busca de estratégias relacionadas à otimização da produção por meio de resistência aos fatores externos, vários métodos foram desenvolvidos. Assim, a obtenção de plantas transformadas com genes exógenos com características de tolerância à seca, um dos principais problemas enfrentados pelos produtores de soja, pode contribuir para reduzir as perdas de produção e financeiras relacionadas ao déficit hídrico. Assim, com o objetivo de se obter plantas de soja mais tolerantes ao déficit hídrico, a cultivar convencional BR16 foi geneticamente modificada para aumentar os níveis de expressão de um fator de transcrição (FT) ABA dependente. Os resultados foram promissores indicando aumento da tolerância ao déficit hídrico nos eventos desafiados. O aumento do nível de expressão desse FT ABA

dependente ativa uma cascata de genes envolvidos na defesa das estruturas celulares. Considerando-se a possibilidade da existência de crosstalks de resposta à fatores bióticos e abióticos, a avaliação de plantas tolerantes à seca quanto à resistência a fatores bióticos, como os nematóides, foi cogitada. O NCS foi detectado no Brasil pela primeira vez na região dos Cerrados em 1991/92 e atualmente, está presente em 10 Estados (MG, MT, MS, GO, SP, PR, RS, BA, TO e MA). O NCS penetra nas raízes da planta e dificulta a absorção de água e nutrientes, reduzindo o número de vagens, provocando clorose e baixa produtividade. Os sintomas aparecem em reboleiras e, em muitos casos, as plantas acabam morrendo. O sistema de raízes fica reduzido e infestado por minúsculas fêmeas do nematoide com formato de limão ligeiramente alongado. A cada safra, diversos municípios são acrescentados à lista de municípios atingidos, representando um grande desafio para a pesquisa, à assistência técnica e ao produtor brasileiro de soja. As estratégias de controle incluem a rotação de culturas, o manejo do solo e a utilização de cultivares de soja resistentes, sendo ideal a combinação dos três métodos (TECNOLOGIAS ..., 2008). Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar se além da tolerância a seca conferida pelo FT ABA dependente, as plantas GMs apresentavam resistência ao nematoide de cisto.

Materiais e métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Embrapa Soja, em Londrina, PR. A BR16 e uma linhagem de soja ("Soja GM") geneticamente modificada para tolerância à seca, foram avaliadas quanto a sua reação (resistência ou suscetibilidade), a raça 3 do NCS. As diferenciadoras de raças ('Pickett', 'Peking', PI 88788, PI 90763) e os padrões de suscetibilidade ('Lee 74') e de resistência (PI 437654) foram incluídos no experimento. Todos os genótipos foram semeados em areia. Dois dias após a emergência, seis plântulas por genótipo foram transferidas para vasos de argila (uma plântula/vaso) contendo mistura estéril de solo e areia (1:3). Em seguida, cada plântula foi inoculada com 4.000 ovos da raça do NCS a ser testada. Os vasos, assim preparados, foram mantidos em casa de vegetação com temperatura entre 25OC - 30OC, por 28 - 30 dias. Decorrido esse

período, cada plântula foi retirada do vaso e o sistema radicular lavado sob jato forte de água, sobre peneira de 20 mesh acoplada a uma de 60 mesh, para a recuperação das fêmeas do nematoide. O número de fêmeas foi quantificado em microscópio estereoscópico. Para cada cultivar foi calculado um índice de fêmeas (IF): $IF (\%) = (\text{número médio de fêmeas obtido na cultivar em teste} / \text{número médio de fêmeas obtido no padrão de suscetibilidade 'Lee 74'}) \times 100$. Cultivares com $IF < 10\%$ foram classificadas como resistentes ao nematoide, entre 10% e 30% como moderadamente resistentes e com $IF > 30\%$ como suscetíveis.

Resultados e discussão

O índice de fêmeas (IF) para a linhagem GM (Soja GM) com o FT ABA dependente, apresentou IF igual a 72,72% ($149,8/206,0 \times 100$), enquadrando-a como suscetível ao nematoide de cisto raça 3, assim como a BR 16 que lhe deu origem (Tabela 01).da informação acontece, quando é possível sanar as brechas que o vazio da informação causa. Assim, para que as brechas de informação sejam reparadas o uso da informação é um processo que visa responder a uma questão/problema que se quer resolver, tomar uma decisão e/ou entender uma situação.

Conclusão

Baseado nos resultados obtidos, a linhagem GM com FT ABA dependente foi considerada suscetível ao nematoide de cisto *Heterodera*, raça 3, e, portanto, não houve efeito do gene inserido sobre o genótipo geneticamente modificado quanto a reação ao nematoide de cisto da soja.

Referências

ATKINSON, N. J.; URWIN, P. E. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 10, p. 3523–3544, 2012.

BENSMIHEN, S.; RIPPA, S.; LAMBERT, G.; JUBLOT, D.; PAUTOT, V.; GRANIER, F.; GIRAUDAT, J.; PARCY, F. The homologous ABI5 and EEL transcription factors function antagonistically to fine-tune gene expression during late embryogenesis. **The Plant cell**, v. 14, n. 6, p. 1391–1403, 2002.

BONATO, E. R. **Estresses em soja**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 254p. 2000.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_04_10_09_22_05_boletim_graos_abril_2015.pdf>. Acesso em: 6 maio 2015.

Tecnologias de produção de soja - região Central do Brasil 2009 e 2010. Londrina, PR: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. 262 p. (Embrapa Soja. Sistema de Produção, 13).

HUSSAIN, S. S.; IQBAL, M. T.; ARIF, M. A.; AMJAD, M. Beyond osmolytes and transcription factors: Drought tolerance in plants via protective proteins and aquaporins. **Biologia Plantarum**, v. 55, n. 3, p. 401–413, 2011.

LEE, S. C.; LUAN, S. ABA signal transduction at the crossroad of biotic and abiotic stress responses. **Plant, Cell & Environment**, v. 35, n. 1, p. 53–60, 2012.

RIGGS, R. D.; SCHMITT, D. P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 20, n. 3, p. 392–395, 1988.

SCHMITT, D.P.; SHANNON, G. Differentiating soybean responses to *Heterodera glycines* races. **Crop Science**, v. 32, p. 275-277, 1992.

SEKI, M.; UMEZAWA, T.; URANO, K.; SHINOZAKI, K. Regulatory metabolic networks in drought stress responses. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 3, p. 296–302, 2007.

Tabela 1. Número de fêmeas encontrado nos genótipos de soja avaliados quanto a reação à raça 3 do nematoide de cisto.

Genótipos	Número de fêmeas do NCS/planta						Média	Reação
	Repetições							
	1	2	3	4	5	6		
Pickett	4	3	6	9	5	6	5,5	Resistente
Peking	5	3	3	0	2	1	2,3	Resistente
PI 88788	21	21	25	24	19	12	20,3	Resistente
PI 90763	3	0	5	0	0	1	1,5	Resistente
Lee 74	207	248	162	196	225	198	206,0	Suscetível
Soja GM	184	154	143	59	198	161	149,8	Suscetível
BR 16	160	141	150	-	99	160	142,0	Suscetível

Parâmetros biológicos do predador *Podisus nigrispinus* alimentado com a lagarta *Spodoptera frugiperda* em soja Bt

HERMEL, A. O.¹; FERNANDES, J. B.²; NEBES, J.P.M.³; ROGGIA, S.⁴

¹ Centro Universitário Filadélfia, Bolsista do PIBIC/CNPq – Brasil; ² Centro Universitário Filadélfia; ³ Universidade Norte do Paraná. ⁴ Embrapa Soja

Introdução

A utilização de plantas geneticamente modificadas (transgênicas) resistentes a insetos é uma das estratégias de controle utilizadas no Manejo Integrado de Praga (MIP). Atualmente está amplamente difundido na agricultura de grãos o uso de plantas transgênicas resistentes a lagartas contendo genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt). Tais genes codificam toxinas letais para determinados grupos de insetos. As plantas Bt apresentam potencial de minimizar perdas causadas por insetos-praga, principalmente da ordem Lepidoptera, bem como, reduzir a utilização de inseticidas utilizados no manejo dessas lagartas.

Entretanto, o uso desta tecnologia proporciona alguns questionamentos quanto ao seu impacto sobre organismos benéficos e pragas não alvo da tecnologia nos agroecossistemas, devido a sua expressão ocorrer

em quase toda a planta durante todo o ciclo da cultura que podem ser diretamente ou indiretamente impactados pela soja Bt. Além disso, as plantas Bt produzem toxina na sua forma ativa, não necessitando de condições específicas para solubilização e ativação. Diferentemente a toxina produzida pela bactéria *Bacillus thuringiensis* é encontrada protegida em cristal protéico e na forma de protoxina (inativa), necessitando ser solubilizada e ativada antes de se ligar a sítios ativos no trato digestório do hospedeiro, para então desempenhar sua ação inseticida, esse processo ocorre em condições comumente encontradas no sistema digestório de lagartas (suco gástrico alcalino).

A retirada ou reduções de aplicações de inseticidas utilizados no manejo das pragas alvos da tecnologia Bt pode favorecer o aumento de pragas não alvo que eram anteriormente controladas por esses inseticidas. Por outro lado, essa redução na aplicação de inseticidas pode também aumentar a incidência e densidade de inimigos naturais e assim reduzir indiretamente os níveis populacionais de pragas não alvo.

Plantas Bt (milho, algodão e batata) são utilizadas na agricultura a cerca de 20 anos (BOBROWSKI, 2003), no entanto, para a cultura da soja essa tecnologia ainda é recente. O cultivo comercial de soja Bt foi aprovado no Brasil em 2013 e estima-se que a área cultivada com essa tecnologia aumente rapidamente nos próximos anos, atingindo extensas áreas de cultivo. Assim tornam-se importantes estudos sobre os possíveis impactos da soja Bt sobre organismos não alvo, incluindo pragas, agentes de controle biológico e organismos benéficos.

Atualmente, soja Bt contém o gene cry1Ac que proporciona proteção as principais espécies de lagartas praga da cultura, no entanto, não controla determinadas espécies de lagartas do gênero *Spodoptera*, as quais, atualmente, são consideradas pragas secundárias na soja, mas que merecem atenção e monitoramento em relação a possibilidade de, ao longo do tempo, se ocuparem o espaço das espécies de lagartas-alvo da soja Bt.

O percevejo predador *Podisus nigrispinus* (Dallas) (Hemiptera: Pentatomidae) é reconhecido como um importante agente de controle biológico tanto de lagartas-alvo com lagartas não alvo da soja Bt (VACARI, 2006; BATISTELA et al., 2012; DENEZ et al., 2014). Devido a sua importância para diferentes cultivos agrícolas, bom potencial de predação sobre pragas chave das culturas, facilidade de criação em laboratório, esse predador tem sido utilizado com bioindicador em estudos de avaliação de impacto de agrotóxicos e plantas Bt. Por essas características é também uma espécie promissora para o controle biológico aplicado, podendo, no futuro, ser produzido comercialmente para ser aplicado no controle de pragas agrícolas (OLIVEIRA et al., 1999; TORRES et al., 2006; DENEZ et al., 2014).

Neste contexto foi desenvolvido um trabalho com objetivo de estudar o efeito da soja Bt sobre parâmetros biológico e consumo de adultos do predador *Podisus nigrispinus* alimentados com a lagarta *Spodoptera frugiperda*, uma espécie não alvo da soja Bt.

Materiais e métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação, na Embrapa Soja, durante os meses de fevereiro a maio de 2015. Em 27 de fevereiro de 2015 foi realizada a semeadura de soja Bt e não Bt, foram utilizados, respectivamente, os genótipos BRS 1001 ipro e uma linhagem RR (linhagem irmã). Ambos genótipos são derivados da cultivar BRS 284 (não transgênica), sendo esse o genitor majoritário para 4 ciclos de retrocruzamento, utilizados para incorporação de genes transgênicos. A linhagem de soja RR contém o gene cp4-epsps, que confere tolerância ao herbicida glifosato. A cultivar BRS 1001 ipro (Bt RR) além do gene o gene cp4-epsps, contém o gene cry1Ac, que confere tolerância às principais espécies de lagartas pragas da soja.

Previamente à semeadura, as sementes foram inoculadas com a bactéria fixadora de nitrogênio *Bradyrhizobium japonicum* (Atmo) na dose de 2 ml do produto comercial por kg de sementes. A semeadura foi realizada com cinco sementes por cova, sendo que cinco dias após a emergência foi realizado o raleio mantendo-se apenas uma

planta por cova. As plantas foram cultivadas em caixas de amianto (0,5x0,5x0,6m) contendo aproximadamente 130L de solo coletado em campo (Latossolo Vermelho distroférico típico) na safra 2013/14. Essa solo foi corrigido em relação a acidez e níveis de nutrientes do solo, de acordo com a análise de solo e foi cultivado previamente com soja, permanecendo por três semanas em pousio antes da nova semeadura. Para o experimento atual foram utilizadas duas caixas para o cultivo das plantas, cada uma contendo três plantas de cada genótipo, dispostas na caixa de forma intercalada, perfazendo assim seis plantas de cada cultivar.

Quando as plantas atingiram o estágio V5 foi realizada a sua infestação com ninfas de *Podisus nigrispinus* recém eclodidas, sendo que três repetições de cada tratamento receberam 30 ninfas, uma repetição recebeu 29 ninfas e 2 repetições receberam 24 ninfas. As infestações foram realizadas de 23 a 25 de março de 2015, de acordo com a eclosão das ninfas. Teve-se o cuidado de proporcionar condições idênticas de data e intensidade e infestação para cada um dos tratamentos estudados. Por essa razão foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso, atribuindo tais variações na metodologia para o bloco. Para evitar a fuga dos insetos e evitar interferências externas, as plantas foram protegidas por uma tela (malha) de 1,00 metro de altura por 0,16 metro de diâmetro.

O alimento, lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda*, foi introduzido a partir do segundo instar ninfal de *Podisus nigrispinus*. O fornecimento de presas foi realizado a cada dois ou três dias, sendo que o número de lagartas a serem expostas foi calculado previamente com base em levantamentos bibliográficos de estudos de consumo diário desse predador (Tabela 1). O número de presas fornecidas foi ajustado de acordo com o consumo observado ao longo do experimento.

Quando os predadores passaram para a fase adulta, foram retirados das gaiolas e quantificados para determinar a viabilidade ninfal e foi medida a massa corporal de machos e fêmeas. Foram avaliadas 24

fêmeas por tratamento (duas fêmeas/planta), durante três dias em laboratório quanto a sua capacidade de oviposição. Durante esse período, esses insetos receberam 16 lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar/dia como alimento. Diariamente foi realizada a contagem dos ovos produzidos.

Adicionalmente foi avaliada a capacidade de consumo diária de machos e fêmeas durante dois dias de alimentação. Para padronização do consumo dos predadores foi adotado o seguinte procedimento, os adultos foram mantidos por 24 horas sem restrição de alimento (16 lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar). Em seguida foram permanecerem sem alimento por outras 24 horas, recebendo apenas um algodão umedecido com água. Por fim, nas 48 horas seguintes foram fornecidas/dia 12 lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar para os machos e 16 lagartas para as fêmeas. A avaliação do número de lagartas consumidas, limpeza e substituição do alimento foram realizadas a cada 24 horas.

Os dados obtidos foram analisados quanto a sua curtose, ajustados quando necessário e submetidos à análise de variância e havendo significância para o teste F, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Resultados e discussão

Para a maior parte dos parâmetros avaliados (Tabela 2) não houve diferença significativa entre o observado na soja Bt e não Bt. A massa de corporal de fêmeas alimentadas com a cultivar Bt (BRS 1001 ipro), foi estatisticamente superior em relação a massa corporal de fêmeas alimentadas com o genótipo não Bt. Trata-se de uma pequena diferença que analisada com os demais resultados obtidos indica que a cultivar Bt (BRS 1001 ipro) não prejudica os parâmetros biológicos de *Podisus nigrispinus* como viabilidade ninfal, massa de adultos e oviposição das fêmeas. Bem como, não afeta a sua capacidade de consumo, ou seja, não interfere na sua funcionalidade como predador. Indicando que a soja Bt é compatível com o controle biológico natural proporcionado pelo predador *Podisus nigrispinus*. Além disso, a utilização de soja

Bt associada ao manejo integrado de pragas (MIP) pode proporcionar redução na utilização de inseticidas favorecendo a preservação de agentes de controle biológico de pragas e, conseqüentemente, proporcionando um ecossistema mais equilibrado.

A viabilidade ninfal e a massa corporal de adultos do presente estudo foi inferior ao observado por OLIVEIRA et al. (2004) e DENEZ et al. (2014) quando o predador foi alimentado com a mesma espécie de presa. Isso deve-se provavelmente ao fato de que o presente estudo foi realizado em condições de semi-campo (gaiola em plantas em casa-de-vegetação) onde as condições ambientais são variáveis o que pode ter causado maior mortalidade, além disso o fato de os insetos terem sido criados em grupo possibilita a ocorrência de canibalismo. Por outro lado, a oviposição diária das fêmeas do presente estudo (20 ovos/fêmea/dia) foi superior a do estudo de OLIVEIRA et al. (2004) (14 ovos/fêmea/dia) e inferior a do estudo de DENEZ et al. (2014) (30 ovos/fêmea/dia). Porém o consumo diário de presas por fêmeas (11-12 lagartas/dia) e machos (7-8 lagartas/dia) do predador foi muito superior no presente estudo em relação ao observado para casais (machos + fêmeas) (9 lagartas/dia) por DENEZ et al. (2014), indicando que, apesar de que as condições de semi-campo prejudicarem a sobrevivência do predador a sua capacidade de predação é favorecida. Possivelmente em condições de semi-campo os insetos mais vigorosos persistem contribuindo para elevar a capacidade média de predação da população remanescente.

Conclusão

A soja Bt não afeta negativamente parâmetros biológicos e capacidade de consumo do predador *Podisus nigrispinus* alimentado com a lagarta *Spodoptera frugiperda*.

Referências

BATISTELA, M. J.; BUENO, A. F.; NISHIKAWA, M. A. N.; BUENO, R. C. O. F.; HIDALGO, G.; SILVA, L.; CORBO, E.; SILVA, R. B. Re-evaluation of leaf-lamina consumer thresholds for IPM decisions in short-season soybeans using atypical defoliation. **Crop Protection**, v. 32, p. 7-11, 2012.

BOBROWSKI, V. L.; FIUZA, L. M.; PASQUALI, G; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Genes de *Bacillus thuringiensis*: uma estratégia para conferir resistência a insetos em plantas. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p. 843-850, 2003.

DENEZ, M. D.; BUENO, A. F.; PASINI, A.; BORTOLOTTI, O. C.; STECCA, C. S. Biological parameters of *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae) fed with different soybean insect pests. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 107, n. 5, p. 967-974, 2014.

OLIVEIRA, H. N.; ZANUNCIO, J. C.; OSSAI, M. F.; PRATISSOLI, D. Body weight increment of *Podisus nigrispinus* (Stal) (Heteroptera: Pentatomidae), fed on *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) or *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Brenesia**, v. 51, p. 77-83, 1999.

OLIVEIRA, H.N. de; PRATISSOLI, D.; PEDRUZZI, E.P.; ESPINDULA, M.C. Desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* alimentado com *Spodoptera frugiperda* e *Tenebrio molitor*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.10, p.947-951, 2004.

TORRES, J. B.; ZANNUNCIO, J. C.; MOURA, M. A. The predatory stinkbug *Podisus nigrispinus*: biology, ecology and augmentative releases for lepidopteran larval controlling *Eucalyptus* in Brazil. **Cab Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v.1, p. 1-18, 2006.

VACARI, A.M. *Podisus nigrispinus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae): efeito do alimento e da temperatura de armazenamento de ovos no desenvolvimento do inseto. 2006. 63 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal.

Tabela 1. Número médio diário de lagartas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* fornecidas para ninfas do predador *Podisus nigrispinus* de diferentes idades.

Fornecimento de presas/predador/dia	Idade das ninfas do predador <i>Podisus nigrispinus</i>				
	1º instar	2º instar	3º instar	4º instar	5º instar
Número previsto	0,00	0,50	0,80	1,20	1,50
Número fornecido	0,00	0,56	0,67	0,87	3,39

Tabela 2. Parâmetros biológicos e consumo de adultos de *Podisus nigrispinus* alimentados com lagartas de *Spodoptera frugiperda* de terceiro instar, sobre plantas de soja Bt e não-Bt cultivadas em casa de vegetação.

Cultivar de soja	Viabilidade ninfal (%) ¹	Massa de adultos (mg)		Consumo (lagartas/predador/dia)		Oviposição diária (ovos/fêmea)
		Fêmeas ¹	Machos	Fêmeas	Machos	
BRS 1001 ipro (Bt)	55,35	57,73 a ²	33,04	10,64	7,67	19,64
Linhagem não-Bt	55,11	56,00 b	32,98	12,36	7,44	20,23
C.V. (%) ³	0,73	0,42	2,83	7,09	2,02	12,31
Significância	ns	**	ns	ns	ns	ns

¹ Dados transformados por $\times 0,1$. ² Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ³ C.V. (%): coeficiente de variação, dado em percentual. ⁴ ns – indica diferença não significativa entre os tratamentos pelo teste F; ** - indica diferença não significativa ao nível de 1%.

Contribuição do potássio não trocável para a produtividade de soja e milho safrinha

TRIGOLO, A. L. M.¹; QUAREZEMIN, M. A. K.¹; GERMANO, M. G.²; CASTRO, C.³; OLIVEIRA JUNIOR, A.³

¹ Uel, Bolsista Pibic/CNPq, amandamantovanitrigolo@gmail.com; ² Analista A, Embrapa Soja, Laboratório de Análise de Solo e Tecido Vegetal; ³ Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

O potássio (K) é nutriente essencial para as culturas, por estar associado à tolerância a estresses bióticos e abióticos e à qualidade das sementes e grãos, o que o torna determinante à produtividade. Compõe cerca de 2,5 % da crosta terrestre, e nos solos é encontrado principalmente na estrutura cristalina de minerais silicatados (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

Nas plantas, este nutriente está relacionado à fotossíntese e à respiração celular, sendo responsável também pela ativação de várias enzimas (NASCIMENTO; LAPIDO-LOUREIRO, 2004). O fornecimento adequado de K para a soja (*Glycine max L.*) é responsável pelo aumento da nodulação, do número de vagens por planta, da

porcentagem de vagens com grãos, do tamanho da semente e do teor de óleo da semente (MALAVOLTA, 1980).

O equilíbrio entre os teores e K trocável (KT) e K não trocável (KNT) no solo é regulado pelo poder tampão do potássio. À medida que as frações trocáveis e não trocáveis de K vão sendo exauridas e não repostas, a produtividade da cultura tende a diminuir, prejudicando o agricultor especialmente em épocas de elevação nos preços dos fertilizantes potássicos (HEJCMAN et al., 2013). A contribuição de frações de K de baixa disponibilidade, que aceleram sua dinâmica de liberação em solos com baixos teores de K trocável, está intimamente relacionada com a mineralogia do solo. Portanto, a quantificação destes teores ao longo do tempo pode melhorar a estimativa da real oferta de potássio que o solo apresenta (EDMEADES et al., 2014).

Na cultura da soja, para cada tonelada de grãos produzida, a demanda por K pela planta é de, aproximadamente, 38 kg de K_2O e, deste total, 20 kg de K_2O são exportados das lavouras via grãos. Dados de Oliveira Jr. et al., (2013) demonstraram uma variação de até 2.200 kg.ha⁻¹ em produtividade para valores de K trocável iguais a 0,1 cmolc.dm⁻³. Com base nos teores médios de K requeridos pelos grãos (16,6 kg de K para cada tonelada de grãos), o aumento da produtividade provavelmente deveu-se a uma fonte alternativa de K, não aferida por meio de extratores convencionais.

Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo gerar informação para o aprimoramento do manejo de adubação do sistema soja-milho, por meio da análise da contribuição das frações de K não trocável.

Material e métodos

Seleção das amostras

Foram consideradas amostras de solo coletadas na camada de 0 a 20 cm, provenientes de três experimentos de adubação potássica, conduzidos em condições edafoclimáticas distintas. Os experimentos estão localizados em Rio Verde, GO (Latossolo Vermelho Amarelo, com

40 % de argila); Primeiro de Maio-PR (Latossolo Vermelho distroférico, com 80 % de argila) e em Londrina, PR, na Faz. Experimental da Embrapa Soja, (Latossolo Vermelho distroférico, com 78 % de argila). A Tabela 1 resume as características das amostras de solo utilizadas no presente trabalho. Foram selecionadas amostras contrastantes quanto às produtividades das culturas de forma que fosse possível verificar quais frações do K no solo estariam contribuindo para a obtenção dos melhores rendimentos.

Extração das amostras

Para a obtenção de K não trocável foi utilizado o HNO_3 fervente como extrator (HELMKE & SPARKS, 1996). Em *erlenmeyers* de 125 mL foram pesadas 2,5 g de cada amostra de solo, adicionadas de 25 mL de HNO_3 1 mol/L. O conjunto foi colocado em chapa aquecedora (marca Corning, modelo *Hot Plate*) por 15 minutos após o início da fervura. Em seguida, os *erlenmeyers* foram resfriados por aproximadamente 5 minutos. As amostras foram então filtradas em filtros de papel qualitativo nº50, em frascos volumétricos. Na sequência, o solo retido no papel de filtro foi lavado por quatro vezes consecutivas utilizando uma solução de HNO_3 0,1 mol/L, em alíquotas de 15 mL, com total passagem da alíquota entre uma filtragem e a seguinte. Por fim, o volume foi aferido para 100 mL.

O K disponível (K trocável, KT) foi obtido por extração com a solução Mehlich-1. O extrator Mehlich1, também chamado de solução duplo-ácida ou de Carolina do Norte, é constituída por uma mistura de HCl 0,05 mol/L + H_2SO_4 0,0125 mol/L e baseia-se na solubilização do analito pelo efeito de pH (entre 2 e 3) (SILVA et al., 1998). Foram transferidos 5 cm³ de cada amostra de solo para um copo plástico. Adicionou-se 50 mL da solução extratora Mehlich-1 e, em seguida, agitou-se por 10 minutos a 200 rpm. Após repouso de 16 horas, foi coletada uma alíquota de 8 mL do sobrenadante para leitura direta.

Determinação analítica

Para o K extraído com HNO_3 1 mol/L, foi preparada uma curva analítica com concentrações de 0, 5,0 e 10,0 ppm de K a partir de uma solução

estoque de 1000 ppm, utilizando-se uma matriz de HNO_3 a 0,33M. A quantificação do K foi realizada diretamente em fotômetro de chama (marca Digimed, modelo DM-62). Na fotometria de chama, a amostra contendo cátions metálicos é inserida em uma chama e analisada pela radiação emitida pelas espécies atômicas ou iônicas excitadas, em comprimentos de onda característicos para cada elemento químico (DEAN, 1960). O teor de KNT nas amostras foi obtida pela seguinte fórmula:

$$\text{K mg L}^{-1} \times 0,1\text{L} \times (2,5\text{g solo})^{-1} \times 1000\text{g Kg}^{-1} = \text{KNT mg/kg no}$$

Para o KT (Mehlich-1) a curva analítica foi preparada nas concentrações de 0, 20,0 e 100,0 mg/L de K a partir de uma solução estoque de 1000 mg/L e a leitura foi igualmente realizada em fotômetro de chama.

O KNT foi determinado pela diferença entre o K extraído com HNO_3 1 mol/L e o KT, obtido com o Mehlich-1, ambos expressos em mg kg^{-1} .

Resultados e discussão

No experimento de Rio Verde, GO, não foi verificado contribuição do K não trocável (KNT) para a produtividade da soja (Figura 1), sendo os teores de KNT praticamente desprezíveis quando se considera a nutrição da soja. Portanto, as variações positivas ou negativas na produtividade da soja foram provenientes dos teores trocáveis de K. Esses resultados demonstram a necessidade de se avaliar as características mineralógicas do solo para melhor prever sobre a contribuição do KNT como reserva de fornecimento de K para as plantas.

Em Londrina, foram selecionadas amostras de quatro tratamentos (controle, 40; 80 e 200 kg/ha de K_2O) e que estão a seis safras sob efeito residual (desde 2008). Dessa forma, diferentemente do experimento de Rio Verde, foi possível correlacionar a produtividade da soja e do milho com os teores de KT e KNT no solo (Figura 2). Assim, não verificou-se teores de KNT nos tratamentos sem aplicação ou sob residual da menor dose de K (40 kg/ha K_2O) e, conseqüentemente,

as produtividades das culturas foi menor do que nos tratamentos onde foi possível determinar o KNT. Importante ressaltar que para a mesma faixa de KT (em torno de 45 mg/kg), o tratamento onde se detectou o KNT resultou em produtividades de milho e de soja muito próximas às verificadas na condição em que o KT é adequado para ambas as culturas (dose 200, com 130 e 54 mg/kg de KT e KNT, respectivamente). Isto evidencia a importância da fração não trocável, quando existente, para manutenção temporária do suprimento de K para as plantas em solos que possuem baixos teores trocáveis de potássio.

No experimento de Primeiro de Maio também foi possível determinar os teores de KNT, indicando que essa fração ocorre no solo predominante naquela região (Tabela 1). O experimento foi instalado em abril de 2014 com objetivo de avaliar a resposta à aplicação de doses de K em uma área cuja a disponibilidade de K era muito baixa, tanto que o teor médio nas parcelas sem aplicação de K foi de 44 mg/kg (aproximadamente 0,11 cmol_c/dm³). Os teores de KT não aumentaram de forma linear com as doses de K. Isso pode ser explicado pelo alto acúmulo de K na palhada do milho, fazendo com que os teores no solo permanecem na mesma magnitude das parcelas sem aplicação de K, uma vez que, a amostragem de solo foi realizada imediatamente após a colheita do milho, não havendo tempo hábil para liberação do K proveniente da decomposição da palhada. Apesar de terem sido detectados com a extração com HNO₃ os teores de KNT não se correlacionaram com a produtividade do milho ($r = 0,02$ ns), indicando ainda a necessidade de entender a dinâmica e a contribuição dessa fração para o fornecimento de K. Este fato pode ser melhor visualizado a partir do cálculo da contribuição percentual das frações de K para a produtividade do milho (Figura 3), uma vez que, na grande maioria das condições, o KT foi a forma determinante para a obtenção das produtividades de milho.

Conclusão

A contribuição do KNT na nutrição das culturas da soja e do milho varia com o tipo de solo. Quando detectado, o KNT pode manter a

obtenção de produtividades superiores à média nacional de soja e milho safrinha, mesmo em condições restritas de disponibilidade de KT. Contudo, como essa fração atua como uma “reserva” de K no solo, a sua utilização não deveria ser realizada, uma vez que, as maiores produtividades só ocorrem quando se tem um adequado suprimento de KT.

Referências

DEAN, J. A. **Flame photometry**. New York: McGraw-Hill, 1960. 354p.

EDMEADES, D. C.; MORTON, J. D.; WALLER, J. E.; METHERELL, A. K.; ROBERTS, A. H. C.; CAREY, P. The diagnosis and correction of potassium deficiency in New Zealand pastoral soils: a review. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 53, p. 151-173, 2014.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. 2. ed. Sunderland: Sinauer, 2005. 400p.

HEJCMAN, M.; BERKOVÁ, M.; KUNZOVÁ, E. Effect of long-term fertilizer application on yield and concentrations of elements (N, P, K, Ca, Mg, As, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Zn) in grain of spring barley. **Plant, Soil and Environment**, v. 59, p. 329-334, 2013.

HELMKE, P. A.; SPARKS, D. L. Lithium, sodium, potassium, cesium, and rubidium. In: SPARKS, D. L.; PAGE, A. L.; HELMKE, P. A.; LOEPPERT, R. H.; SOLTANPOUR, P. N.; TABATABAI, M. A.; JOHNSTON, C. T.; SUMNER, M. E. (Ed.). **Methods of soil analysis: part 3: chemical methods and processes**. Madison: Soil Science Society of America: American Society of Agronomy, 1996. 1390 p. p. 551-574. (Soil Science Society of America Book Series, 5).

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral das plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. 251 p.

NASCIMENTO, M.; LAPIDO-LOUREIRO, F. E. **Fertilizantes e sustentabilidade: o potássio na agricultura brasileira, fontes e rotas alternativas.** Rio de Janeiro: CETEM/MCT, 2004. 66p. (Série Estudos e Documentos, 61). Disponível em: <http://www.cetem.gov.br/publicacao/series_sed/sed-61.pdf>. Acesso em 10 jun. 2015.

OLIVEIRA JUNIOR, A. de; CASTRO, C. de; OLIVEIRA, F. A. de; JORDÃO, L. T. Adubação potássica da soja: cuidados no balanço de nutrientes. **Informações Agrônomicas**, n. 143, p. 1, 3-10, set. 2013.

SILVA, F. C. da; EIRA, P. A. da; BARRETO, W. de O.; PEREZ, D. V.; SILVA, C. A. **Manual de métodos de análises químicas para avaliação da fertilidade do solo.** Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1998. 56 p. (EMBRAPA-CNPS. Documentos, 3).

Tabela 1. Dados referentes às amostras de solo utilizadas no presente trabalho

Experimento	Local	Safra	Nº Amostras	Cultura
Calcáreo vs Potássio	Rio Verde-GO	2012/2013	12	Soja
Doses de Potássio	1º de maio-PR	2013/2014	14	Soja/Milho
KCl	Londrina-PR	2013/2014	8	Milho

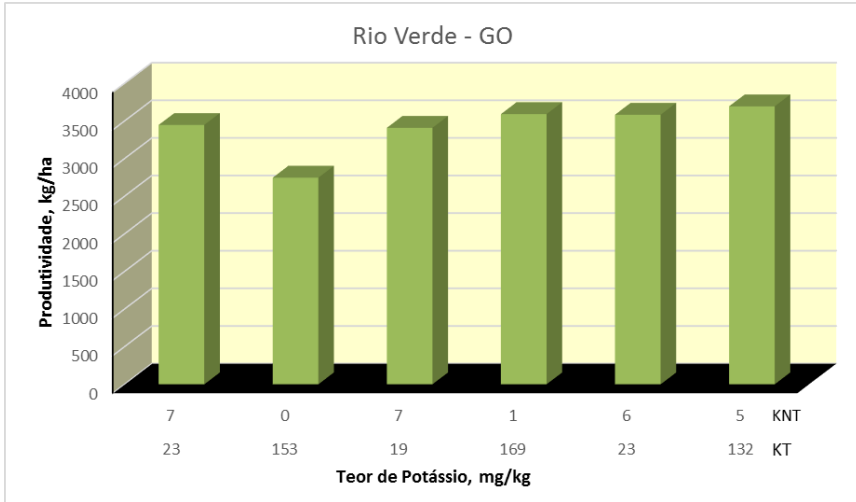


Figura 1. Produtividade de soja em função dos respectivos teores de potássio trocável (KT) e não-trocável (KNT). Rio Verde, GO. Safra 2012/2013

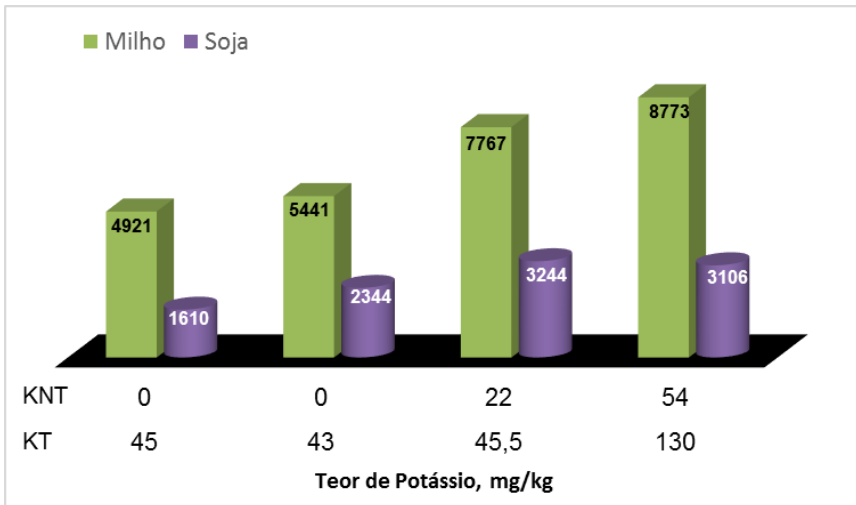


Figura 2. Produtividade de milho e de soja em função dos respectivos teores de potássio trocável (KT) e não-trocável (KNT). Londrina, PR. Safra 2012/2013.

Tabela 1. Teores de potássio trocável (KT) e não-trocável (KNT) nas amostras de solo coletadas no experimento com doses de K em Primeiro de Maio e os respectivos valores de produtividade de milho

Dose de K aplicada kg/ha K ₂ O	Teor de Potássio		Produtividade de Milho kg/ha
	Trocável (KT)	Não-trocável (KNT)	
	----- mgkg ⁻¹ -----		
0	35	27	4303
0	15	50	4795
0	77	84	5477
0	56	29	5702
0	36	61	6247
50	49	24	3764
50	54	38	8276
100	19	63	3604
200	58	33	5859
200	56	43	6009
200	37	29	6127
200	48	70	6578
200	98	43	6607
200	49	43	7656

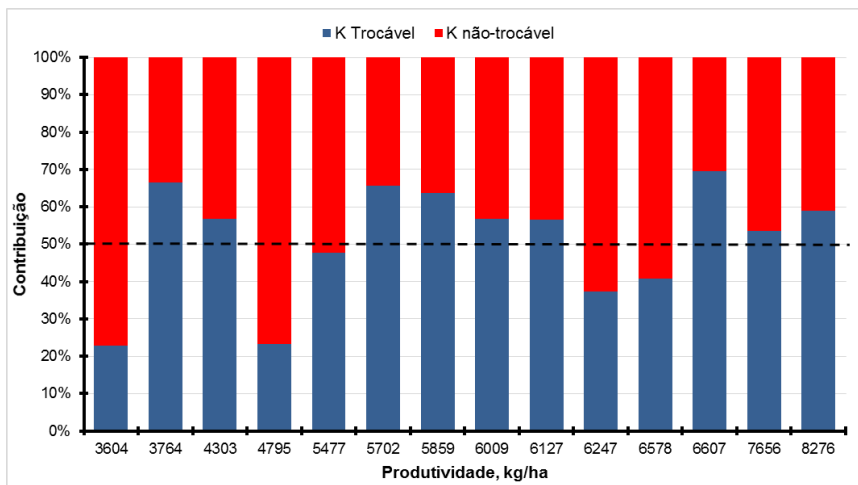


Figura 3. Contribuição percentual dos teores de potássio trocável (KT) e não-trocável (KNT) na produtividade de milho. Primeiro de Maio, PR. Safra 2012/2013

Validação de um sistema para estudo funcional de genes de *Phakopsora pachyrhizi* baseado em silenciamento gênico

CRUZ, B. G.¹; YOKOYAMA, A.²; RINCÃO, M. P.²; CARVALHO, K.³; KAMOGAE, M. K.⁴; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C. M.⁵;

¹Centro Universitário Filadélfia (UNIFIL)- Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná.

²Universidade Estadual de Londrina - Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ³Pós doutorando/CNPq,

Embrapa Soja, Londrina, Paraná.⁴Analista, Embrapa Soja, Londrina, Paraná.⁵Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. e-mail: biaanca_guimaraes@hotmail.com

Introdução

O fungo *Phakopsora pachyrhizi*, causador da ferrugem asiática da soja (FAS), é um fungo biotrófico obrigatório, necessitando obter todos nutrientes necessários para o crescimento através do parasitismo de células do hospedeiro. A infecção da planta hospedeira inicia-se com a germinação do esporo, seguida da formação do apressório e penetração direta pela epiderme. As hifas crescem no espaço intercelular, e cerca de 24-48 horas após a infecção (hai), formam uma estrutura altamente especializada em associação com as células do mesófilo do hospedeiro, chamada de haustório. O haustório representa o ponto de contato mais íntimo entre o patógeno e a planta hospedeira, tendo papel fundamental na interação patógeno-hospedeiro. Cerca de 7 a 9

dias após a germinação do esporo, é possível observar a formação das urédias com a liberação de novos esporos (uredosporos) (MARCHETTI, et al., 1975). Após a infecção, as plantas podem reconhecer e ativar dois tipos de respostas de resistência: PTI (PTI do inglês – *PAMP-triggered immunity*), inespecífica e eficaz para a maioria dos patógenos não especializados, ou ETI (ETI do inglês – *Effector-triggered immunity*), ativada por hospedeiros especializados e capazes de produzir e secretar proteínas efetoras e/ou de (a)virulência no interior das células do hospedeiro que são reconhecidas por receptores específicos, os genes de resistência (R) cognatos. ETI resulta em uma forte resposta de resistência, que, na maioria das vezes, culmina na morte da célula hospedeira localizada e sistêmica sinalização de defesa.

A elucidação dos mecanismos moleculares envolvidos nas respostas de defesa das plantas a fitopatógenos, tanto PTI como ETI, é de fundamental importância, assim como a compreensão das estratégias destes patógenos para penetrar, colonizar e causar doença, permitindo a identificação de rotas/genes essenciais para a virulência e patogenicidade. Devido à elevada variabilidade do patógeno e o elevado impacto na cultura da soja, o estudo de genes essenciais, fatores de avirulência envolvidos na patogenicidade de *P. pachyrhizi* tem ganhado elevada importância. Para estudos funcionais, estratégias moleculares que permitam a obtenção de indivíduos mutantes, seja pela disrupção, inativação ou substituição de sequências gênicas de interesse a nível de DNA, são as mais comuns, mas partem da necessidade de um sistema de transformação genica eficiente, o que ainda é ineficiente em organismos biotróficos. Alternativamente, metodologias de silenciamento gênico pós transcricional (PTGS) têm sido empregadas atualmente com sucesso para o estudo da função de genes. O PTGS constitui um processo celular que leva à degradação específica de mRNAs ou o bloqueio da tradução, impedindo que a informação genética seja expressa. O processo é desencadeado pela presença, no citoplasma, de moléculas de RNA fita dupla, conhecidas como dsRNA (*double stranded RNA*), pela transcrição de microRNAs endógenos, ou mesmo pelo desbalanço nos níveis de um determinado

mRNA (BARBOSA et al., 2004). Uma vez presente no citoplasma, estas moléculas de RNA dupla fita são reconhecidas por proteínas DICER, que atuam como helicases e nucleases de modo que são clivadas em pequenos fragmentos de aproximadamente 21-25 nucleotídeos, chamados de siRNAs (*small interfering RNA*). O siRNAs tem suas fitas separadas e uma delas é incorporada a um complexo protéico chamado RISC (*RNA Induced Silencing Complex*), que irá utilizar a seqüência contida no siRNA como guia, degradando ou bloqueando a tradução do mRNA presente no citoplasma que possua similaridade de seqüência com o siRNA, ou seja, que tenha a seqüência complementar a do siRNA (BARBOSA et al., 2004).

Este processo molecular foi descrito apenas em eucariotos, sendo caracterizado em varias espécies de nematoides, insetos, plantas, animais e fungos. Nos fungos, a maquinaria de PTGS já foi descrita em várias espécies dos filos Ascomycota e Basidiomycota, tais como as espécies *Neurospora crassa*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Cryptococcus neoformans*, dentre outras (NUNES et al., 2011). Especificamente para Basidiomicetos, no subfilo Ustilaginomycota que inclui *P. pachyrhizi*, a presença dessa maquinaria foi identificada em duas espécies, *Malassezia globosa* e *Ustilagomaydis* (NUNES et al., 2011).

Até o momento ainda é relativamente pequeno o número de trabalhos demonstrando a possibilidade do emprego do PTGS como ferramenta para o estudo funcional de genes de fungos biotróficos. Essa hipótese foi testada para o fungo *Blumeria graminis*, em cevada e trigo carregando RNA fita dupla ou RNA anti-senso similar ao gene Avra10 do fungo. O silenciamento levou a redução do desenvolvimento do fungo, indicando que siRNAs ou dsRNAs foram capazes de serem transportados da célula de cevada e trigo para a célula do fungo, levando ao silenciamento do gene alvo no patógeno (NOWARA et al., 2010).

O objetivo deste trabalho foi verificar a presença da maquinaria de silenciamento gênico pós transcricional no genoma do fungo *P.*

pachyrhizi e otimizar os protocolos de inoculação e detecção de dsRNA nos tecidos do patógeno através de testes iniciais com dsRNA similar ao gene GFP (*Green fluorescence protein*).

Material e métodos

1. Identificação de componentes da maquinaria de silenciamento gênico

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Soja. Inicialmente a ferramenta BLASTN (*Basic Local Alignment Search Tool*) foi realizado contra um Banco de Dados Local da Embrapa Soja, contendo cerca de 36 mil ESTs de *P. pachyrhizi*, utilizando sequência de genes já descritos em outros fungos como componentes da maquinaria de silenciamento gênico. Esta busca inicial foi realizada com o objetivo de encontrar sequências similares a estes genes no genoma de *P. pachyrhizi*. Para a realização do BLAST foram utilizadas as sequências das proteínas EFP86699 , EFP85158, EFP76866 e EFP90910 de *Puccinia graminis*, disponíveis no NCBI (National Center for Biotechnology Information), referentes à proteínas essenciais que compõem a maquinaria de silenciamento: DICER, argonauta, exportina e RNase T2, respectivamente.

2. Padronização da administração e detecção do dsRNA-GFP nos tecidos do hospedeiro

Uma molécula de dsRNA similar ao gene GFP foi gentilmente cedida pelo Dr. Eduardo Chumbinho, bem como os *primers* específicos capazes de serem utilizados para a detecção destas moléculas nos tecidos do hospedeiro e patógeno (GFP 1 e 2, e qGFP 1 e 2) .

Com o objetivo de avaliar a melhor forma de administração do dsRNA, aspersão ou microgotas, folhas de soja do genótipo suscetível CD 219 RR foram coletadas, lavadas e deixadas de repouso por uma hora em água destilada. Após o repouso, as folhas foram inoculadas com 800 μ L da solução para inoculação na concentração de 300 ng de dsRNA-GFP por μ L de água destilada (BAILEY et al., 2010). Para a inoculação por aspersão, as folhas foram borrifadas duas vezes (cerca de 200 μ L

por folha) em bandejas e posteriormente transferidas para placas de petri contendo agar a 1%. A inoculação via microgotas (cerca de 40 μL do dsRNA-GFP por folha) foi aplicada diretamente sobre a folha, com auxílio de uma pipeta automática P20 μL , em placa de petri contendo ágar 1%. As placas foram deixadas durante 48 horas em câmara climatizada. Cada tratamento foi realizado em triplicata.

Após o período de 48 horas, as folhas foram lavadas quatro vezes para remover todo o dsRNA da superfície foliar e garantir que qualquer detecção observada após a reação de PCR seria específica para o dsRNA-GFP que foi absorvido pela folha de soja. As águas utilizadas na lavagem também foram submetidas à reação de PCR para a detecção do dsRNA. Depois da lavagem, as folhas foram maceradas em nitrogênio líquido para a extração de RNA. O RNA total foi extraído com o Kit RNeasy Plant Mini Kit, segundo as recomendações indicadas pelo fabricante.

A reação de PCR foi realizada com um volume total de 12,5 μL por reação, utilizando 1 μL do RNA total extraído, mais 6,1 μL de água miliQ, 1,2 μL tampão 10x, 1,0 μL MgCl_2 (50 mM), 1,0 μL dNTP (10 μM), 2 μL de primer (1 μL do forward e 1 μL do reverse) (5 mM) e 0,2 μL de Taq DNA polimerase (5 U/ μL). A amplificação dos fragmentos foi realizada em termociclador com temperatura de desnaturação das fitas à 94°C por 1 min, anelamento dos primers à 62°C por 1 min, e extensão das fitas à 72°C por 1 min, em 35 ciclos de amplificação. A visualização dos fragmentos amplificados foi realizada em gel de agarose 1%, e as imagens foram capturadas através do sistema de imagens Lpix.

3. Permanência dos dsRNA-GFP nos tecidos do hospedeiro

A fim de avaliar a estabilidade e disponibilidade do dsRNA-GFP nos tecidos do hospedeiro, o dsRNA-GFP foi administrado em folhas do genótipo CD 219 RR por ser suscetível à ferrugem, via microgotas, utilizando a mesma concentração de dsRNA-GFP, conforme descrito anteriormente. A detecção da presença do dsRNA-GFP foi conduzida

após 24, 48, 72, 96, e 192 horas da administração. Após a coleta, as folhas foram submetidas à quatro lavagens em água destilada e armazenadas à -80°C até o momento da extração. Após todas as coletas as folhas foram maceradas em nitrogênio líquido para extração do RNA total com o auxílio do mesmo kit de extração de RNA citado anteriormente. O dsRNA-GFP foi detectado mediante PCR convencional conforme descrito no experimento 2. A detecção do dsRNA-GFP em cada tempo foi avaliada em triplicata.

4. Detecção do dsRNA-GFP nos tecidos do patógeno

A detecção de dsRNA-GFP em esporos foi realizada de duas maneiras, utilizando duas soluções de inoculação distintas: uma solução foi preparada e deixada overnight durante 16 horas (BAILEY et al., 2010), e outra preparada no momento da inoculação. Ambas as soluções foram preparadas na concentração de 300 ng de dsRNA-GFP por μL de água destilada, contendo 0,04% de Tween e 104 esporos.mL⁻¹. Folhas de soja do genótipo BRS 360, suscetível à ferrugem, foram lavadas e deixadas de repouso por uma hora em água destilada, sendo posteriormente inoculadas por meio de microgotas, diretamente em placas de petri contendo agar 1%. As folhas foram mantidas em câmara climatizada durante 14 dias, até que o ciclo de infecção do fungo se tornasse completo, permitindo a formação das estruturas reprodutivas do fungo e a esporulação. Para cada tratamento foram utilizadas 16 folhas.

A coleta dos esporos do fungo foi realizada a vácuo e extração do RNA total foi conduzida utilizando o Kit de extração de RNA RNeasy Plant Mini Kit. O dsRNA-GFP foi detectado mediante a PCR convencional utilizando o conjunto de *primers* qGFP 2. A reação de PCR foi realizada com um volume total de 12,5 μL por reação, sendo nas mesmas concentrações dos reagentes descritos anteriormente. A amplificação dos fragmentos também foi realizada à 94°C por 1min, com anelamento à 63°C por 1 min, e extensão das fitas a 72°C por 1 min, com 35 ciclos de amplificação. A visualização dos fragmentos amplificados foi realizada em gel de agarose 1%, e as imagens foram capturadas através do sistema de imagens Lpix.

Resultados e discussão

O BLAST realizado utilizando as sequências de *P. graminis* possibilitou a identificação de sequências similares em *P. pachyrhizi* depositadas no Banco Local de ferrugem da Embrapa Soja, sendo obtidos valores de E-value entre $3e-28$ e 146 , e identidade acima de 60%, indicando a potencial presença destes genes também no genoma de *P. pachyrhizi*. Os testes de especificidade realizados com os quatro pares de *primers* possibilitaram a seleção de dois conjuntos de primers para a detecção de dsRNA de GFP, um para detecção em folha (GFP 2), e um para detecção em esporo (qGFP 2). Os resultados obtidos permitiram confirmar a absorção de dsRNA através da superfície foliar, assim como sua permanência no tecido durante os principais tempos de infecção da planta pelo fungo (24, 48, 72, 96 e 192 horas), conforme observado na Figura 1 (1A e 1B). Os resultados permitiu observar que ambos os métodos de inoculação, aspersão e microgotas, foram eficientes em folhas de soja, permitindo a absorção da molécula de dsRNA. Aparentemente, mesmo utilizando uma quantidade menor de dsRNA, a administração via microgotas parece ter proporcionado maior absorção, considerando que uma mesma quantidade de RNA foi utilizado em ambas as reações. Assim, como a inoculação por microgotas utiliza um menor volume de solução por folhas, este método foi escolhido para ser empregado nos experimentos seguintes.

A detecção de dsRNA-GFP em esporos de *P. pachyrhizi* oriundos de um ciclo de reprodução em folhas de soja também foi obtida com sucesso, sendo detectado o fragmento esperado correspondente ao dsRNA-GFP (Figura 2). Porém, somente a solução preparada no momento da inoculação foi eficiente para causar a doença nas folhas inoculadas, resultando na produção dos esporos testados. A solução preparada e deixada há 16 horas *overnight* não causou nenhum sintoma da doença nas folhas inoculadas.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos foi possível confirmar presença de genes similares à maquinaria de silenciamento pós transcricional

no genoma *P. pachyrhizi*, uma vez que sequências similares foram encontradas no banco de dados Local de ferrugem com elevado nível de confiança. No entanto, os experimentos conduzidos neste trabalho não nos permite ainda afirmar que esta maquinaria é funcional. Em relação ao método de inoculação, ambas as formas de administração foram eficientes na absorção de dsRNA em folhas de soja, mas a de microgotas apresentou maior vantagem quando comparada á inoculação por aspersão. Este trabalho também permitiu concluir que folhas de soja são capazes de absorver moléculas de dsRNA através da superfície foliar, e que estas moléculas podem permanecer disponíveis e estáveis no tecido vegetal por pelo menos 192 horas após a inoculação. Por fim, assim como o observado para as folhas de soja, os esporos do fungo *P. pachyrhizi* são também capazes de absorver moléculas de dsRNA diretamente da solução bem como terem sido transferidas pela planta hospedeira. Estes resultados demonstram que a utilização dessa maquinaria de silenciamento gênico pode constituir uma ferramenta aplicável e viável no estudo do patossistema soja - *P. pachyrhizi*.

Referências

BAILEY, A. M.; NIBLETT, C. **Bioassay for gene silencing**. U.S. n.2010/0257634 A1. 7 Oct. 2010.

BARBOSA, A. S.; LIN, C. J. Silenciamento de genes com RNA interferência: um novo instrumento para investigação da fisiologia e fisiopatologia do córtex adrenal. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n. 5, p. 612-619, 2004.

MARCHETTI, M.A.; UECKER, F.A.; BROMFIELD, K.R. Uredial development of *Phakopsora pachyrhizi* in soybean. **Phytopathology**, v. 65, p. 822-823, 1975 .

NOWARA, D.; GAY, A.; LACOMME, C.; SHAW, J.; RIDOUT, C.; DOUCHKOV, D.; HENSEL, G.; KUMLEHN, J.; SCHWEIZER, P. HIGGS: host-induced gene silencing in the obligate biotrophic fungal pathogen *Blumeria graminis*. **The Plant Cell Online**, v. 22, n. 9, p. 3130-3141, 2010.

NUNES, C. C.; SAILSBERY, J. K.; DEAN, R. A. Characterization and application of small RNAs and RNA silencing mechanisms in fungi. **Fungal Biology Reviews**, v. 25, p. 172-180, 2011.

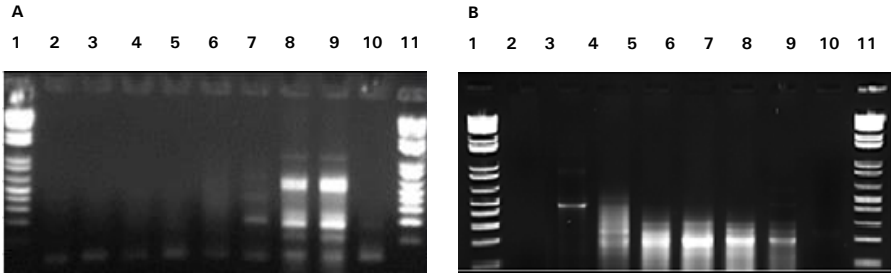


Figura 1: Detecção de dsRNA-GFP via PCR convencional. (A) Detecção de dsRNA-GFP após 48 horas de administração em folhas de soja via aspersão e microgotas – (1 e 11) Marcador 1 Kb plus Invitrogen; (2-5) água utilizada nas 4 lavagens das folhas; (6) DNA de soja; (7) DNA de esporo; (8) amostras de soja inoculadas por aspersão (9) amostras de soja inoculadas por microgotas (10) controle negativo. B) Permanência do dsRNA-GFP em folha de soja. (1 e 10) Marcador 1 Kb plus Invitrogen; (2) DNA de soja; (3) dsRNA intacto; (4-8) amostras de soja inoculadas coletadas em 24, 48, 72, 96 e 192 horas após administração do dsRNA-GFP respectivamente; (9) Controle negativo.

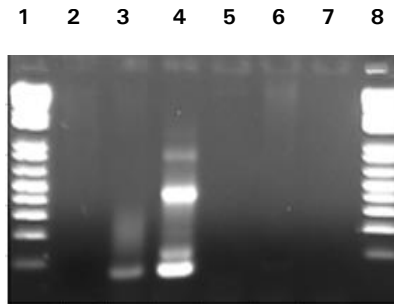


Figura 2: Detecção de dsRNA de GFP em esporo de *P. pachyrhizi* - (1 e 8) Marcador 1 Kb plus Invitrogen; (2) DNA de soja; (3) RNA de esporo com dsRNA de GFP; (4) Produto de PCR de dsRNA de GFP; (5 e 6) Amostras de DNA de esporos; (7) Controle negativo.

Ocorrência de insetos-praga contaminantes em grãos comerciais de soja colhidos na safra 2014/2015

RODRIGUES, C. S.¹; LORINI, I.²

¹ UNIFIL-Centro Universitário Filadélfia, Curso de Agronomia, Londrina, PR. E-mail: camilapariparo@hotmail.com ²Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa Soja). Rodovia Carlos João Strass - Distrito de Warta, Caixa Postal 231, CEP86001 970 Londrina, PR. E-mail: irineu.lorini@embrapa.br

Introdução

A soja, cultura agrícola que mais cresceu no Brasil nos últimos anos, é cultivada principalmente nas regiões Sul e Centro Oeste do país. Estabeleceu-se como um dos produtos mais destacados da agricultura nacional, com uma área cultivada de 31,9 milhões de ha, representando 55% da área grãos do país. Na safra 2014/2015 a produção brasileira de soja está estimada em 96 milhões de toneladas, diante de uma produção total de grãos estimada em 204 milhões de toneladas (CONAB, 2015).

A indústria nacional produz, por ano, cerca de 7,2 milhões de toneladas de óleo comestível e 28,5 milhões de toneladas de farelo proteico. A soja é componente essencial na fabricação de rações animais e

possui também importância crescente na alimentação humana. O consumo interno foi estimado em 39,9 milhões de toneladas em 2014 e exportação foi da ordem de aproximadamente 45,7 milhões de toneladas (CONAB, 2015).

Vários são os problemas que podem afetar a qualidade dos grãos de soja. Entre estes fatores estão os contaminantes dos grãos, como as pragas, os fungos, as micotoxinas, os resíduos de pesticidas usados no campo, no armazenamento e inclusive no transporte dos grãos. Estes contaminantes podem vir da lavoura, da armazenagem do produto e das estruturas armazenadoras que retém estes agentes bióticos e abióticos ao longo dos anos nas diferentes partes de máquinas, equipamentos e instalações de armazenagem. Os focos de infestação como descartes de grãos, poeiras, sobras de classificação, sobras de grãos etc., Devem ser totalmente eliminados dessas estruturas, para permitir o armazenamento sadio e a redução da contaminação (LORINI, 2008; 2012).

Para ser comercializada, seja após um período de armazenamento ou diretamente da lavoura, a soja deve obedecer aos padrões de referência, de acordo com a metodologia estabelecida no Regulamento Técnico da Soja, da Instrução Normativa Nº 11, de 15 de maio de 2007 e Instrução Normativa Nº 37 de 27 de julho de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007a; 2007b), onde estão determinados os defeitos e regras de enquadramento da soja para comercialização.

Muitas destas avarias nos grãos podem ser causadas por os percevejos fitófagos, que por se alimentarem diretamente das vagens no campo, atingem os grãos, afetando seriamente sua qualidade fisiológica e sanitária. Este problema vem se tornando mais sério a cada safra com elevadas populações, falta de monitoramento adequado, aplicação indiscriminada de produtos que levam ao desenvolvimento de resistência de populações entre outros (CORRÊA-FERREIRA, et. al, 2009). Outros fatores, como os insetos-pragas de armazenamento também-podem causar defeitos nos grãos, ou mesmo pela presença

física na massa de grãos isso pode desclassificar o produto ou demandar elevados custos com aplicação do expurgo com fosfina, afim de que possam ser aceitos pelos compradores (LORINI et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi determinar a presença de insetos-pragas contaminantes em amostras comerciais de grãos de soja colhida na safra 2014/15, bem como sua dispersão nos Estados produtores de soja no país.

Materiais e métodos

o trabalho foi realizado no Laboratório de Pós-colheita do Núcleo Tecnológico de Sementes e Grãos “Dr. Nilton Pereira da Costa” da Embrapa Soja em Londrina, PR. As amostras de soja usadas para determinar a presença de insetos-praga foram provenientes da colheita de soja na safra 2014/15 em vários municípios brasileiros. As amostras analisadas correspondem cerca de 20% do total do projeto QUALIGRÃOS- Caracterização da qualidade tecnológica dos grãos de arroz, milho, soja e trigo colhidos e armazenados no Brasil, o qual prevê a coleta de amostras de soja em todas as regiões produtoras do país.

As amostras de grãos de soja foram coletas nas unidades armazenadoras de grãos, de forma representativa conforme preconiza o Regulamento Técnico da Soja da Instrução Normativa Nº 11, de 15 de maio de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007a), logo após serem padronizadas na umidade e destinadas ao armazenamento. Na unidade armazenadora de grãos, selecionada dentro do município de amostragem, foi retirada uma amostra composta de acordo com o período de recebimento da lavoura. Após encerrada esta recepção, a amostra foi reduzida por quarteamento para aproximadamente 3,0 kg, foi identificada e enviada a Embrapa Soja para as análises. Em cada unidade armazenadora foram retiradas três amostras, correspondendo ao período de colheita e recepção na unidade armazenadora, divididos em inicial, intermediário e final do período de colheita no município. Do total de 203 amostras analisadas neste trabalho, 47 foram provenientes do Estado de Goiás, 59 do Mato Grosso do Sul, 20 do Mato Grosso e 77 do Paraná.

No laboratório na Embrapa Soja, cada amostra de 3,0 kg foi dividida em duas partes iguais em equipamento homogeneizador/quarteador, destinando uma das sub-amostras de aproximadamente 1,5 kg para realizar a análise de insetos-praga contaminantes. Cada sub-amostra foi peneirada em peneira de 2,0 mm (mesh 10) e contados o números de insetos-praga presentes com identificação do grupo taxonômico (espécie, gênero, família ou ordem).

O número de insetos-praga por grupo taxonômico e por município de coleta foi graficamente representados para melhor visualização dos resultados.

Resultados e discussão

observou-se que os seguintes contaminantes, que se destacam em maior número, em relação aos demais foram, em ordem decrescente: *Ephestia spp* larva morta (Elm), Partes de insetos (P) e *Ephestia spp* larva viva (Elv). A porcentagem destes contaminantes em relação ao total encontrado foi de 29,7% para (Elm), 23,7% para (P), e 15,6% para (Elv) (Figura 1).

Dentre os municípios avaliados, em aproximadamente 36% destes não foi detectada a presença de contaminantes relacionados a insetos-praga. Verificou-se que no Estado do Mato Grosso do Sul houve um maior número de contaminantes, seguido pelo Paraná, Goiás e Mato Grosso. Outro resultado importante a ser destacado, é a quantidade de partes de insetos encontradas nas amostras do Estado de Goiás, que apresentaram 37,6% do total de partes de insetos, em relação aos demais (Figura 2).

Conclusão

o trabalho demonstrou que existem insetos-pragas contaminantes em grãos de soja produzida no país, predominantes os da ordem Lepidoptera e Coleoptera.

A existência deste tipo de contaminação nos grãos de soja pode prejudicar o valor de comercialização e a competição nos mercados

nacional e internacionais que exigem um padrão de isenção deste tipo de contaminação.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 11, de 15 de maio de 2007. Estabelece o Regulamento Técnico da Soja, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade intrínseca e extrínseca, a amostragem e a marcação ou rotulagem. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília**, DF, 16 maio 2007a. Seção 1, p. 13-15. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=16/05/2007&jornal=1&pagina=13&totalArquivos=72>> . Acesso em: 19 jun. 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 37, de 27 de julho de 2007. Altera o inciso IV, do art. 2º, do Capítulo I, do anexo da Instrução Normativa n. 11, de 15 de maio de 2007, que passa a vigorar com alterações, dando-se nova redação às alíneas “b” e “g” e acrescentando-se a alínea “h”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília**, DF, 30 jul. 2007b. Seção 1, p. 9. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=30/07/2007&jornal=1&pagina=9>> . Acesso em: 19 jun. 2015.

CONAB. ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA GRÃOS. Brasília, DF: Conab, v. 2 Safra 2014/15, n. 9, junho 2015. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_06_11_09_00_38_boletim_graos_junho_2015.pdf. Acesso em: 19 jun. 2015.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MINAMI, C. **A. Percevejos e a qualidade da semente de soja - Série sementes**. Londrina: Embrapa Soja, 2009. 15 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 67).

LORINI, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B., CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 421-444.

LORINI, I. **Manejo integrado de pragas de grãos de cereais armazenados**. 2. ed. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2008. 71 p.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Expurgo da semente de soja com fosfina e seu efeito na qualidade fisiológica** – Série sementes. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 11 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 97).

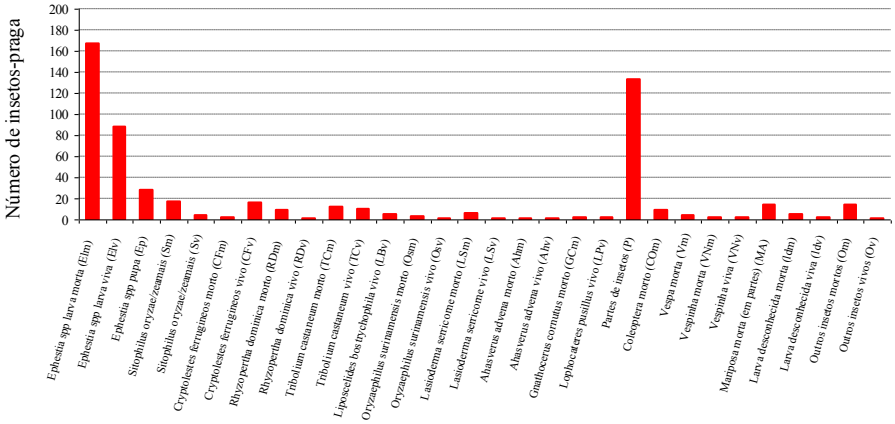


Figura 1. Número de insetos-pragas contaminantes em amostras de grãos de soja, safra 2014/15, provenientes das 203 amostras de soja do PR, MS, GO e MT. Londrina, PR, 2015.

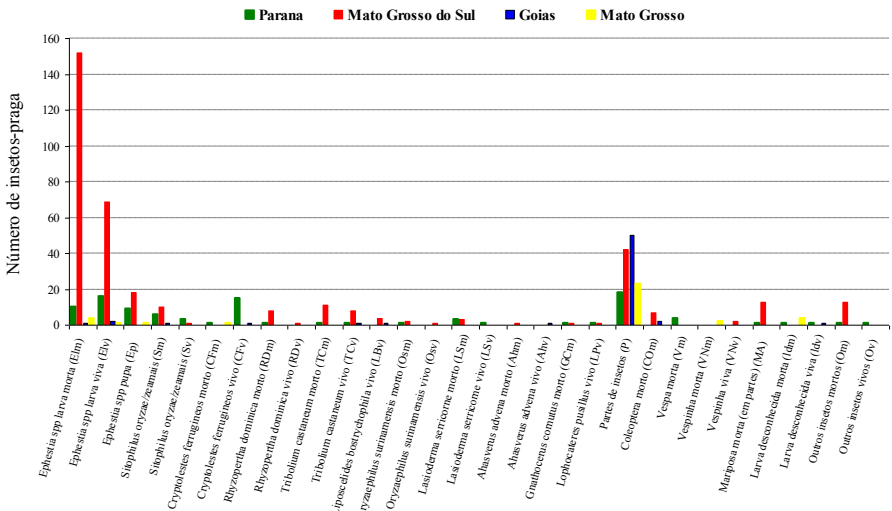


Figura 2. Número de insetos-pragas contaminantes em amostras de grãos de soja, safra 2014/15, provenientes dos Estados de PR, MS, GO e MT. Londrina, PR, 2015.

Transformação de soja via *Agrobacterium tumefaciens* para tolerância a seca

SILVA, C. G. R.¹; MARIN, S. R. R.²; SILVEIRA, C. A.²; FUGANTI-PAGLIARINI, R.²; NEPOMUCENO, A. L.²;

¹Centro Universitário Filadélfia – Unifil; ²Embrapa Soja

Introdução

Mesmo com números positivos e crescentes, a produtividade da cultura da soja pode ser limitada por fatores bióticos e abióticos, dentre os quais a seca tem se destacado por reduzir consideravelmente os rendimentos de grãos, especialmente quando ocorre durante a fase reprodutiva, resultando em perdas financeiras significativas aos produtores. A tolerância à seca é uma característica quantitativa controlada por muitos genes, com baixa herdabilidade e alta interação entre genótipo e ambiente, tornando a adaptação à condição de tolerância à seca, um fenômeno altamente complexo e relativamente difícil de ser trabalhado por métodos clássicos de melhoramento genético. Entretanto, técnicas de melhoramento molecular e engenharia genética permitem atualmente, a manipulação de genes de interesse possibilitando o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas

(GMs) com características mais adaptadas às diferentes condições edafo climáticas (Ainsworth et al., 2012).

Os métodos utilizados na produção de plantas GMs podem ser classificados como diretos e indiretos. No método indireto é necessário a utilização de um vetor biológico para a introdução do DNA na planta. Os vetores mais utilizados são a *Agrobacterium tumefaciens* e *rhizogenes*. As bactérias do gênero *Agrobacterium* são fitopatógenos com a capacidade de transferir parte de seu material genético(T-DNA) para o genoma da planta. O T-DNA faz parte do DNA plasmidial da agrobactéria e, por meio de engenharia genética, é possível sua manipulação para integração de genes de interesse.

Assim, o princípio da transformação de plantas com uma linhagem desarmada de *Agrobacterium* está baseado na seleção de uma ou mais células transformadas e na sua posterior regeneração em uma planta GM. Diferenças na eficiência da transformação via *Agrobacterium tumefaciens* podem ser atribuídas a vários fatores como o genótipo da planta, o tipo do explante, o procedimento de co-cultivo, componentes do meio de inoculação como a presença de substâncias fenólicas para indução da transferência do T-DNA, pH, temperatura, açúcares e o tipo de cepa da *Agrobacterium* utilizada (WU et al., 2003).

A transferência de genes mediada por *Agrobacterium* tem sido bastante empregada, em razão da alta probabilidade de integração de uma ou poucas cópias do transgene. Dessa forma, com o desenvolvimento de vetores binários e sua introdução em linhagens desarmadas de *Agrobacterium*, possibilitou-se a transferência de genes exógenos para plantas, utilizando esta bactéria como vetor de transformação. Neste sentido, este trabalho tem por objetivo a obtenção de soja GM por infecção com *Agrobacterium tumefaciens* contendo vetor com gene para tolerância à seca.

Material e métodos

Foram realizadas transformações de nós cotiledonares imaturos de soja da cultivar BRS 283 de acordo com o protocolo descrito por Paz et al. (2006), e visando melhorar o processo de infecção, o bisturi, instrumento utilizado no protocolo original para ocasionar o ferimento no tecido, foi substituído por uma micro escova de aço inoxidável, conforme descrito por Yamada et al. (2010). A estirpe de *Agrobacterium tumefaciens* utilizada para infecção dos nós cotiledonares foi DH105, considerada altamente virulenta. Essa estirpe de *Agrobacterium* foi transformada via eletroporação com o vetor contendo um gene para tolerância a seca sob o controle de promotor estresse induzido.

Em cada processo de transformação foram utilizadas aproximadamente 100 sementes de soja que foram mantidas em dessecador para desinfecção com gás cloro por 12h. As sementes estéreis foram transferidas para o meio de germinação, composto por 0,032% de Gamborg B5 *Basal Medium* 1X; 0,1% de Vitamina B5 1X; 3% de sacarose; 0,064% de MES; 0,65% de phytagar, pH 5,6 para hidratação por 16h. Após esse período, foi realizado em cada semente um corte horizontal seguido de um corte longitudinal ao longo do hilo para separação dos cotilédones. A seguir, o tegumento, uma porção do embrião e os primórdios foliares foram retirados. Em seguida, os explantes foram transferidos para o meio de co-cultivo contendo a *Agrobacterium* e promovido injúria na região meristemática com o auxílio de uma micro escova de aço inoxidável. Após infecção, os explantes foram dispostos em placa de Petri e mantidos com a parte adaxial voltada para o meio de co-cultivo composto por 0,32% de Gamborg B5 *Basal Medium* 1X; 1% de Vitamina B5 1X; 30g/L sacarose; 4,2% de MES; 4% de phytaagar, suplementado com 0,33% de BAP (5 mg/mL); 0,25% de ácido giberélico (1 mg/mL); 0,2% de acetoceringona (1 M), 1% de tiosulfato de sódio (1M), 1% de DTT (1M) e 4% de L-cisteína (100 mg/mL), pH 5,4 permanecendo por cinco dias em câmara climatizada, com 16h de fotoperíodo, 50 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luminosidade, a 25°C e 60% de umidade relativa.

Após esse período, os explantes foram transferidos para o meio SI1 (*Shoot Induction Medium 1* - sem agente seletivo) com a parte aérea em contato com o meio de cultura para induzir a formação de multibrotos, permanecendo por quinze dias em câmara climatizada nas mesmas condições descritas. O meio SI1 é composto por 0,32% de Gamborg B5 *Basal Medium* 1X; 0,1% de vitamina B5 1X; 3% de sacarose; 0,064% de mês; 0,7% de phytaagar pH 5,6 suplementado com 0,167% de BAP e 0,1% de Meropene (25 mg/L) previamente filtro-esterilizados e adicionados após a autoclavagem. Passado esse período os explantes foram transferidas para o meio SI2 (*Shoot Induction Medium 2*) com a mesma composição que o meio SI1, porém suplementado com o agente seletivo glufosinato de amônio 3mg/L. Os explantes permaneceram no meio SI2 por quinze dias, quando foram cortados na base do cotilédone para exposição de novos tecidos e transferidos para o meio SEM (*Shoot Elongation Medium*), composto por 0,8% de MS 1X; 0,2% de vitamina B5 1X; 6% de sacarose; 0,128% de MES; 1,4% g/L de agar pH 5,6 e suplementado com GA3 (1mg/L), asparagina (100mg/L), ácido piroglutâmico (100mg/L), ácido indol acético (200 μ g/L), trans-zeatina (10mg/L), Meropene (50mg/L) e glufosinato de amônio (12mg/L). A cada quinze dias novas transferências foram realizadas até que os novos brotos estivessem do tamanho de aproximadamente 3 cm de comprimento. Os brotos foram cortados imersos em uma solução de ácido indolbutírico 1:100 (v/v) e colocados no meio RM (Rooting Medium), composto por 0,22% de MS ½X; 0,1% de vitamina B5 1X 2 % de sacarose; 0,064% de MES e 0,7% de agar pH 5,6 e 25mg/L do antibiótico Meropene filtro esterilizado adicionado ao meio autoclavado. Os explantes alongados permaneceram em câmara climatizada por uma ou duas semanas, até o aparecimento de mais de duas raízes. As plântulas com raízes desenvolvidas foram gentilmente lavadas em água para remover o excesso de meio e colocadas individualmente em copos plásticos contendo substrato composto por areia: vermiculita (1:1). As plântulas foram mantidas em câmara de crescimento por uma semana para aclimação e em seguida transferidas para casa de vegetação.

Foram coletadas amostras foliares de cada planta, pulverizadas em shake master na presença de nitrogênio líquido e o DNA genômico extraído de acordo com o protocolo descrito por DOYLE & DOYLE, (1987). Para identificação do transgene as amostras foram submetidas a um PCR convencional utilizando pares de primers específicos para a região codante do gene de interesse com produto de amplificação de 649pb. A reação foi realizada em volume de 25 μ L, composta de 5 μ M de cada primer F e R, 0,4mM de dNTP's, 2 mM cloreto de magnésio, 1U de Taq DNA polimerase e 60 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador modelo Veriti Applied Biosystems e a ciclagem utilizada foi composta por desnaturação inicial de 95°C por 5 min, seguida de 35 ciclos de 95°C por 30 seg, 55°C por 30 seg e 72°C por 30 seg e 72°C por 7 min. Os produtos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,2% corado com brometo de etídeo e visualizados em transluminador UV (Loccus Biotecnologia modelo LPIX).

Resultados e discussão

Um total de 657 nós cotilédonares da cultivar BRS 283 sofreram o processo de infecção por *Agrobacterium tumefaciens*, destes 19 explantes se desenvolveram alcançando a fase de regeneração e tiveram o DNA genômico extraído e testado para a presença do transgene via PCR convencional. Foi confirmada a presença do transgene em seis eventos (Figura 1).

O cálculo de eficiência do processo de transformação foi obtido pela razão entre o número de plantas positivas e o número total de explantes transformados. A eficiência de transformação foi de 0,91%.

Metodologias de transformação genética de soja utilizando *Agrobacterium tumefaciens* podem ser consideradas a opção mais viável pela expressão estável de um gene de interesse, permitindo uma fixação rápida do gene nas gerações seguintes (GIROTTI et al., 2012), evitando os problemas de expressão de genes introduzidos com múltiplas cópias (GELVIN, 2003). Por essa razão, esta técnica

vem sendo amplamente utilizada nas transformações de um grande número de culturas, incluindo-se soja, milho, arroz, algodão e canola. Os eventos obtidos deverão ser caracterizados molecular e fisiologicamente para seleção de um evento “elite”.

Conclusão

O protocolo de transformação de plantas por infecção com *Agrobacterium tumefaciens* foi eficiente para obtenção de plantas de soja GMs contendo gene para tolerância à seca, e seis eventos positivos foram confirmados.

Referências

AINSWORTH, E. A.; YENDREK, C. R.; SITCH, S.; COLLINS, W. J.; EMBERSON, L. D. The effects of tropospheric ozone on net primary productivity and implications for climate change. **Annual Review of Plant Biology**, v. 63, p.637-661, 2012. DOI:10.1146/annurev-arplant-042110-103829.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, p.11-15, 1987.

GELVIN, S. B. Agrobacterium-mediated plant transformation: the biology behind the “gene-jockeying” tool. *Microbiology Molecular Biology Review*, v. 67, p. 16-37, 2003.

GIROTTI, L.; SOLDERA, M. C. A.; HONNA, P. T.; KANAMORI, N.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; NEPOMUCENO, A. L. Transformação da cultivar de soja BR 16 via *Agrobacterium tumefaciens*, com a construção 35S:AREB1. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 6., 2012, Cuiabá. **Soja: integração nacional e desenvolvimento sustentável: resumos**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 15, res. 7.

PAZ, M. M.; MARTINEZ, J. C.; KALVIG, A. B.; FONGER, T. M.; WANG, K. Improved cotyledonary node method using an alternative explant derived from mature seed for efficient *Agrobacterium*-mediated soybean transformation. **Plant Cell Reports**, v. 25, p. 206-213, 2006.

WU, H.; SPARKS, C.; AMOAH, B.; JONES, H. D. Factors influencing successful *Agrobacterium* mediated genetic transformation of wheat. **Plant Cell Reports**, v. 21, pp. 659-668, 2003.

YAMADA, T.; WATANABE, S.; ARAI, M.; HARADA, K.; KITAMURA, K. Cotyledonary node pre-wounding with a micro-brush increased frequency of *Agrobacterium*-mediated transformation in soybean. **Plant Biotechnology**, v. 27, p. 217-220, 2010.

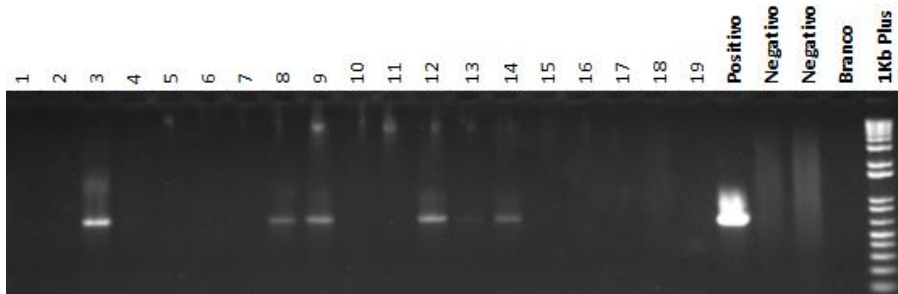


Figura 1. PCR convencional dos eventos TO de soja transformados por infecção por *Agrobacterium*, para confirmação da inserção do transgene. Primer específico a região codante do transgene com produto de amplificação esperado de 649pb.

Suscetibilidade de lagartas *Helicoverpa armigera* a uma formulação comercial de *Bacillus thuringiensis*

OLIVEIRA, C.A.G.¹; SOSA-GÓMEZ, D¹.

¹Universidade Norte do Paraná. Bolsista FUNARBE, Brasil, ²Embrapa Soja. cibeli.oliveira@colaborador.embrapa.br

Introdução

No Brasil, cepas comerciais de *Bacillus thuringiensis* são frequentemente utilizadas como alternativas aos inseticidas químicos no controle de populações de *Helicoverpa armigera* nas culturas do algodão, soja e milho. Entretanto, a resposta dessas populações a esse patógeno deve ser quantificada com a finalidade de verificar a existência de diferenças de suscetibilidade entre populações, assim como determinar a suscetibilidade entre os diferentes instares para inferir o melhor momento de controle.

A determinação do nível de suscetibilidade de um inseto a um determinado agente patogênico ou da virulência de um patógeno é feita, na maioria das vezes, através de bioensaios de laboratório, no qual uma população é infectada pelo patógeno e o efeito é avaliado,

normalmente, através da morte, ou, às vezes, através do surgimento de um determinado sintoma (Alves, 1998).

A caracterização da resposta de *H. armigera* a cepas de *Bacillus thuringiensis* pode indicar do potencial de controle que apresenta esta bactéria assim como determinar se ocorrem diferenças de suscetibilidade entre populações, dependendo do histórico de exposição a esses produtos. Este trabalho teve por objetivos caracterizar a dose resposta de lagartas neonatas e de terceiro instar a uma formulação comercial de *B. thuringiensis* (Dipel®) constituído pela linhagem HD-1, que expressa as endotoxinas Cry1A(a), Cry1A(b), e Cry1A(c) (Masson et al. 1990).

Material e métodos

Dois bioensaios foram conduzidos simultaneamente para avaliar comparativamente a atividade biológica de *B. thuringiensis* em lagartas neonatas e de 3º instar de *H. armigera*. As lagartas neonatas foram inoculadas com suspensões da cepa HD-1 de *B. thuringiensis* [Dipel®, 17.600 Unidades Internacionais(UI) de Potência por mg, com mínimo de 27,5 bilhões de esporos viáveis por g, 33,6 g.L⁻¹ e 966,4 de inertes.g⁻¹, Abbot Laboratories, registro Sumitomo Chemical do Brasil]. As diluições foram incorporadas individualmente a dieta artificial para *H. armigera* (Greene et al., 1976), sem formaldeído e sem antibiótico. O produto comercial foi incorporado na dieta quando a temperatura alcançou 50°C. Utilizaram-se as seguintes concentrações por mL de dieta: 0 UI.mL⁻¹ considerado como testemunha, 78 UI.mL⁻¹, 140 UI.mL⁻¹, 251 UI.mL⁻¹, 453 UI.mL⁻¹, 815 UI.mL⁻¹, 1470 UI.mL⁻¹ e 2640 UI.mL⁻¹. A dieta foi vertida com pipeta de repetição, colocando 1 mL em cada célula da bandeja Bio-Assay Tray Bio-Ba-128, Pitman, NJ,. USA de 128 células (Figura 1).

Em cada concentração, utilizaram-se 16 lagartas, replicando três vezes, o que totalizou 48 lagartas em cada concentração, perfazendo 384 lagartas por bioensaio. As bandejas foram mantidas em câmaras tipo BOD a 27 ° C ± 2 ° C, 14:12 de fotofase e escotofase, respectivamente e umidade relativa de 70 ± 20%.

Nos estudos realizados com lagartas de terceiro instar, foram utilizadas as seguintes concentrações: 78 UI.mL⁻¹, 97 UI.mL⁻¹, 140 UI.mL⁻¹, 251 UI.mL⁻¹, 293 UI.mL⁻¹, 453 UI.mL⁻¹, 815 UI.mL⁻¹, 880 UI.mL⁻¹, 1470 UI.mL⁻¹, 2640 UI.mL⁻¹, 4750 UI.mL⁻¹, 4752 UI.mL⁻¹ e 8550 UI.mL⁻¹. Em cada concentração utilizaram-se 64 lagartas (16 lagartas por repetição), totalizando 832 lagartas inoculadas e 128 lagartas como testemunha, alimentadas com dieta isenta da bactéria.

Devido ao tamanho das lagartas utilizaram-se bandejas com células de volumes maior (32 células por bandeja) (Figura 2). Neste caso foram vertidos 10 mL da dieta com as respectivas diluições. As bandejas foram mantidas nas mesmas condições que as bandejas com neonatas.

As avaliações dos experimentos com ambos instares foram realizadas após sete dias, registrando número de lagartas mortas e o peso (mg) das lagartas sobreviventes. Os dados de mortalidade foram analisados pelo programa Polo Plus (LeOra Software) e os pesos de lagartas por ANOVA, uma vez que os dados apresentaram normalidade dos resíduos (Shapiro & Wilk 1965) e homogeneidade de variância dos tratamentos (Levene, 1960). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, $P < 0,001$ (Sigmaplot, 2001, Systat Software, San Jose, CA, www.sigmaplot.com).

Resultados e discussão

Os valores de CL₅₀ em unidades internacionais de potência indicam uma redução da suscetibilidade de 1,55 vezes entre as lagartas do primeiro e terceiro instar (Tabela 1). Quando comparados os valores de CL₉₉ esta diferença foi de 1,7 vezes, o que representa uma diferença pouco acentuada entre estes instares. Portanto, apesar do aumento de tamanho das lagartas de *H. armigera* ser entre 3 a 3,7 vezes entre primeiro (3,0 -3,03 mm) e terceiro instar (9,35 -11,09 mm) (FERRAL-PIÑA et al. não pub.) a redução de sua suscetibilidade ao *B. thuringiensis* não foi proporcional em relação ao tamanho.

Todas as concentrações de *B. thuringiensis* afetaram significativamente (Tukey, $P < 0,01$) o peso das lagartas neonatas e de terceiro instar, quando comparadas com o peso médio das lagartas não inoculadas.

Comparações com resultados obtidos por Morales et al. (1995) em bioensaios com *Anticarsia gemmatalis* e *Chrysodeixis includens*, utilizando a mesma metodologia, indicariam que *H. armigera* ($CL_{50} = 0,0655 \text{ mg.mL}^{-1}$ de dieta) apresenta suscetibilidade menor que a lagarta-da-soja e maior que a lagarta-falsa-medideira. Entretanto, devem ser realizados bioensaios com um maior número de populações de diferentes origens geográficas para ter melhor estimativa das variações da CL_{50} que ocorrem no país.

Conclusão

Os valores de CL_{50} e CL_{99} indicam uma redução da suscetibilidade pouco acentuada da suscetibilidade entre as lagartas de *H. armigera* de primeiro e terceiro instar, que pode indicar diferenças pequenas na dose quando se realiza o controle de suas populações. Todas as concentrações de *B. thuringiensis* afetaram o desenvolvimento de *H. armigera*.

Referências

ALVES, S.B. ALVES, S. B. (Org.). **Controle Microbiano de Insetos**. 2. ed. Piracicaba-SP: Fealq, 1998. v. 1. 1163p.

GREENE, G.L.; LEPPLA, N.C.; DICKERSON, W. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economy Entomology**, v.69, n.4, p. 487-488, 1976.

LEORA SOFTWARE. **POLO-Plus 1.0 Probit and Logit analysis**. LeOra Software, Petaluma, California. 2003.

LEVENE, H. Robust tests for equality of variances. In: OKIN, I. ; GHURYE, S. G.; HOEFFDING, W.; MADOW, W. G.; MANN, H. B. (Eds.) **Contributions to probability and statistics: essays in honor of Harold**

Hotelling. Stanford: Stanford University Press, 1960. p.278–292.

MASSON, L.; G. PRÉFONTAINE; L. PÉLOQUIN; P. C. K. LAU; R. BROUSSEAU. Comparative analysis of the individual protoxin components in P1 crystals of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* isolates NRD-12 and HD-1. **Biochemical Journal**, v.269, n 3.p.507–512, 1990.

MORALES. L.; MOSCARDI, F.; KASTELIC, J.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PARO, F.E.; SOLDORIO, I.L. *Sucetibilidade de Anticarsia gemmatalis Hubner e Chrysodeixis includens (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae) a Bacillus thuringiensis (Berliner)*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.24, n.3, p. 593-598, 1995.

SHAPIRO, S.S; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v.52, p. 591-611, 1965.

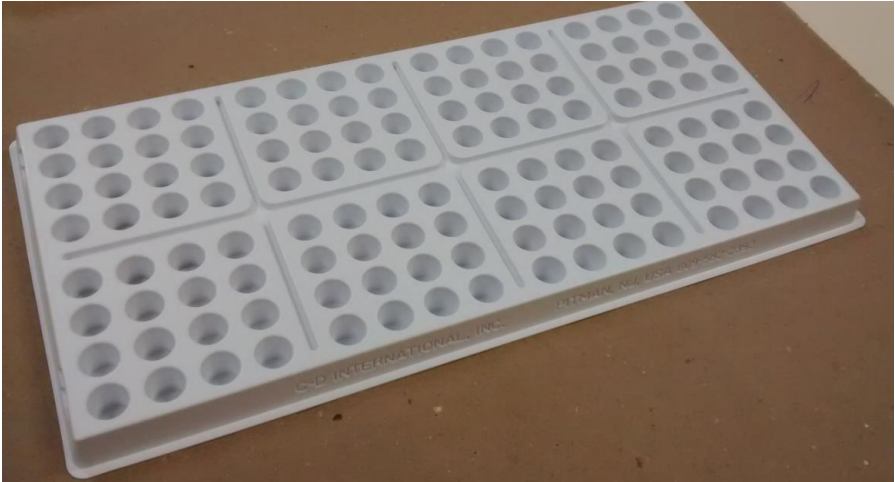


Figura 1: Bandeja Bio-AssayTray Bio-Ba-128 –USA, composta de 128 células



Figura 2: Bandeja de bioensaio com 32 células.

Tabela 1. Concentração letal cinquenta e noventa e nove (CL50 e CL99) em Unidades Internacionais.mL⁻¹ de *Bacillus thuringiensis* incorporada na dieta de lagartas neonatas e terceiro instar de *H. armigera*, avaliados 7 dias após inoculação.

Amostra	N ¹	CL ₅₀	IC (95%)	CL ₉₉	IC (95%)	Coefficiente angular ± EPM ²	χ ²	g.l. ⁽⁴⁾
Neonatas	336	739,62	257,38 – 205,32	2249Ag1,00	8006,90 – 601140,00	1,57 ± 0,43	1,99	5
Terceiro Instar	832	1153,52	597,02 – 804,64	38967,00	15749,00 – 275790,00	1,52 ± 0,16	32,40	11

n¹ = número de insetos submetidos ao teste; EPM² = erro padrão da média

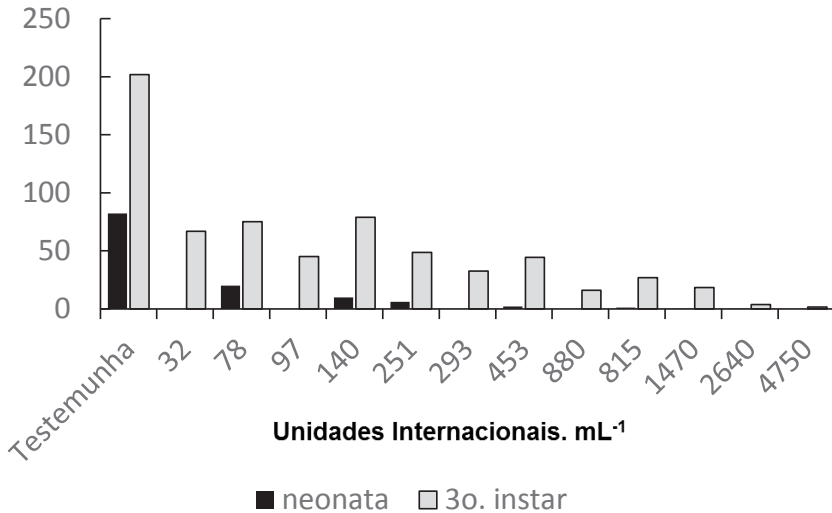


Figura 3: Peso médio de lagartas de *H. armigera* após sete dias da inoculação com *Bacillus thuringiensis* em Unidades Internacionais por mL de dieta.

Resistência do solo em sistemas de manejo e rotação de culturas em Latossolo Vermelho

AVELAR, D. M.¹; SANTOS, E. L.²; DEBIASI, H.³; BALBINOT JUNIOR, A. A.³; CONTE, O.³; FRANCHINI, J.C.³.

¹Universidade Norte do Paraná – UNOPAR, Londrina-PR, e-mail: danydma@hotmail.com; ²Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL, Campus Palhano, Londrina-PR; ³Embrapa Soja, Londrina-PR.

Introdução

A compactação do solo é um dos principais efeitos negativos do uso intensivo do solo para a produção de alimentos. Isso ocorre devido a redução dos teores de matéria orgânica do solo e ao aumento das pressões exercidas pelas máquinas agrícolas nas diferentes operações desenvolvidas durante o ciclo das culturas de interesse econômico. A compactação tem potencial para redução da produtividade uma vez que aumenta a restrição ao desenvolvimento radicular das culturas. Quando a redução de desenvolvimento do sistema radicular ocorre em associação com condições climáticas adversas as perdas de produtividade são potencializadas, podendo tornar-se economicamente importantes. O sistema de plantio direto (SPD) se constitui num conjunto de práticas de manejo do solo que tem demonstrado

apresentar o maior conjunto de benefícios para o sistema produtivo e o ambiente, como o controle da erosão, a conservação da matéria orgânica do solo, manutenção da biodiversidade, além de potencializar a produtividade das culturas por conservar melhor a água no solo (ZOTARELLI et al., 2012; FRANCHINI et al., 2012; FRANCHINI et al., 2007). No entanto, o fato do SPD não utilizar o revolvimento do solo, induz os produtores a acreditar que o solo se compacta mais rapidamente neste sistema e que seria necessário utilizar operações de preparo do solo para evitar/manejar o problema.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de dois sistemas de manejo do solo: o plantio direto e o de preparo do solo com arado de discos e de três sistemas de culturas: as sucessões trigo/soja e milho safrinha/soja e um sistema de rotação de culturas com maior diversificação de culturas no inverno e no verão sobre a resistência do solo e a produtividade da soja durante a safra 2013/2014.

Material e métodos

O experimento vem sendo conduzido na área experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Soja, em Londrina, PR, a 23°12' S e 51°11'W, a 560m de altitude, num esquema fatorial em blocos casualizados, com dois sistemas de manejo do solo e três sistemas de culturas, com quatro repetições. As parcelas experimentais tem 50 metros de comprimento por 8 metros de largura. Os seguintes sistemas de manejo do solo foram comparados: preparo do solo com arado de discos antes do plantio das culturas de verão e preparo do solo com grade pesada antes das culturas de inverno (C) e semeadura direta das culturas sem preparo do solo (D). O experimento consiste de dois sistemas de culturas em sucessão com a soja, sendo um com trigo (S1) e outro com milho em consórcio com *Urochloa ruziziensis* (R2) e um sistema de rotação de culturas com tremoço e aveia como plantas de cobertura e adubação verde no inverno em rotação com o trigo e milho em rotação com a soja no verão (R1). Desta forma seis tratamentos foram comparados CS, CR1, CR2, DS, DR1 e DR2.

As cultivares utilizadas foram selecionadas de acordo com as recomendações anuais e em 2014 todas as parcelas foram cultivadas com a cultivar de soja BRS 360 RR, enquanto no inverno anterior havia sido cultivado trigo cultivar BRS Pardela em S1, aveia preta IAPAR 61 em R1 e milho AG 9010 YG em consorcio com *Urochloa ruziziensis* em R2. Os tratos culturais na cultura da soja seguiram as recomendações indicadas por Tecnologias ... (2014). A colheita da soja foi realizada com colhedora auto propelida, sendo colhidas 6 seis linhas de 38 metros. Os dados foram corrigidas para 13% de umidade. Em março de 2014, após a colheita da soja a resistência a penetração do solo foi avaliada utilizando um penetrometro automatizado SoloTrack da marca Falker. Em cada parcela foram efetuadas 20 leituras espaçadas em 10 cm ao longo de um transecto de 200 cm de comprimento, totalizando 20 leituras por parcela. Estas leituras foram utilizadas para obter a média da parcela e a para a obtenção de gráficos bidimensionais utilizando o programa Surfer®. Os dados foram submetidos a análise de variância usando o modelo fatorial 2 x 3.

Resultados e discussão

O principal efeito dos tratamentos sobre a produtividade da soja foi observado para os sistemas de manejo do solo, com nenhum efeito observado para os sistemas de culturas. Na Figura 1 são apresentados os dados de produtividade da soja no sistemas C e D. Observa-se que o sistema D produziu 1118 kg a mais por ha do que o sistema C. Este resultado está em acordo com os resultados obtidos por Franchini et al., 2012 que observaram maior produtividade do sistema de plantio direto em relação ao sistema de plantio com o preparo do solo. Os autores atribuíram as diferenças observadas, entre outros fatores, ao melhor aproveitamento da água no sistema de plantio direto em relação ao sistema com preparo do solo.

Assim como foi observado para a produtividade, a resistência do solo a penetração somente foi influenciada pelos sistemas de manejo do solo. Na figura 2 são apresentados os perfis médios de resistência para os sistemas D e C. Observa-se nos perfis de resistência que o sistema D apresenta maiores valores de RP do que o sistema C nas camadas

mais superficiais (7,5 e 15 cm), enquanto nas camadas mais profundas o efeito se inverte com o sistema C passando a apresentar os maiores valores de RP. A maior RP observada nas camadas superficiais do SPD está em concordância com os dados observados por Franchini et al. (2009) e estão associados a ausência de revolvimento do solo neste sistema. Apesar dos valores nesta camada chegarem a ordem de 2,6 MPa, os dados de produtividade indicam que este valor de RP não foi restritivo a cultura da soja uma vez que esta apresentou maior produtividade no sistema D. Por outro lado, a ocorrência de maiores valores de RP em camadas mais profundas no sistema C, influenciaram a produtividade da soja, uma vez que esta foi menor neste sistema. A RP nas camadas mais profundas do sistema C chegou a valores médios de 3,3 MPa. Moraes et al. (2014) propuseram o valor de RP em torno de 3 MPa como restritivo ao desenvolvimento do sistema radicular da soja. Desta forma, apesar do sistema D apresentar maior RP nas camadas superficiais esta não atingiu valores restritivos para a soja. Já os valores observados em camadas mais profundas no sistema C superaram o valor indicado pelos autores, sugerindo que a soja encontrou condições mais restritivas ao desenvolvimento de seu sistema radicular em camadas mais profundas de solo neste sistema. Essa restrição pode ter limitado o acesso da cultura a água armazenada em profundidade com grande impacto sobre a produtividade. A maior RP observada em profundidade no sistema C pode estar associada a pressão exercida pelo arado de discos no fundo do sulco de preparo, dando origem a uma região de maior RP comumente conhecida como pé de arado.

Conclusão

O sistema D apresentou maior RP nas camadas superficiais do solo enquanto no sistema C a RP foi maior nas camadas mais profundas (abaixo de 30 cm).

A RP foi mais restritiva a produtividade da soja quando atingiu valores acima de 3 MPa e ocorreu em camadas mais profundas do solo.

Referências

ZOTARELLI, L., ZATORRE, N. P., BODDEY, R. M., URQUIAGA, S., JANTALIA, C. P., FRANCHINI, J.C., ALVES, B. J. R. Influence of no-tillage and frequency of a green manure legume in crop rotations for balancing N outputs and preserving soil organic C stocks. **Field Crops Research**, v. 132. p. 185-195. June. 2012

FRANCHINI, J.C.; CRISPINO, C.C.; SOUZA, R.A.; TORRES, E.; HUNGRIA, M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. **Soil and Tillage Research**, v.92, n.1, p.18-29, 2007.

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; SACOMAN, A.; NEPOMUCENO, A.L.; FARIAS, J.R.B. **Manejo do solo para redução das perdas de produtividade pela seca**. Londrina, PR: Embrapa - Soja, 2009. 42p. (Documentos 314).

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; TONON, B.C.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N.; TORRES, E. Evolution of crop yields in different tillage and cropping systems over two decades in southern Brazil. **Field Crops Research**, v.137, p.178-185, 2012.

MORAES, M. T. de; DEBIASI, H.; CARLESSO, R.; FRANCHINI, J. C.; SILVA, V. R. Critical limits of soil penetration resistance in a Rhodic Eutrudox. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 1, p. 288-298, 2014.

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA: REGIÃO CENTRAL DO BRASIL 2014. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. 265 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 16).

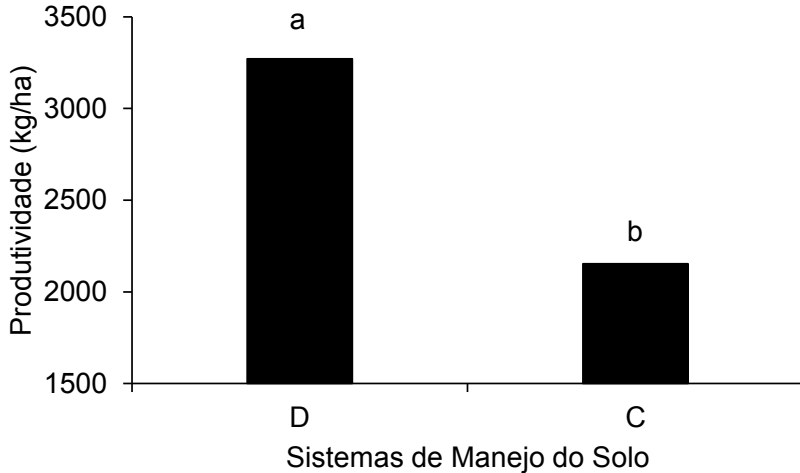


Figura 1. Produtividade da soja em sistemas de manejo do solo em experimento de longa duração em Londrina, Paraná. Sistema de plantio direto (D) e sistema de plantio com preparo do solo com arado de discos (C). Letras minúsculas indicam diferença significativa pelo teste F ao nível de 5%.

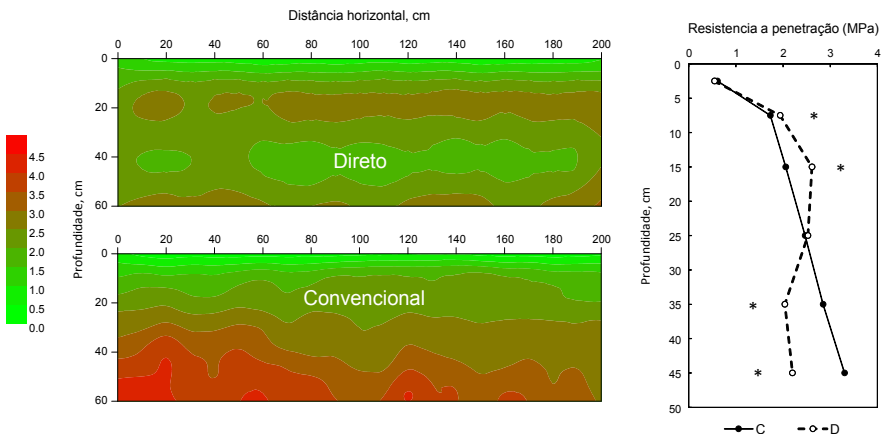


Figura 2. Perfis de resistência a penetração em sistemas de manejo do solo em experimento de longa duração em Londrina, Paraná. Sistema de plantio direto (D) e sistema de plantio com preparo do solo com arado de discos (C). Asteriscos indicam diferença significativa pelo teste F ao nível de 5%.

Avaliação da reação de linhagens de soja ao vírus do mosaico comum da soja (*Soybean mosaic virus*) e ao vírus causador da necrose da haste (*Cowpea mild mottle virus*)

BRIZOLA, D. C.¹, DIAS, L. A.¹, SILVA, J. A.², POLICAN, M. P.¹, R. M.², ALMEIDA, A. M. R.²;

¹Universidade Norte do Paraná; ²Embrapa Soja. Londrina, Paraná, e-mail: alvaro.almeida@embrapa.

Introdução

Atualmente a soja (*Glycine max*) está sendo uma das culturas que mais movimentam a economia do País, tornando-se uma das culturas mais pesquisadas nos dias atuais. A fitopatologia, área que estuda as doenças em plantas, tem buscado solucionar ou minimizar os efeitos causados por patógenos nessa cultura. Existem muitas doenças que limitam o potencial produtivo da soja em nosso país, e dentre elas estão as viroses. Para o manejo dessas doenças, buscam-se soluções para diminuir a ação dos patógenos sobre plantas suscetíveis, como a seleção de plantas resistentes ou tolerantes a determinados vírus.

Dentre os vírus causadores de doenças, que mais se destacam na cultura da soja, o gênero Potyvirus e o gênero Carlavirus são do ponto

de vista econômico, os mais importantes. O potyvírus, *Soybean mosaic virus* (SMV), foi introduzido no Brasil através de sementes infectadas. É transmitido por pulgões, a partir de plantas hospedeiras. Condições climáticas que favorecem a população de pulgões contribuem para maior incidência do vírus no campo. Esse vírus causa uma das doenças de incidência mais frequente e se encontra amplamente distribuído em todas as regiões produtoras do mundo (CHO; CHUNG, 1977; DHINGRA; CHENULU, 1980). O SMV é facilmente transmitido por sementes de plantas infectadas e por várias espécies de afídeos (GARDNER; KENDRICK, 1921; LIMA NETO; COSTA, 1979).

A transmissibilidade do SMV por intermédio da semente, descrita pela primeira vez por Gardner e Kendrick (1921), chega a provocar reduções na germinação. O SMV pode causar perdas superiores a 90%, e reduz a fixação de nitrogênio, o tamanho da semente e seu conteúdo de óleo (ROSS, 1969; CHO; CHUNG, 1977; DHINGRA; CHENULU, 1980). A infecção pelo SMV pode causar também aborto de flores, redução do pegamento de vagens e redução no número e no peso das sementes (ROSS, 1969). A redução da qualidade dos grãos, como um resultado da descoloração da semente (frequentemente descrita como “mancha-café”) também pode ocorrer e resultar em grandes prejuízos. Os sintomas da infecção do SMV em soja incluem mosaico e necrose. Os sintomas associados com o mosaico incluem áreas com clorose, mosaico severo, rugosidade e enrolamento foliar.

Existem três tipos de reação necrótica: necrose local, necrose sistêmica e necrose da ponta da haste. Necrose local é uma reação de hipersensibilidade e lesões necróticas são restritas aos sítios de infecção iniciais nas folhas inoculadas. Necrose sistêmica inclui lesões necróticas, nos folíolos, pecíolos e ramos, inoculados ou não. Sintomas associados com a necrose da ponta da haste incluem a necrose local, necrose sistêmica, queima do broto, enfezamento severo da planta e desfolhamento e ocasionalmente, a morte da planta. Os sintomas podem ser mascarados sob temperaturas acima de 27 °C, apesar de muitos cultivares de soja nunca expressarem sintomas severos, independentemente da temperatura.

Outra doença causada por vírus pertence ao gênero Carlavirus, *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV), conhecida como necrose da haste (ALMEIDA et al., 2003). Apresenta sintomas de nanismo (redução de crescimento) e necrose da haste. Os sintomas geralmente têm início na floração e na formação de vagens com aparecimento de queima do broto e da necrose das hastes. O corte longitudinal das hastes mostra escurecimento da medula e as plantas que não morreram apresentam severos nanismo e folhas deformadas. Conseqüentemente podem produzir vagens deformadas e grãos pequenos. O vírus é transmitido pela mosca branca (*Bemisia tabaci*) (IWAKI et al., 1982). Toda condição que favorece o desenvolvimento da população de mosca branca também favorece o aparecimento da doença, desde que haja planta hospedeira.

O objetivo do trabalho foi verificar a resistência de linhagens de soja ao *Soybean mosaic virus* (SMV) e a tolerância das mesmas linhagens ao Cowpea mild mottle virus (CPMMV) do programa de melhoramento genético da Embrapa.

Material e métodos

A metodologia utilizada para a realização do teste de resistência da soja foi a inoculação mecânica dos vírus nas folhas de plantas sadias. Foram cultivadas 50 linhagens em casa de vegetação, sendo a inoculação realizada no estágio fenológico V2, onde o primeiro trifólio está totalmente desenvolvido.

O inóculo foi preparado utilizando folhas de plantas da cultivar CD 206 previamente contaminadas com CPMMV que apresentavam os sintomas da doença. Plantas da cultivar Santa Rosa foram utilizadas como hospedeiras do SMV. As folhas foram trituradas com tampão fosfato de sódio 0,01M, pH 7,0 e a inoculação mecânica foi realizada com esfregaço de carvão vegetal finamente moído com a finalidade de romper a epiderme.

A avaliação das plantas infectadas com CPMMV foi realizada em torno de 15 a 20 dias após a inoculação, verificando-se o aparecimento de

sintomas. Foram avaliadas 30 plantas de cada linhagem. Quando se verificou número igual ou menor a 25% de plantas com sintomas, a linhagem foi considerada tolerante ao vírus; acima disto, foi considerada suscetível.

Já no caso do SMV, três reações são possíveis: 1) plantas com mosaico e/ou bolhosidade; 2) plantas que manifestam reação de hipersensibilidade; 3) plantas sem sintomas. Plantas do nível 2 e 3 foram consideradas resistentes. Foi mantida a mesma metodologia de cultivo, com inoculação de 20 plantas. A reação de hipersensibilidade, onde ocorre lesão local nas folhas, foi considerada uma reação de resistência. Isso ocorre por ser uma reação de defesa da planta, onde se observa ao redor dos pontos de infecção lesões necróticas.

Resultados e discussão

Os sintomas observados nas plantas suscetíveis ao *Soybean mosaic virus* - SMV foram caracterizados pela formação de bolhas e de folhas trifolioladas encarquilhadas. No caso das linhagens resistentes, algumas apresentaram a reação de hipersensibilidade e outras não apresentaram nenhum sintoma sendo consideradas resistentes.

A avaliação do vírus da necrose da haste constatou apenas 4 linhagens suscetíveis sendo as demais tolerantes ao vírus.

Das 50 linhagens avaliadas com SMV apenas 16 apresentaram sintomas de mosaico e foram consideradas suscetíveis. As demais foram consideradas resistentes ao vírus por não apresentarem sintomas ou apresentarem reação de hipersensibilidade. Sendo assim 68% foram resistentes e 32% suscetíveis ao vírus do mosaico comum da soja.

A resistência ao SMV foi a princípio, atribuída a um par de alelos (KIIHL; HARTWIG, 1979). Mais tarde outros alelos foram descobertos, todos descritos no mesmo locus (CHEN et al. 1993; CHEN et al. 1994).

Já na avaliação da necrose da haste, causada pelo *Cowpea mild mottle virus* (BRUNT; KENTEN, 1973), (de 50 linhagens testadas apenas quatro apresentaram mais de 25% de plantas infectadas. Sendo assim 92% foram tolerantes e 8% suscetíveis. Isso decorre do fato de as linhagens testadas, neste experimento, possuírem o gene de tolerância (A.M.R. Almeida, comunicação pessoal).

É importante destacar que no período de cultivo ocorreu alta incidência de mosca branca em casa de vegetação, o que leva a suspeitar que a grande maioria das plantas, desse lote de sementes, pertencem a linhagens tolerantes.

Conclusão

Há opções de linhagens resistentes/tolerantes aos vírus estudados que podem ser utilizadas no programa de melhoramento. Esse trabalho é realizado de forma continuada de modo a atender a área de melhoramento genético, da Embrapa Soja, oferecendo subsídios para o registro de novas cultivares.

Referências

ALMEIDA, A.M.R.; PIUGA, F.F.; KITAJIMA, E.W.; GASPAR, J.O.; VALENTIN, N.; BENATO, L. C.; MARIN, S.R.R.; BINNECK, E.; OLIVEIRA, T.G.; BELINTANI, P.; GUERZONI, R.A.; NUNES JR, J.; HOFFMANN, L.; NORA, P.S.; NEPOMUCENO, A.L.; MEYER, M.C.; ALMEIDA, L.A. **Necrose da haste da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2003. 44 p. (Embrapa Soja. Documentos, 221).

BRUNT, A.A., KENTEN, R.H. Cowpea mild mottle, a newly recognized virus infecting cowpea (*Vigna unguiculata*) in Ghana. **Annals of Applied Biology**, v. 74, p. 67-74, 1973.

CHEN P., BUSS G.R., ROANE C.W., TOLIN S.A. Inheritance in soybean of resistant and necrotic reactions to soybean mosaic virus strains. **Crop Science** v. 3, p. 34:414–422. 1994.

CHEN P., BUSS G.R., TOLIN, S.A. Resistance to soybean mosaic virus conferred by two independent dominant genes in PI 486355. **Journal of Heredity** v.1, p. 84:25–28. 1993.

CHO, E.K., CHUNG, B.J. Studies on identification and classification of soybean virus diseases. I. Preliminary studies on a soybean virus diseases. **Korean Journal of Plant Protection**, v 1, p. 61-68, 1977.

DHINGRA, K.L., CHENULU, V.V. Effect of Soybean mosaic virus on yield and nodulation of soybean cv. Bragg. **Indian Phytopathology**, v. 33, p. 586-590.1980.

GARDNER, M.W.; KENDRICK, J.B. Soybean mosaic. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 22, p.111-114, 1921.

IWAKI, M.; THONGMEEARKOM, P.; PROMMIN, M.; HONDA, Y.; HIBI, T. Whitefly transmission and some properties of *Cowpea mild mottle virus* on soybean in Thailand. **Plant Disease**, v. 66, p. 365-368, 1982.

KIIHL, R.A.S.; HARTWIG, G.R.E. Inheritance of reaction to Soybean mosaic virus in soybeans. **Crop Science**, v. 19, p. 372-375, 1979.

LIMA NETO, V.C.; COSTA, A.S. Influência da idade da planta e número de vetores na transmissão do mosaico comum da soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 4, p. 397-400, 1979.

Tabela 1. Reação de 50 linhagens de soja ao vírus do mosaico comum da soja (SMV).

LINHAGEM	TÍTULO	REAÇÃO	LINHAGEM	TÍTULO	REAÇÃO
1	Final RR	R	28	Final RR	R
2	Final RR	S	29	Final RR	R
3	Final RR	R	30	Final RR	R
4	Final RR	S	31	Final RR	R
5	Final RR	R	32	Final RR	R
6	Final RR	R	33	Final RR	R
7	Final RR	R	34	Final RR	R
8	Final RR	R	35	Final RR	S
9	Final RR	S	36	Final RR	R
10	Final RR	R	37	Final RR	S
11	Final RR	R	38	Final RR	S
12	Final RR	S	39	Final RR	R
13	Final RR	S	40	Final RR	R
14	Final RR	S	41	Final RR	R
15	Final RR	S	42	Final RR	R
16	Final RR	S	43	Final RR	R
17	Final RR	R	44	Final RR	R
18	Final RR	S	45	Final RR	R
19	Final RR	S	46	Final RR	R
20	Final RR	S	47	Final RR	R
21	Final RR	R	48	Final RR	R
22	Final RR	R	49	Final RR	R
23	Final RR	S	50	Final RR	R
24	Final RR	S			
25	Final RR	R	SANTA ROSA	TEST. +	S
26	Final RR	R	CD 202	TEST. -	R
27	Final RR	R			

Tabela 2. Reação de 50 linhagens de soja ao *Cowpea mild mottle virus* – CPMMV, causador da necrose da haste.

LINHAGEM	TÍTULO	REAÇÃO	LINHAGEM	TÍTULO	REAÇÃO
1	Final RR	T	28	Final RR	T
2	Final RR	T	29	Final RR	S
3	Final RR	S	30	Final RR	T
4	Final RR	T	31	Final RR	T
5	Final RR	T	32	Final RR	S
6	Final RR	T	33	Final RR	T
7	Final RR	T	34	Final RR	T
8	Final RR	T	35	Final RR	T
9	Final RR	T	36	Final RR	T
10	Final RR	T	37	Final RR	T
11	Final RR	T	38	Final RR	T
12	Final RR	T	39	Final RR	T
13	Final RR	T	40	Final RR	T
14	Final RR	T	41	Final RR	T
15	Final RR	T	42	Final RR	T
16	Final RR	T	43	Final RR	T
17	Final RR	T	44	Final RR	T
18	Final RR	T	45	Final RR	T
19	Final RR	T	46	Final RR	T
20	Final RR	T	47	Final RR	T
21	Final RR	T	48	Final RR	T
22	Final RR	T	49	Final RR	T
23	Final RR	T	50	Final RR	T
24	Final RR	T			
25	Final RR	T	CD 206	TEST.+	S
26	Final RR	S	BRS 133	TEST.-	T
27	Final RR	T	BRSMT PINTADO	TEST.-	T

T = tolerante. S = Suscetível Final. R = Resistente. RR = Avaliação final das características da linhagem transgênicas resistentes ao herbicidas glifosato. TEST.- = Testemunha negativa para sintomas do vírus da necrose da haste. TEST. + = Testemunha positiva para sintomas da necrose da haste.

Análise da segregação da progênie de plantas de soja transformadas via *Agrobacterium tumefaciens* para tolerância a seca

MATSUO, D. T.¹; MARIN, S.R.R.²; SILVEIRA, C.A²; FUGANTI-PAGLIARINI, R.²; NEPOMUCENO, A. L.³;

¹Universidade Norte do Paraná- Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ²Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ³Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná.

Introdução

Com o desenvolvimento da engenharia genética, muitos genes relacionados com estresses abióticos como tolerância a seca, salinidade, calor e com estresses bióticos, como resistência a doenças, além de outras características de interesse agrônômico têm sido incorporados em plantas de interesse econômico como a soja. Esses genes podem ser isolados de outras plantas, microrganismos ou animais (Visarada et al., 2009). As plantas transgênicas obtidas pelo método indireto de transformação via *Agrobacterium tumefaciens* geralmente apresentam baixo número de cópias do transgene, fato vantajoso para o desenvolvimento de eventos elite a serem repassados

ao programa de melhoramento, para introgressão da característica em cultivares comerciais.

Quando uma planta é transformada com um gene de interesse, o transgene é integrado no genoma em somente um dos dois cromossomos homólogos na primeira geração (T_0), neste caso o transgene está em hemizigose. De acordo com as leis de segregação de Mendel, após autofecundação de uma planta T_0 abrigando uma única cópia do transgene (A), são esperados na geração T_1 que 25% das plantas sejam homozigotos (AA), 50% sejam heterozigotas (Aa) e 25% das plantas não contenham o gene. Sendo assim, após a obtenção das plantas transgênicas, faz-se necessária a caracterização molecular dos eventos quanto ao número de cópias inseridas, estudo de herança e a análise da expressão gênica, uma vez que o local de integração e quantidade de cópias inseridas do transgene pode influenciar, positivamente ou negativamente, na resposta da planta.

É importante verificar se a segregação do transgene ao longo das gerações segue as leis de segregação de Mendel com resultado esperado de 3:1, indicando que, provavelmente, a planta transformada contenha apenas uma cópia do transgene. Assim, para a descendência T_1 pode-se inferir o número de cópias de acordo com sua zigosidade. Entretanto, esse dado só pode ser confirmado com a análise da geração T_2 observando se a prole é toda homozigota pela presença do transgene. Cabe ressaltar que a inserção de múltiplas cópias do transgene pode levar à desarranjos cromossômicos no genoma, silenciamento gênico e outros efeitos que dificultam a interpretação da real interação entre os produtos gênicos (MENG et al., 2006; SCHUBERT et al., 2004).

A transformação via *Agrobacterium tumefaciens*, auxilia no desenvolvimento de estratégias visando à obtenção de cultivares de soja mais tolerante ao déficit hídrico, uma vez que alguns pontos como a herança poligênica da característica e a baixa variabilidade genética da cultura dificultam o uso do melhoramento genético da soja e de suas técnicas clássicas. Assim, o presente trabalho objetivou

analisar a segregação da progênie de plantas de soja transformadas com transgene para tolerância à seca por meio de infecção de *Agrobacterium tumefaciens*.

Material e métodos

Foram utilizados sementes T₁ de 5 eventos GMs diferentes, transformados para tolerância a seca via infecção de *Agrobacterium tumefaciens*. Foram analisadas 13 sementes do evento 1, 58 sementes do evento 2, 52 sementes do evento 3, 41 sementes do evento 4 e 37 sementes do evento 5.

As sementes foram semeadas em vasos de 8L com substrato constituído de terra:areia:composto orgânico (3:2:2), em casa de vegetação. Quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento vegetativo V2-V3, uma amostra de folhas jovens na região apical da planta foi coletada. As amostras foram pulverizadas em shake master na presença de nitrogênio líquido e o DNA genômico extraído de acordo com o protocolo descrito por DOYLE & DOYLE, (1987). A qualidade do DNA extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídeo e visualizado em transluminador UV (Loccus Biotecnologia modelo LPIX). O DNA foi analisado via PCR convencional para confirmação da presença do inserto.

Para identificação do transgene, as amostras foram submetidas a um PCR convencional utilizando um par de *primers* específico para a região codante do gene de interesse (5´ ATGAACTCATTTTCTGCTTTTTCTG3´ e 5´TTAATAACTCCATAACGATACGTCG3´) com produto de amplificação de 649pb. A reação foi realizada em volume de 25µL, composta de 5µM de cada primer F e R, 0,4mM de dNTP's, 2 mM cloreto de magnésio, 1U de Taq DNA polimerase e 60 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador modelo Veriti Applied Biosystems e a ciclagem utilizada foi composta por desnaturação inicial de 95°C por 5 min, seguida de 35 ciclos de 95°C por 30 seg, 55°C por 30 seg e 72°C por 30 seg e 72°C por 7 min. Os produtos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,2% corado com brometo de etídeo e visualizados em transluminador

UV (Loccus Biotecnologia modelo LPIX). A análise da segregação foi feita identificando a presença ou ausência de bandas específicas no gel de agarose. O teste do χ^2 ($p \leq 0.05$) foi realizado para verificar se o transgene apresentava segregação mendeliana.

Resultados e discussão

Dos cinco eventos T_1 avaliados, dois (eventos 1 e 3) apresentaram amplificação da progênie (Figura 1) e segregaram de acordo com as Leis de Mendel, apresentando segregação de 3:1 (Tabela 1). Supõe-se, considerando a segregação mendeliana de 3:1 e o método de *Agrobacterium tumefaciens* utilizado para obtenção dos eventos, que geralmente insere baixo número de cópias, que foi inserido apenas uma cópia do transgene no genoma desses dois eventos. Contudo, é necessária a avaliação da geração T_2 para confirmação desse dado. Três eventos (2, 4 e 5) não transmitiram o transgene para sua descendência. De acordo com Romano e colaboradores (2005) os possíveis mecanismos envolvidos na eliminação de transgenes são recombinações intracromossomais, instabilidades genéticas provenientes das manipulações da cultura de tecido, e co-eliminação dos transgenes ativado por algum processo de defesa do genoma da planta. Assim algum desses mecanismos pode ter promovido à eliminação do transgene na progênie desses eventos.

Conclusão

A análise de segregação permitiu selecionar dois eventos (1 e 3) que na geração T_1 se comportaram de acordo com as Leis de Segregação de Mendel, possibilitando o avanço de geração nesses eventos para análises complementares para confirmação do número de inserção, expressão gênica relativa para avaliação do efeito do transgene e posição de inserção para posterior seleção de um evento “elite”. Os eventos 2, 4, 5 não apresentaram a presença do transgene na geração T_1 e foram descartados.

Referências

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bull**, v.19, p.11-15, 1987.

MENG, L.; ZIV, M.; LEMAUX, P. G. Nature of stress and transgene locus influences transgene expression stability in barley. **Plant Molecular Biology**, v.62, p.15–28, 2006.

ROMANO, A.; VAN DER PLAS, L. H. W.; WITHOLT, B.; EGGINK, G., MOOIBROEK, H. Expression of poly-3-(R)-hydroxyalkanoate (PHA) polymerase and acyl-CoA-transacylase in plastids of transgenic potato leads to the synthesis of a hydrophobic polymer, presumably medium-chain-length PHAs. **Planta**, v.220, p.45-464, 2005.

SCHUBERT, D.; LECHTENBERG, B.; FORSBACH, A.; GILS, M.; BAHADUR, S.; SCHMIDT, R. Silencing in Arabidopsis T-DNA transformants: the predominant role of a gene-specific RNA sensing mechanism versus position effects. **Plant Cell**, v.16, p.2561–2572, 2004.

VISARADA, K. B. R. S.; MEENA, K.; ARUNA, C.; SRUJANA, S.; SAIKISHORE, N.; SEETHARAMA, N. Transgenic breeding: Perspectives and prospects. **Crop Science**, v. 49, n. 5, p. 1555-1563, 2009.

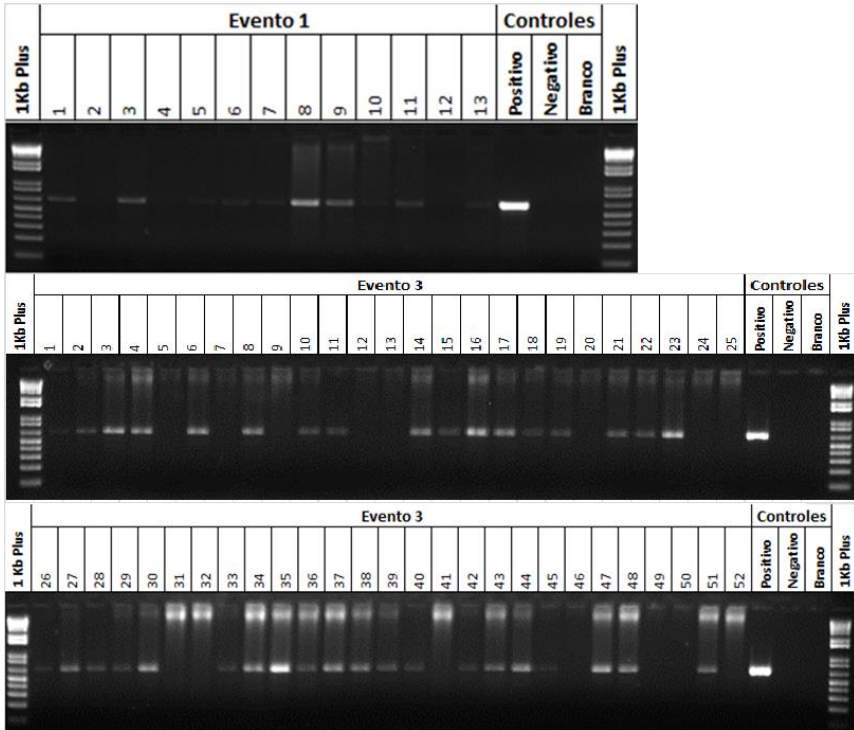


Figura 1. PCR convencional realizado com *primers* específicos para a região codante do transgene em plantas de soja transformadas via *Agrobacterium tumefaciens* para seleção de eventos positivos. Produto de amplificação esperado de 649pb.

Tabela 1. Proporção da segregação do transgene na geração T₁ dos cinco eventos GMs obtidos com a construção específica para tolerância à seca.

	Total de plantas T ₁	Positivas (Fo)	Negativas	Fe	Proporção da segregação	χ^2	P(%)
Evento 1	13	10	3	9,75	3:1	0,00641	NS
Evento 2	58	0	58	43,5	0	43,5	S
Evento 3	52	38	14	39	3:1	0,025641	NS
Evento 4	41	0	41	30,75	0	30,75	S
Evento 5	37	0	37	27,75	0	27,75	S

Legenda. Fo = Frequência observada; Fe = Frequência esperada; $\chi^2 = (Fo-Fe)^2/Fe$; NS = Não Significativo; S = Significativo.

Análise de lignina em diferentes partes da soja utilizando o método do brometo de acetila

CASULA. D. K.¹; KRZYZANOWSKI F. C.¹

¹Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina, Paraná. e-mail: divalter.casula@colaborador.embrapa.br

Introdução

A lignina é um complexo heteropolímero natural encontrado na parede celular de plantas vascularizadas. Perdendo somente para a celulose, é o segundo maior componente da parede celular. Sua presença fornece à planta rigidez, suporte estrutural e impermeabilidade à água (FRY, 1986; BAY, 1995). Essa é sintetizada pelas plantas a partir da polimerização de álcool p-hidroxicianamil substituindo-o através da catálise de peroxidases. Sua formação pelos álcoois cianâmílicos precursores varia de acordo com o tecido vegetal, idade, clima, luz solar e temperatura (VAN SOEST et al, 1991).

Alguns autores enfatizam estudos com essa substância, pois a sua presença na parede celular do tegumento oferece à planta resistência a danos mecânicos. (RIJO, 1983). Como a semente de soja é muito

suscetível ao dano mecânico (FRANÇA, 1984), a qualidade da semente acaba sendo comprometida nos processos de colheita e manuseio (COSTA, 1987).

A variabilidade genética da soja para resistência ao dano mecânico foi demonstrada por Carbonell e Krzyzanowski (1995), que através do teste do pêndulo, classificaram 12 cultivares de soja em três grupos de resistência: resistentes, moderadamente resistentes e suscetíveis. Posteriormente, Alvarez et al. (1997) demonstraram que tal superioridade de qualidade de semente da cultivar Doko era atribuída ao maior conteúdo de lignina no tegumento de suas sementes, que possuíam índices acima de 6%, verificando uma estreita correlação entre o conteúdo desse polímero e a resistência ao dano mecânico, indicando a importância da seleção de linhagens com alto teor de lignina para a geração de cultivares com melhor qualidade de semente.

Os métodos mais comuns para a determinação da Lignina são o de Klason, e os que utilizam Ácido Tioglicólico, e Brometo de Acetila. Destes métodos o mais rápido, simples e que apresenta melhores índices de recuperação de lignina é o método com Brometo de Acetila (MOREIRA-VILAR, 2014), o qual também foi escolhido como padrão de referência para o método espectrofotométrico por FUKUSHIMA, 2000.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as diferenças nos teores de lignina nas folhas, vagens e tegumentos de três cultivares de soja, utilizando para a sua determinação o método espectrofotométrico com Brometo de Acetila.

Material e métodos

Para determinar a quantidade de lignina nas folhas, estas foram inicialmente selecionadas com e sem ferrugem; posteriormente, foram separadas para análise com pedúnculo e nervuras e somente o limbo foliar. Na análise do tegumento as sementes foram imersas em água por aproximadamente 12 horas, em um béquer de 50 mL, para posterior separação dos tegumentos. Para a quantificação de lignina na vagem, foram retiradas e descartadas todas as sementes. Todos os

materiais, folhas, tegumentos e vagens foram secos em estufa, por 16 horas a 80°C.

Os tecidos a serem analisados foram submetidos a um tratamento prévio para excluir as proteínas e outros materiais absorventes de UV. Esta remoção é essencial para evitar a medição destes constituintes em conjunto com a lignina a 280 nm. Amostras secas (0,3 g) foram homogeneizadas em tampão de fosfato de potássio 50 mM (7 ml, pH 7,0) utilizando um almofariz e um pilão e, em seguida, transferida para um tubo de centrifugação. O material homogeneizado foi centrifugado (1400 x g, 5 min) e depois lavado e centrifugado duas vezes com tampão de fosfato (pH 7,0; 7 ml), três vezes com 1% (v / v) de Triton X-100 em tampão a pH 7,0 (7 ml), duas vezes com 1 Molar de NaCl em tampão de pH 7,0 (7 ml), duas vezes com água destilada (7 ml), e duas vezes com acetona (5 ml). O sedimento foi seco sob vácuo e logo após em uma estufa (60 °C, 24 h). A matéria seca foi definida como a fração da parede celular livre de proteínas.

Alíquotas (20 mg) desse material foram colocadas em tubos de centrífuga com tampa de rosca contendo 0,5 ml de brometo de acetila a 25% (v / v em ácido acético glacial) e incubadas a 70 °C durante 30 min. Depois de completa a digestão, a amostra foi colocada rapidamente num banho de gelo, e, em seguida, misturada com 0,9 ml de NaOH 2 M, 0,1 ml de 7,5M de hidroxilamina-HCl, e com um volume de ácido acético glacial suficiente para a solubilização completa do extrato de lignina. Após a centrifugação (1400 x g, 5 min), a absorbância do sobrenadante foi medida a 280 nm.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 3 repetições composta 4 sub-amostras cada uma, das cultivares BRS 360 RR, Doko e VMAX. As variáveis respostas analisadas foram porcentagem de lignina na parede celular das vagens, tegumento e folhas. A análise de variância (ANOVA) e os testes de comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) foram utilizados (CANTERI, 2001).

Resultados e discussão

Não foram observadas diferenças significativas entre as cultivares avaliadas quanto ao percentual de lignina nas vagens (Tabela 1.)

Na análise de lignina do tegumento das sementes das cultivares BRS 360RR e V-MAX, observou-se diferença significativa entre os genótipos avaliados (Tabela 2).

Quando foram analisadas folhas infectadas com ferrugem, foi detectado um aumento da quantidade de lignina na parede celular das folhas em diferentes épocas. Sabe-se que a planta altera a quantidade de lignina em sua parede celular conforme o estágio de maturação (Tabela 3).

Na análise das folhas das cultivares (folhas completas) BRS 360RR e Doko também ocorreu diferença significativa na concentração de lignina na parede celular (Tabela 4).

Conclusão

Faz-se necessário um estudo mais detalhado para avaliar se ocorre variabilidade genética para teor de lignina nas vagens de distintos cultivares, por ser este o primeiro tecido protetor da semente no campo e nas cultivares avaliadas não foi observada variação.

Na análise da concentração de lignina nos tegumentos das cultivares V-MAX e BRS 360 RR foi detectada uma diferença que já era esperada, dado que a cultivar V-MAX é conhecida por ter sementes com alta resistência aos danos mecânicos.

Na análise das folhas com ferrugem observou-se um aumento no teor de lignina conforme avançou o estágio de desenvolvimento. Uma hipótese que pode ser discutida é que esse aumento pode ser entendido como uma reação de defesa da planta à ação do fungo quanto à penetração via parede celular.

A variação no teor de lignina nas folhas de distintos cultivares é um indicativo de que existe variabilidade genética para teor de lignina nas folhas.

Referências

ALVAREZ, P.J.C.; KRZYZANOWSKI, F.C.; MANDARINO, J.M.; FRANÇA-NETO, J.B. Relationship between soybean seed coat lignin content and resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 25, n.2, p. 209–214, 1997.

BAY, A.P.M.; TAYLOR, A.G.; and BOURNE, M.C. The influence of water activity on three genotypes of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in relation to mechanical damage resistance. **Seed Science and Technology**, v. 23, n.3, p. 583–593, 1995.

CANTERI, M. G.; ALTHAUS, R. A.; VIRGENS FILHO, J. S.; GIGLIOTI, E. A.; GODOY, C. V.; SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24, 2001.

CARBONELL, S.A.M.; KRZYZANOWSKI, F.C. The pendulum test for screening soybean genotypes for seed resistant to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 23, n.2, p. 331–339, 1995.

COSTA, A.B.; KUENEMAN, E.A.; MONTEIRO, P.M.F.D. Varietal differences in soybeans for resistance to physical damage of seed. **Soybean Genetics Newsletter**, v. 14, p. 73–76, 1987.

FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. **Qualidades fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: Embrapa CNPSO, 1984. 39P. (Embrapa CNPSO. Circular técnica, 9)

FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 37, p. 165–186, 1986.

FUKUSHIMA, R.S.; DEHORITY, B.A. Feasibility of using lignin isolated from forages by solubilization in acetyl bromide as a standard for lignin analyses. **Journal of Animal Science**, v.78, p.3135-3143, 2000.

MOREIRA-VILAR, F. C.; SIQUEIRA-SOARES, R. de C.; FINGER-TEIXEIRA, A.; OLIVEIRA, D. M. de; FERRO, A. P.; ROCHA, G. J. da; FERRARESE, M. de L. L.; SANTOS, W. D. dos; FERRARESE-FILHO, O. The Acetyl Bromide Method Is Faster, Simpler and Presents Best Recovery of Lignin in Different Herbaceous Tissues than Klason and Thioglycolic Acid Methods. **PLOS ONE**, 2014. disponível em: <<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0110000>>. Acesso em: 2 jun. 2015.

RIJO, L.; VASCONCELOS, I. Formação de calose e de lignina em combinações incompatíveis *Coffea sp. H. vastatrix*. (Calloses and lignin formation in incompatible combinations *Coffea sp. H. vastatrix*). In: **Simpósio sobre ferrugens do cafeeiro**. Oerias, 1983, p. 269–281.

VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.

Tabela 1. Percentual de lignina da parede celular das vagens das cultivares BRS 360RR e Doko.

Cultivares	Lignina %
BRS 360 RR	7,99a
Doko	7,64a
C.V.: 2,46%	

Medias seguidas de letras iguais não diferem entre si segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 2. Percentual de lignina da parede celular dos tegumentos das sementes das cultivares BRS 360RR e V-MAX.

Cultivares	Lignina %
BRS 360 RR	3,47a
V-MAX	5,03b
C.V.: 2,30%	

Medias seguidas de letras distintas diferem entre si segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 3. Percentual de lignina na parede celular das folhas da cultivar BRS 360RR com ferrugem em diferentes épocas de coleta.

Épocas	Lignina %
Época 1	9,45a
Época 2	11,67b
C.V.: 4,21%	

Época 1 corresponde a data de plantio de 04/02/2015 e Época 2 data de plantio 19/01/2015.

Medias seguidas de letras distintas diferem entre si segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 4. Percentual de lignina na parede celular das folhas das cultivares BRS 360RR e Doko.

Cultivares	% de Lignina
BRS 360 RR	6,58a
Doko	5,95b
C.V.: 3,25%	

Medias seguidas de letras distintas diferem entre si segundo o teste de Tukey ($p < 0,05$).

**Preferência hospedeira de
Telenomus remus nixon
(Hymenoptera: Platygasteridae)
entre ovos de *Corcyra cephalonica*
Stainton (Lepidoptera: Pyralidae)
e *Spodoptera frugiperda* Smith
(Lepidoptera: Noctuidae)**

BRAZ, E. C.¹, QUEIROZ, A. P.²; BUENO, A. de F.³; FERNANDES, A. P.⁴; SILVA, G. V.⁵; SILVA, D. M.⁶; SOUZA, J. M.⁶

¹Universidade do Norte do Paraná, Londrina-PR, ericacbraz@gmail.com; ²Instituto Agrônomo do Paraná; ³Embrapa Soja; ⁴Universidade Estadual de Londrina; ⁵Instituto Agrônomo do Paraná; ⁶Centro Universitário Filadélfia.

Introdução

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide de ovos de lepidópteros, utilizado na Ásia e nas Américas para o controle de pragas na cultura do milho (Cave, 2000). Esse parasitoide foi introduzido no Brasil visando o controle principalmente de *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae), conhecida como lagarta-do-cartucho, uma das principais pragas da cultura do milho (Parra, 1986). Porém, atualmente no Brasil a criação de *T. remus* é realizada em seu hospedeiro natural (*S. frugiperda*) apenas para fins experimentais.

Visando sua criação em larga escala, a multiplicação de *T. remus* em hospedeiro natural, pode muitas vezes, inviabilizar a produção devido ao seu elevado custo e exigência em mão-de-obra. Entretanto, existem casos em que o parasitoide é criado em hospedeiros alternativos, muitas vezes não preferenciais, mas adequados o suficiente para promover bom desenvolvimento dos insetos (Parra, 1997). Nesse contexto, *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) foi escolhida como hospedeiro alternativo potencial, porque pode ser facilmente criado em laboratório com menor custo em relação à criação do hospedeiro natural, *S. frugiperda* (Kumar et al, 1986) e o parasitismo dos ovos desse lepidóptero por *T. remus* anteriormente descrito na literatura (Bueno et al., 2008; Pomari et al., 2012). Porém, para que um parasitoide possa ser criado em ovos do hospedeiro alternativo, alguns aspectos biológicos devem ser levados em consideração. A criação sucessiva do parasitoide em hospedeiros alternativos pode afetar a preferência de parasitismo do inimigo natural, alterando sua eficiência de controle, contra a praga alvo desejada, em virtude da existência do condicionamento pré-imaginal adquirido, durante o desenvolvimento larval (Cobert, 1985).

Os parasitoides adultos geralmente utilizam o sistema sensorial para localizar ovos de seus hospedeiros (insetos-pragas), e também os sinais químicos ou físicos emitidos por estes. No entanto, é comum que os parasitoides procurem sempre ovos da espécie onde foram multiplicados, comportamento este conhecido como condicionamento pré-imaginal (Prezotti & Parra, 2002). O comportamento de forrageamento e o parasitismo podem ser inatos, como consequência dos padrões fixados no genótipo da espécie (condicionamento pré-imaginal) ou apresentar padrões que podem ser aprendidos, como consequência da experiência obtida durante o processo de forrageamento e parasitismo (Cobert, 1985). Tal comportamento pode influenciar na escolha da fêmea, durante o processo de parasitismo, ou ainda diminuir a eficiência do controle, caso, os parasitoides sejam multiplicados em hospedeiros alternativos diferentes daqueles, que serão alvos na liberação (Nurindah et al., 1999). Portanto, os testes de preferência hospedeira são importantes para identificar se o parasitoide

possui ou não influência do condicionamento pré-imaginal. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a preferência hospedeira de *T. remus* entre ovos do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, e do hospedeiro natural, *S. frugiperda*.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de entomologia/parasitoides da Embrapa Soja, Londrina – PR, sob condições controladas (T: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $80 \pm 10\%$; Fotoperíodo: 14/10 h C/E) em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (2 origens do parasitoide x 2 espécies de ovos hospedeiros – *C. cephalonica* e *S. frugiperda*) e 15 repetições. Para cada repetição foi utilizada uma arena adaptada de Thuller et al. (2007), com garrafa de polietileno (4 cm de altura e 2 cm de diâmetro) e cinco microtubos de plástico do tipo Duran (1,5 mL), dispostos equidistantes na parte inferior da garrafa. A origem das colônias de *T. remus* avaliadas foram de parasitoides provenientes de ovos de *C. cephalonica* da geração F₄₀ e de ovos de *S. frugiperda* da geração F250.

Quatro fêmeas de *T. remus* recém-emergidas (24 h) foram individualizadas em tubos do tipo Duran, previamente alimentadas com uma gotícula de mel na parede interna do tubo. Aproximadamente 150 ovos de cada hospedeiro, *C. cephalonica* e *S. frugiperda*, foram colados em cartelas de cartolina branca (2,5 cm x 5 cm), devidamente identificadas com os respectivos tratamentos. As cartelas foram individualmente introduzidas nos tubos, localizados em lados opostos da arena. Posteriormente, nas arenas foram liberadas as quatro fêmeas separadas em tubos Duran, e o tempo de parasitismo permitido por 24 horas. Após o parasitismo as cartelas foram colocadas individualmente em tubos Duran, mantidos na mesma condição até a emergência dos adultos para posteriores avaliações.

Os parâmetros biológicos observados foram: o número de ovos parasitados, porcentagem de parasitismo e a porcentagem de emergência. Os resultados obtidos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (Shapiro & Wilk 1965),

homogeneidade de variância dos tratamentos (Burr & Foster 1972) para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (SAS Institute, 2001).

Resultados e discussão

Os parasitoides provenientes de ovos de *C. cephalonica* e de ovos de *S. frugiperda* (origem do parasitoide) não apresentaram diferenças no parasitismo, visto que, ambos parasitaram igualmente, independentes da origem do mesmo. O número de ovos parasitados para ambos parasitoides (fêmeas provenientes de ovos de *C. cephalonica* e *S. frugiperda*) foram de 48 e 40 ovos respectivamente (Tabela 1). Com esses resultados foi possível observar que independente do hospedeiro de criação de *T. remus*, quando ofertado ovos do hospedeiro alternativo, ou seja, *C. cephalonica* ou do hospedeiro natural, *S. frugiperda*, a interação do parasitoide será a mesma. Dessa forma, a criação de *T. remus* em laboratório pode ser feita em um único hospedeiro por várias gerações sem redução da eficácia do parasitoide.

As fêmeas de *T. remus* avaliadas no teste de preferência entre ovos das espécies de *C. cephalonica* e *S. frugiperda*, apresentaram preferência para o parasitismo, pelo hospedeiro natural *S. frugiperda*. Na comparação entre *C. cephalonica* e *S. frugiperda*, 87 dos ovos parasitados foram de *S. frugiperda* e apenas 1 foram para ovos de *C. cephalonica* (Tabela 1). A ausência da preferência de *T. remus* pelos ovos do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, considerando que as fêmeas avaliadas haviam sido multiplicadas neste hospedeiro por várias gerações, demonstra que o comportamento de aceitação do hospedeiro ou a preferência das fêmeas deste parasitoide, não pode ser atribuído à experiência que a fêmea adquire durante o desenvolvimento larval (condicionamento pré-imaginal) descrito anteriormente por Cobert (1985) e Kaiser et al. (1989); ou pelo aprendizado associativo ou a-condicionamento, pelo qual as fêmeas associam estímulos novos (adquiridos) aos inatos, podendo adaptar o seu comportamento ao ambiente no qual elas conviveram, quando adultas ou jovens (Kaiser et al., 1989; Vinson, 1998; Nurindah et al., 1999).

Portanto, mesmo que o parasitoide tenha sido multiplicado por várias gerações (F_{40}) em ovos de *C. cephalonica*, esse não foi preferido para parasitismo, o que comprova a não existência do condicionamento pré-imaginal adquirido por este parasitoide, *T. remus*, ao longo da multiplicação em laboratório. Sendo assim, a eficiência de controle, contra a praga alvo desejada, no caso, *S. frugiperda* não será prejudicada, visto que, não haverá mudanças no comportamento de busca do parasitoide, quanto à preferência hospedeira devido à criação no hospedeiro alternativo.

Conclusão

Com os resultados obtidos observou-se que o parasitoide *T. remus* têm preferência por ovos do hospedeiro natural, *S. frugiperda* mesmo quando são criados por sucessivas gerações em ovos do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, indicando que o parasitoide não adquire o condicionamento pré-imaginal a esse hospedeiro e com isso que o hospedeiro alternativo pode ser utilizado na criação massal sem prejudicar a eficiência do parasitoide.

Agradecimentos

Ao pesquisador Dr. Adeney de Freitas Bueno pela oportunidade de estágio. A mestranda Ana Paula de Queiroz pela dedicação e orientação. A equipe do Laboratório de Parasitoides pela contribuição na realização do trabalho. A Embrapa Soja pela bolsa de estágio.

Referências

BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDES, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, p.1-6, 2008.

BURR, I.W. & FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. West Lafayette. West Lafayette: University of Purdue, 1972, 26p.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, Dordrecht. 2000. v.21, p.21-26.

COBERT, S.A. Insect chemosensory responses: a chemical legacy hypothesis. **Ecological Entomology**, London, v. 10, p. 143-153, 1985.

KUMAR, D.A.; PAWAR, A.D; DIVAKAR, B.J. Mass multiplication of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Galleridae). **Journal of Advanced Zoology**, v. 7, p. 21-23, 1986.

KAISER, L.; PHAM-DELEGUE, M. H.; MASSON, C. Behavioural study of plasticity in host preferences of *Trichogramma maidis* (Hym.: Trichogrammatidae). **Physiological Entomology**, v.14, p.53-60, 1989.

NURINDAH, G.G.; CRIBB, B.W.; GORDH, G. Effects of physiological condition and experience on oviposition behaviour of *Trichogramma australicum* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) on eggs of *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). **Australian Journal of Entomology**, v. 38, n. 2, p. 104–114, 1999.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, p.121-150, 1997.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, v. 105, n.1, p.72-81, 2012.

PREZOTTI, L. & PARRA, J.R.P. Controle de qualidade em criações massais de parasitoides e predadores, p. 295-307. In: Parra, J.R.P.; Botelho S. M. , Ferreira B.S.C. & Bento J.M.S. (eds), **Controle biológico no Brasil: Parasitoides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. 635p.

Sas Institute. **SAS user's guide: statistics, version 8e**. Cary, NC: SAS Institute, 2001.

SHAPIRO, S.S & WILK, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, 52: 591-611.

THULER, R.T.; VOLPE, H.X.L.; BORTOLI, S.A. de; GOULART, R.M.; VIANA, C.L.T.P. Metodologia para avaliação da preferência hospedeira de parasitoides do gênero *Trichogramma* Westood. **Boletín de Sanidad Vegetal Plagas**. v.33, p.333-340. 2007.

VINSON, S. B. The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species. **Biological Control**, v.11, p.79-96, 1998.

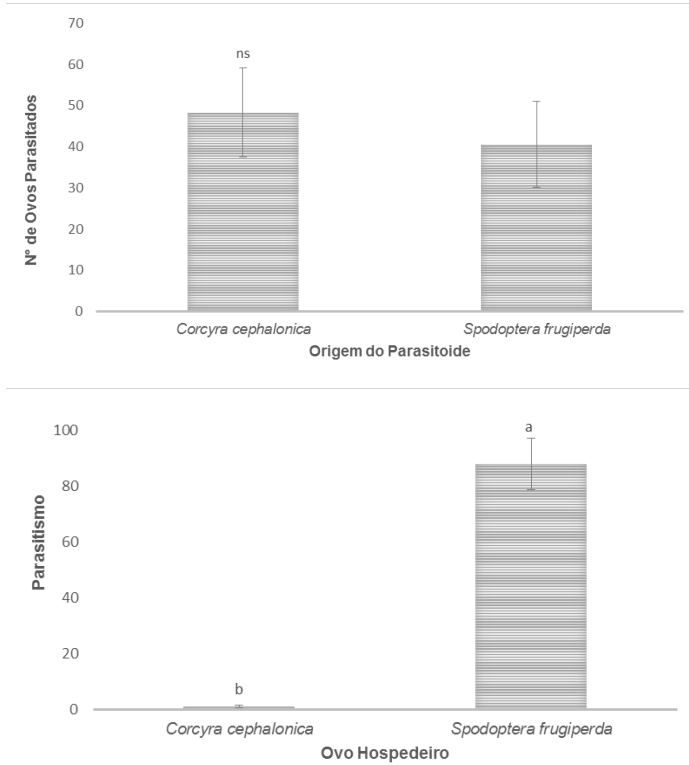


Figura 1. A) Número de ovos parasitados por *Telenomus remus* provenientes de ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda*. B) Teste de preferência hospedeira do parasitoide *Telenomus remus* entre ovos de *Corcyra cephalonica* e *Spodoptera frugiperda*. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $80 \pm 10\%$ e fotofase de 14h.

Resistência tênsil e friabilidade de agregados do solo sob diferentes preparos e sistemas de culturas

SANTOS, F. J.¹; CHICOWSKI, A. S.²; BALBINOT JUNIOR, A. A.³; FRANCHINI, J. C.³; DEBIASI, H.³; SANTOS, E. L.¹; BIANCO, R.⁴

¹Centro Universitário Filadélfia de Londrina – UNIFIL, Campus Palhano Londrina-PR, felipeesaantos@hotmail.com; ²Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Londrina-PR, ; ³Embrapa Soja; ⁴UTFPR, Campus Londrina- PR.

Introdução

A estrutura do solo determina diversos processos relacionados ao desenvolvimento das plantas, como a resistência mecânica ao crescimento das raízes e os fluxos de água, calor e oxigênio (LETEY, 1985). A intensidade de revolvimento do solo e a quantidade e a qualidade da fitomassa vegetal adicionada ao solo estão entre os principais fatores que governam a qualidade e a estabilidade estrutural do solo (GOLDCHIN et al., 1997). Neste sentido, a adoção de sistemas de manejo com baixa intensidade de revolvimento do solo, como o sistema plantio direto (SPD), associado a esquemas de rotação envolvendo culturas com alto potencial de produção de fitomassa da parte aérea e raízes, contribuem para a preservação e/ou melhoria da qualidade física do solo (FRANCHINI et al., 2011).

A qualidade física e estrutural dos solos é geralmente avaliada por meio do estudo de propriedades ligadas à forma e à estabilidade estrutural, como densidade do solo, porosidade e distribuição dos agregados em diferentes classes de tamanho (TORMENA et al., 2008). A resistência tênil (RT) e a friabilidade (FR) dos agregados também podem ser utilizadas como indicadores dos efeitos do manejo na qualidade estrutural do solo sob SPD. Neste sentido, a RT é definida como a força por unidade de área requerida para fraturar os agregados do solo (DEXTER; WATTS, 2000). Esse parâmetro é influenciado por diversos fatores, tais como o teor de matéria orgânica (DEXTER; WATTS, 2000; FERREIRA et al., 2011) e a densidade do solo (TORMENA et al., 2008). Agregados com elevados valores de RT refletem uma estrutura estável, com maior resistência à ruptura por forças externas, como a pressão aplicada pelos rodados das máquinas agrícolas. A FR, definida como sendo a heterogeneidade da RT dos agregados ao fraturamento, é outro indicador da qualidade estrutural do solo, uma vez que a condição de solo friável é desejável para a germinação das sementes, o crescimento das plântulas e o estabelecimento das culturas (IMHOFF, 2002).

Este trabalho parte da hipótese de que o SPD e a rotação de culturas aumentam a RT e a FR dos agregados em relação ao sistema preparo convencional (SPC) e à sucessão de culturas. Desta forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a RT e a FR de agregados do solo sob diferentes sistemas de manejo do solo e de cultura.

Material e métodos

O experimento vem sendo conduzido na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, em Londrina/PR, (23° 12' S, 51° 11' W e 560 m de altitude) sobre um Latossolo Vermelho Distroférrico de textura muito argilosa (784 g kg⁻¹ de argila na camada de 0-30 cm de profundidade). O clima da região é do tipo Cfa, subtropical úmido mesotérmico, segundo a classificação de Köppen, com médias anuais de 20 °C de temperatura e de 1.340 mm de precipitação pluviométrica. O experimento foi instalado no ano de 2003/2004, com o delineamento experimental em blocos casualizados, com quatro repetições e

esquema fatorial 2 x 3. O primeiro fator foi constituído por dois sistemas de manejo (SPC e SPD) e o segundo, por três sistemas de culturas (sucessão 1 = soja/trigo; rotação 1 = tremoço/milho – aveia/soja – trigo/soja; e sucessão 2 = soja/milho 2ª safra). Na sucessão 2, o milho 2ª safra passou a ser consorciado com braquiária ruziziesis (*Urochloa ruziziensis*) a partir de 2007.

Para a determinação da RT, coletou-se, com o auxílio de uma pá, monólitos de solo de dimensões (30 x 15 x 10 cm) na parede de trincheiras abertas em cada parcela, nas camadas de 0-0,1 m, 0,1-0,2 m e 0,2-0,3 m. Os monólitos foram armazenados em recipientes plásticos devidamente identificados e vedados. Em laboratório, os monólitos manualmente fragmentados seguindo os planos de fraqueza, de modo a se obter agregados naturais de tamanho entre 12,5 mm e 19 mm, com diâmetro médio de 15,75 mm. Após secagem ao ar, foram obtidos cinquenta agregados de cada monólito de solo, que foram individualmente pesados em balança analítica. Em seguida, cada agregado foi colocado em sua posição mais estável entre duas placas metálicas, uma móvel e outra fixa. A placa móvel (22 mm de diâmetro) foi adaptada a um penetrômetro de bancada da marca Marconi, possibilitando assim a medição da força necessária à ruptura do agregado. Após a realização dos testes, todos os agregados de uma amostra (monólito) foram reunidos e secos em estufa a 105 °C para determinação da umidade residual. Amostras de solo com estrutura preservada foram coletadas nas mesmas camadas e trincheiras onde os monólitos foram extraídos, por meio de anéis de aço inox (100 cm³) inseridos verticalmente no solo. Em laboratório, essas amostras foram utilizadas para quantificação da densidade do solo, conforme EMBRAPA (1997). Nos mesmos pontos e camadas, foram coletadas amostras deformadas de solo para determinação do teor de carbono orgânico do solo, por meio do método da combustão seca em analisador elementar de C (Thermo Flash EA 1112).

Os dados foram submetidos à análise da variância (teste F, $p \leq 0,05$), realizada em separado para cada camada avaliada, e com o auxílio do

programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008). Os valores de RT e FR foram relacionados à densidade e ao teor de carbono orgânico do solo por meio de análise de regressão, realizada por meio do programa Sigmaplot®.

Resultados e discussão

Não houve interação significativa (teste F, $p < 0,05$) entre sistema de manejo e de culturas para as variáveis RT e FR, independentemente da camada amostrada. Conforme a Tabela 1 verifica-se que os valores de RT foram significativamente maiores no SPD, comparativamente ao SPD na camada mais superficial do solo (0,0-0,1 m). Nas demais camadas, não houve efeito significativo do sistema de manejo sobre a RT. Os maiores valores de RT no SPD em relação ao SPC na camada de 0,0-0,1 m podem ser justificados em função da maior densidade do solo e do teor de carbono orgânico no SPD (dados não apresentados). Resultados similares foram obtidos por Bavoso et al. (2010), em estudo conduzido em um Latossolo Bruno argiloso submetido a diferentes sistemas de produção e preparo do solo independentemente da camada avaliada, os sistemas de culturas não influenciaram significativamente a RT, concordando com os dados obtidos por Tormena et al. (2008). Maiores valores de RT indicam maior estabilidade estrutural do solo em resposta à aplicação de forças que tendem a causar ruptura dos agregados e, conseqüentemente, a degradação da qualidade estrutural do solo, como a pressão de rodados de máquinas agrícolas.

De maneira similar ao observado para a RT, não houve efeito significativo da interação sistema de manejo x sistema de culturas sobre a FR dos agregados, independentemente da camada avaliada (Tabela 2). Do mesmo modo, não houve efeito isolado do sistema de culturas sobre a FR, em todas as camadas avaliadas. Por outro lado, a FR foi significativamente maior no SPC do que no SPD na camada de 0,0-0,1 m. Nas camadas de 0,1-0,2 m 0,2-0,3 m, a FR não foi influenciada pelos sistemas de manejo do solo. Embora maiores valores de FR sejam desejáveis para a germinação das sementes, o crescimento das plântulas e o estabelecimento das culturas, uma FR excessivamente alta indica instabilidade estrutural, o que representa

menor capacidade de resistir a forças que tendem a ocasionar a ruptura dos agregados. Tais resultados são coerentes com os obtidos para a RT (Tabela 1).

Na camada de 0,0-0,1 m, a RT aumentou linearmente com o incremento da densidade do solo (Figura 1a) e do teor de carbono orgânico (Figura 1b). Nas demais camadas, a relação RT x densidade do solo e RT x teor de carbono orgânico não foi significativa, provavelmente em função da baixa amplitude de variação dos valores de densidade e do teor de carbono orgânico do solo. Maiores valores de densidade do solo e do carbono orgânico aumentam a coesão entre as partículas e/ou agregados (SÁNCHEZ-GIRÓN, 1996), resultando em maior RT. Por outro lado, a FR diminui com o aumento da densidade do solo (Figura 1c) e do teor de carbono orgânico (Figura 1d), até um determinado valor, equivalente a 1,23 Mg m⁻³ e 1,9%, respectivamente.

Conclusão

O SPD aumenta a resistência tênsil dos agregados, mas diminui a friabilidade dos mesmos, o que indicada maior estabilidade estrutural do solo.

A maior resistência tênsil e menor friabilidade dos agregados no solo SPD é relacionada aos maiores valores de densidade e do teor de carbono orgânico do solo.

Tanto a resistência tênsil quanto a friabilidade não são influenciados pelos sistemas de culturas.

Referências

BAVOSO, M. A.; GIAROLA, N. F. B.; TORMENA, C. A.; PAULETTI, V. Preparo do solo em áreas de produção de grãos, silagem e pastejo: efeito na resistência tênsil e friabilidade de agregados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 227-234, 2010.

DEXTER, A. R.; WATTS, C. Tensile strength and friability. In: SMITH, K.; MULLINS, C. (Ed.). **Soil and environmental analysis: physical methods**. 2.ed. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 405-433.

EMBRAPA. **Manual de métodos e análise de solo**. 2 ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 212 p.

FERREIRA, A. O.; SÁ, J. C. M.; GIAROLA, N. F. B.; HARMS, M. G.; MIARA, S.; BAVOSO, M. A.; BRIEDIS, C.; QUADROS NETTO, C. Variação na resistência tênil de agregados em função do conteúdo de carbono em dois solos na região dos Campos Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, p. 437-445, 2011.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v. 6, p. 36 41, 2008.

FRANCHINI, J. C. COSTA, J. M.; DEBIASI, H.; TORRES, E. **Importância da rotação de culturas para a produção agrícola sustentável no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 327).

GOLDCHIN, A.; BALDOCK, J. A.; OADES, J. M. A model linking organic matter decomposition, chemistry, an aggregate dynamics. In: LAL, R.; KIMBLE, J. M.; FOLLET, R. F.; STEWART, B. (Ed.). **Soil process and the carbon cycle**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 245-266.

IMHOFF, S. **Indicadores de qualidade estrutural e trafegabilidade de Latossolos e Argissolos Vermelhos**. 2002. 94 f. Tese (Doutorado em Agronomia - Solos e Nutrição de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

LETEY, J. Relationship between soil physical properties and crop production. **Advances in Soil Science**, v.1, p. 277-294, 1985.

SÁNCHEZ-GIRÓN, V. **Dinâmica y mecânica de suelos**. Madrid: Ediciones Agrotécnicas, 1996. 426 p.

TORMENA, C. A.; ARAÚJO, M. A.; FIDALSKI, J.; IMHOFF, S.; SILVA, A. P. Quantificação da resistência tênsil e da friabilidade de um Latossolo Vermelho distroférico sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 943-952, 2008.

Tabela 1. Valores médios de resistência tênsil dos agregados de um Latossolo Vermelho em sistema plantio direto (SPD) e sistema preparo convencional (SPC), sob diferentes sistemas de culturas (rotação = tremoço/milho – aveia/soja – trigo/soja; sucessão 1 = soja/trigo; e sucessão 2 = soja/milho safrinha + braquiária).

Sistema de culturas	Sistema de manejo		Média
	SPC	SPD	
----- 0,00-0,10 m -----			
Rotação	75 ¹	85	80 a
Sucessão 2	66	99	83 a
Sucessão 1	57	82	70 a
Médias	66 B	89 A	
CV (%) = 24,98			
----- 0,10-0,20 m -----			
Rotação	61	80	71 a
Sucessão 2	75	79	77 a
Sucessão 1	76	95	86 a
Médias	76 A	95 A	
CV (%) = 18,09			
----- 0,20-0,30 m -----			
Rotação	76	61	69 a
Sucessão 2	66	63	65 a
Sucessão 1	76	61	69 a
Médias	18 A	62 A	
CV (%) = 18,21			

¹Médias seguidas pelas mesmas letras, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Valores médios de friabilidade dos agregados de um Latossolo Vermelho em sistema plantio direto (SPD) e sistema preparo convencional (SPC), sob diferentes sistemas de culturas (rotação = tremoço/milho – aveia/soja – trigo/soja; sucessão 1 = soja/trigo; e sucessão 2 = soja/milho safrinha + braquiária).

Sistema de culturas	Sistema de manejo		Médias
	SPC	SPD	
----- 0,00-0,10 m -----			
Rotação	0,75 ¹	0,50	0,62 a
Sucessão 2	0,50	0,50	0,50 a
Sucessão 1	1,00	0,01	0,50 a
Médias	0,75 A	0,33 B	
CV (%) = 24,98			
----- 0,10-0,20 m -----			
Rotação	0,75	0,75	0,75 a
Sucessão 2	0,75	0,50	0,62 a
Sucessão 1	0,25	0,25	0,25 a
Médias	0,50 A	0,50 A	
CV (%) = 18,09			
----- 0,20-0,30 m -----			
Rotação	0,50	0,50	0,50 a
Sucessão 2	0,25	0,01	0,12 a
Sucessão 1	0,25	0,25	0,25 a
Médias	0,33 A	0,25 A	
CV (%) = 18,21			

¹Médias seguidas pelas mesmas letras, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste F a 5% de probabilidade.

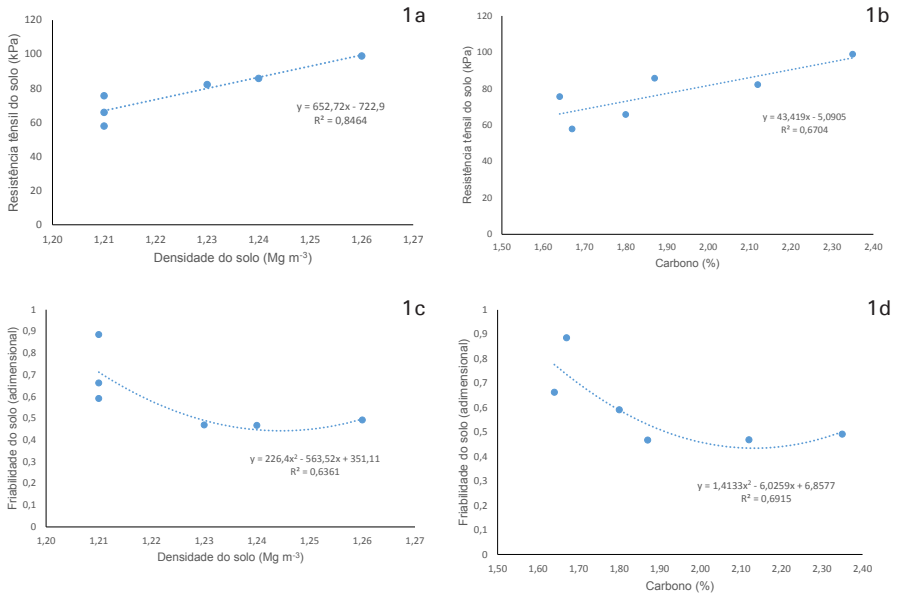


Figura 1. Relação da resistência tênsil (1a e 1b) e da friabilidade (1c e 1d) de agregados de um Latossolo Vermelho provenientes da camada de 0,0-0,1 m, com a densidade e o teor de carbono orgânico do solo.

Compostagem sob condições naturais e controladas para o tratamento de resíduos sólidos orgânicos

ANDRADE, F. C de¹; DAL BOSCO, T. C.¹; SANTOS, E. L. ²; MELLO, O. J. de³.

¹ Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Avenida dos Pioneiros, nº 3131, CEP 86036-370 Londrina, PR, Brasil. E-mail: francine.andrade@hotmail.com, tatianebosco@utfpr.edu.br ²Centro Universitário Filadélfia - UNIFIL, Avenida Juscelino Kubitscheck, 1626, CEP 86020-000 Londrina, PR, Brasil. E-mail: esmael.santos@unifil.br ³Embrapa Soja, Rod. Carlos João Strass, s/n, CEP 86001-970, Warta, Londrina, PR, Brasil. E-mail: osmar.mello@embrapa.br.

Introdução

Em decorrência do crescimento populacional juntamente com a ampliação da produção agrícola há uma relação de crescimento na geração de resíduos sólidos neste setor. Diante desta problemática a compostagem é uma técnica que pode ser utilizada no tratamento para a posterior destinação final de resíduos sólidos orgânicos, pois proporciona a estabilização da matéria orgânica, transformando os resíduos em adubo orgânico e conseqüentemente evitando a disposição em aterros sanitários.

A compostagem é um processo biológico e aeróbico e as condições em que os microrganismos se encontram norteiam a aceleração e eficiência na degradação da matéria orgânica (KIEHL, 1985). Para isso os principais fatores que influenciam no processo são: temperatura, umidade, aeração, pH, relação C/N e granulometria do material.

A temperatura é resultado da atividade microbiológica no processo de biodegradação e importante na eliminação de patógenos. Os nutrientes, principalmente carbono e nitrogênio são fundamentais ao crescimento bacteriano (FERNANDES e SILVA 1999).

Outro fator atrelado é a umidade juntamente com a oxigenação, uma vez que a presença de água é indispensável para o desempenho microbiano e a aeração para introduzir oxigênio ao interior das leiras e homogeneização da massa de decomposição. Estudos por Costa et al. (2005) concluíram que as intensificações dos revolvimentos nas leiras diminuem o tempo de compostagem.

A hipótese de aplicar a técnica de compostagem sobre condições controlada e natural afim de estudar o seu comportamento se torna relevante para operação e manejo dos resíduos. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do processo de compostagem de resíduos sólidos orgânicos em condições natural e controlada.

Material e métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Santa Terezinha, da Embrapa Soja, Rodovia Carlos João Strass, Londrina-PR, com início no dia 10/11/2014 e término no dia 02/04/2015.

Os resíduos utilizados para a compostagem foram os gerados na Unidade: resíduo da coleta seletiva (resto de alimentos, frutas etc.), grão de soja, palha de soja, palha de trigo e poda de árvore. Foram montadas duas leiras: um controle (T1), com manutenção de umidade e aeração; e outra que foi mantida ao natural (T2).

Cada leira recebeu aproximadamente 85 Kg resíduos orgânicos da coleta seletiva gerados no período de uma semana, 10 kg de grãos de soja e 57 Kg de resíduo palhoso triturado e misturado (palha de soja, de trigo e poda de árvores). As leiras foram montadas alternando-se as camadas de resíduos e tinham o formato trapezoidal, com dimensões de 1,25 m de largura e 1,5 m de comprimento.

Houve monitoramento de temperatura (diário) com auxílio de um termômetro de haste de 15 cm; revolvimento com equipamento do tipo BobCat® e, irrigação com água potável (ambos a cada 15 dias para o T1); verificação da redução de massa e volume através do método da cubicagem e pesagem, respectivamente (no início e no final do processo); monitoramento do teor de umidade, pH e condutividade elétrica (CE) (com 10°, 30°, 60°, 90°, 120° dia). As análises físico-químicas foram realizadas em triplicata e os valores de pH e CE foram obtidos em água (TEDESCO et al., 1995); a umidade foi determinada por diferença de massas (SILVA, 2009). A análise do carbono total, nitrogênio total e relação carbono e nitrogênio (C/N) das amostras foram realizadas em duplicata e determinadas pelo método da combustão seca em um analisador da marca Termo Scientific®, modelo FLASH 2000 Series, com metodologia adaptada de Carmo e Silva (2012).

Resultados e discussão

A temperatura é um dos principais fatores que indicam a eficiência do processo de compostagem, pois a produção de calor demonstra que está ocorrendo a degradação da matéria orgânica pelos microrganismos, visto que este processo é aeróbico (MALHEIROS, 1996; VALENTE et al., 2009; PUYUELO et al., 2010).

O comportamento da temperatura da leira controle (T1) durante o processo de compostagem (Figura 1), apresentou temperaturas altas no início do processo, que é característica da fase termófila que varia de 40°C a 55°C (Pereira et al., 2013), portanto é possível identificar que

esta fase durou até o 74º dia, dando início à fase mesófila com valores menores que 40 °C.

Na leira em situação normal (T2) sempre os valores de temperaturas médias foram superiores às do T1, desta forma a fase mesófila iniciou apenas a partir do 108º dia. Neste caso a aeração, provocada pelo revolvimento proporcionou a aceleração da decomposição da massa orgânica em T1 e a perda de calor rapidamente para a atmosfera, enquanto que as altas temperaturas marcadas pelo T2, segundo Leal et al. (2011), indicam a não estabilização da matéria orgânica.

Os teores de umidade na leira T1 ao longo dos 120 dias foram: 70,1%; 55,1%; 64,9%; 72,1%; 73,2%. Segundo Kiehl (2004), a umidade ideal para o processo de compostagem se encontra em uma faixa de 40% a 60%, enquanto que o valor ótimo para Pereira Neto (1989), é de 55%. Desta forma, a umidade encontrada apresenta-se acima da faixa ideal. Para Fernandes e Silva (1999) o excesso de umidade (> 65%) diminui a presença de oxigênio na leira, pois os espaços vazios presentes são ocupados por água. A umidade da leira T2 durante o período foi de 41,6%; 52,5%; 41,5%; 65,4%; 36,2%, respectivamente, e neste caso apresentando-se dentro dos limites adequados para o processo de compostagem.

Os maiores valores de T1 podem estar associados a quantidade de água recebida tanto pela irrigação quanto pela precipitação durante o período, visto que os tratamentos permaneceram sobre condições climáticas (chuva, ventos, radiação solar). Conforme a Figura 1 houve alta precipitação no período de 20 dias após a montagem das leiras, isso aliada a temperatura ambiente baixa, não favoreceu a evaporação de água no T1.

O T1 apresentou valores decrescentes de pH: 8,7; 8,3; 8,5; 7,8 e 7,7 ao longo do processo, apresentando um composto final com pH 7,7, considerado dentro da faixa recomendada por Valente et al. (2009) de 7,0 a 8,5. No T2 os valores de pH variaram durante o período de compostagem (7,8; 8,6; 7,9; 8,1 e 7,6), porém o valor de

pH final também é considerado adequado para uso agrícola: 7,6. O pH característico de cada resíduo utilizado no início da compostagem influencia a dinâmica microbiana, onde diferentes microrganismos se adaptam com reações químicas que irão gerar um composto final neutro (INÁCIO; MILLER, 2009).

A condutividade elétrica no T1 foi de 2,22; 2,52; 3,15; 1,48 e 1,16 mS cm^{-1} , enquanto no T2: 5,07; 3,85; 3,67; 3,53 e 3,35 mS cm^{-1} . No processo de maturação do composto, a condutividade elétrica (presença de sais) tende a diminuir (OLIVEIRA, 2008). Portanto, pode-se afirmar que no T1 os valores diminuíram devido à irrigação que recebia, uma vez que a condutividade elétrica é influenciada pela evaporação da água e pela lixiviação de sais (BERNARDI, 2011).

A relação C/N (Figura 2) durante o período após a montagem das leiras apresentou no 15º dia para o T1 valor superior do que ao T2, isto se deve a heterogeneidade dos resíduos nas leiras. No 30º dia de compostagem a relação C/N diminuiu no T1 enquanto que no T2 permaneceu o mesmo valor, a partir de então houve pouca variação na relação C/N até o final do processo. Observa-se então que a redução do valor inicial em relação ao valor final, no T1 foi superior a 26,8%, enquanto que no T2 a redução foi de 13,9% apenas.

Uma vez que o carbono e nitrogênio são os nutrientes mais importantes para a atividade microbiana, pois se utiliza do carbono como fonte de energia e do nitrogênio para síntese protéica na reprodução e crescimento (KIEHL, 1985). A perda de C acontece na forma de CO_2 , por meio da respiração microbiana, e simultaneamente a liberação de N-NH_3^+ (amônia), ou seja, o N é perdido via volatilização, passando a ser transformado em nutrientes, como o nitrato para as plantas (DUARTE, 2006). Quando o processo é submetido a revolvimento (T1) a presença de oxigênio na massa faz aumentar a velocidade de oxidação, ou seja, acelerando a degradação da matéria orgânica e conseqüentemente uma diminuição rápida na relação C/N (SHARMA et al., 1997), como observando no T1.

Comparando a redução de massa e volume entre os tratamentos, houve respectivamente redução de: 74,6%; 76,5% para a situação controle - T1, valores muito superiores comparados à situação normal - T2: 47,0% e 68,5%, respectivamente, devido ao processo de degradação ser mais intenso no T1.

Conclusão

Nos dois tratamentos (T1 e T2) os valores de temperaturas se encontraram sempre acima da temperatura ambiente, indicando um processo de intensa atividade microbiana.

As fases termófila e mesófila foram evidenciadas apenas T1, indicação de degradação acelerada da massa orgânica comparada ao natural. Isto pode ser comprovado através dos valores de redução relação C/N, de massa e volume, que foram maiores do que no T2 e também pelo fato dos menores valores de condutividade elétrica no processo do T1.

Dessa maneira, o controle da aeração e da umidade quinzenalmente realizado na leira de compostagem dos resíduos orgânicos é indicado a fim de proporcionar eficiência no processo e maior rapidez na estabilização da matéria orgânica.

Referências

BERNARDI, F. H. **Uso do processo de compostagem no aproveitamento de resíduos de incubatório e outros de origem agroindustrial**. 2011. 78f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo.

CARMO, D. L.; SILVA, C. A. Métodos de quantificação de carbono e matéria orgânica em resíduos orgânicos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 36, p. 1211- 1220, 2012.

COSTA, M. S. S. de M. **Caracterização dos dejetos de novilhos superprecoces: reciclagem energética e de nutrientes.** 2005. 98f. Tese (Doutor em Agronomia - Energia na Agricultura), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu.

DUARTE, F. M. **Perdas de nitrogênio por volatilização de amônia e eficiência da adubação nitrogenada na cultura do arroz irrigado.** 2006. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

FERNANDES, F.; SILVA, S. M. C. P. **Manual prático para a compostagem de biossólidos.** Londrina: PROSAB - Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, 1999. 91p.

INÁCIO, C. de T.; MILLER, P. R. M. **Compostagem: ciência e prática para gestão de resíduos orgânicos.** Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 156p.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1985. 492p.

KIEHL, E. J. **Manual de Compostagem: maturação e qualidade do composto.** 4 ed. Piracicaba, 2004. 171p.

LEAL, M. A. de A.; GUERRA, J. G. M.; PEIXOTO, R. T. dos G.; ROCHA, M. dos S. **Compostagem de misturas de capim-elefante com crotalaria inoculadas com adição de esterco bovino ou biofertilizante.** Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2014. 24 p. (Embrapa Agrobiologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 96).

MALHEIROS, S. M. P. **Avaliação do processo de compostagem utilizando resíduos agroindustriais.** 1996. 232f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

OLIVEIRA, E. C. A.; SARTORI, R. H.; GARCEZ, T. B. **Compostagem**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, Pós Graduação em Solos e Nutrição de Plantas, 2008. 19p.

PEREIRA, R. A.; FARIAS, C. A. S.; REGO, E.I. T. do; PEDROSA, T. D.; CHAVES, A. D. C. A. A compostagem como alternativa para problemática dos resíduos no sertão Paraibano. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 1, p. 269-273, 2013.

PEREIRA NETO, J. T. **Manual de Compostagem**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Viçosa, 1996. 56p.

PUYUELO, B.; GEA, T.; SÁNCHEZ, A. A new control strategy for the composting process based on the oxygen uptake rate. **Chemical Engineering Journal**, v. 165, n. 1, p. 161-169, 2010.

SHARMA, V. K.; CANDITELLI, M.; FORTUNA, F.; CORNACCHIA, C. Processing of urban and agroindustrial residues by anaerobic composting: review. **Energy Conversion and Management**, v. 38, n. 5, p. 453-478, 1997.

SILVA, F. C. da. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p

TEDESCO, M. J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C. A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 175p.

VALENTE, B. S.; XAVIER, E.G.; MORSELLI, T. B. G. A.; JAHNKE, D. S.; BRUM, B. de S. Jr.; CABRERA, B. R.; MORAES, P de O. e LOPES, D. C. N. Fatores que afetam o desenvolvimento da compostagem de resíduos orgânicos. **Archivos de Zootecnia**, v. 58, p. 60-76, 2009.

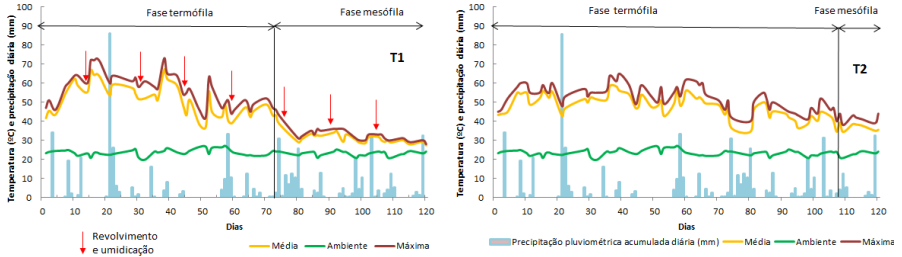


Figura 1. Comportamento das temperaturas ao longo do processo de compostagem nos tratamentos controle (T1) e natural (T2) e precipitação pluviométrica acumulada diária nos dias do processo.

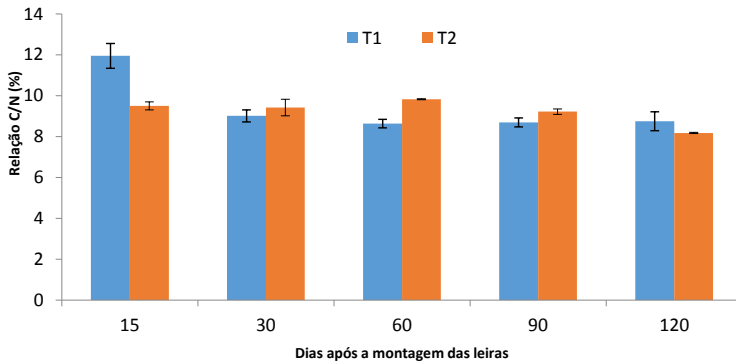


Figura 2. Média e desvio padrão da relação C/N ao longo dos processos de compostagem: controle e natural.

Sensibilidade de populações de *Phakopsora pachyrhizi* a fungicidas inibidores da quinona oxidase

DA SILVA, H. P.¹; XAVIER, S. A.²; LOPES, I. O. N.³; GODOY, C. V.³

¹Centro Universitário Filadelfia; ²Universidade Estadual de Londrina; ³Embrapa Soja; helen_08.02@hotmail.com

Introdução

A soja, *Glycine max* (L.) Merr. é uma planta anual originária da China, sendo uma das mais importantes leguminosas cultivadas no mundo (BORÉM, 1999). A expansão da soja no Brasil aconteceu nos anos 70, com o interesse da indústria de óleo e a demanda do mercado internacional, sendo favorecida pela sua adaptação as diferentes regiões edafoclimáticas, alta produtividade, facilidade de manejo, condições favoráveis ao cultivo e facilidade de mecanização. A área semeada no Brasil em 2014/2015 foi de 31.504,2 mil ha, com a produção estimada em 94.280,5 mil toneladas (CONAB, 2015). Entre os principais fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos em soja, encontram-se as doenças. Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus já foram identificadas no Brasil (TECNOLOGIAS..., 2011).

A ferrugem-asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd., é uma das principais doenças da cultura, com danos variando de 10% a 90% nas diversas regiões geográficas onde foi relatada (SINCLAIR; HARTMAN, 1999). Os sintomas iniciais da doença são pequenas lesões foliares, de coloração castanha a marrom-escura. Na face inferior da folha, pode-se observar urédias que se rompem e liberam os uredosporos. Plantas severamente infectadas apresentam desfolha precoce, que compromete a formação, o enchimento de vagens e o peso final do grão. Quanto mais cedo ocorrer a desfolha, menor será o tamanho do grão e, conseqüentemente, maior a perda de rendimento e de qualidade (SINCLAIR; HARTMAN, 1999).

Para reduzir os riscos de danos à cultura pela ferrugem-asiática, no Brasil, as estratégias recomendadas no manejo da doença são: a utilização de cultivares de ciclo precoce, com semeadura no início da época recomendada; a ausência de cultivos de soja na entressafra, incluindo a eliminação de plantas de soja voluntárias, por meio do vazio sanitário; o monitoramento da lavoura desde o início do desenvolvimento da cultura, com a utilização de fungicida no aparecimento dos primeiros sintomas ou, preventivamente, quando a doença já estiver presente na região e a utilização de cultivares resistentes, quando disponíveis (TECNOLOGIAS..., 2011).

Os fungicidas sítio-específicos representam uma das principais estratégias de controle da ferrugem, porém, uma redução na eficiência vem sendo observada para vários fungicidas. Para os fungicidas Inibidores da Desmetilação (DMIs) uma queda na eficiência de controle foi observada na região dos Cerrados em 2007/08 e, em 2008/09, na região Sul do Brasil, em decorrência da seleção de isolados do fungo menos sensíveis a esse grupo (SCHMITZ et al., 2014). Fungicidas Inibidores da Quinona oxidase (Qol) apresentavam menor eficiência quando comparados a DMIs, no entanto, uma redução de eficiência foi observada nos ensaios realizados em 2013/14 também para esse grupo (GODOY et al., 2014), podendo estar relacionada a seleção de isolados menos sensíveis/resistentes a esse modo de ação.

Para verificar mudanças de sensibilidade do patógeno é necessário o monitoramento do fungo por meio de bioensaios. Para Qols, a metodologia recomendada pelo FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) para *P. pachyrhizi* é a inibição da germinação de esporos, in vitro, em meio de cultura com fungicida (FRAC, 2006). Esse método tem sido utilizado para determinação da DL50 (dose letal do fungicida para controlar 50% da população). Valores de DL50 variando de 0,14 mg L⁻¹ a 2,47 mg L⁻¹ para azoxistrobina (média: 0,41 mg L⁻¹) e de 0,43 mg L⁻¹ a 1,53 mg L⁻¹ para piraclostrobina (média: 0,95 mg L⁻¹), respectivamente, foram obtidos por Schmitz et al. (2014) utilizando a metodologia de inoculação em folhas destacadas, com isolados de *P. pachyrhizi* do Brasil coletados em 2010.

Valores da DL₅₀, para *P. pachyrhizi* ao longo dos anos são escassos na literatura, porém necessários para o monitoramento da variação da sensibilidade do fungo aos fungicidas, principalmente em razão da intensa utilização de fungicidas na cultura.

O objetivo do trabalho foi determinar a DL₅₀ dos fungicidas azoxistrobina, picoxistrobina e piraclostrobina (Qols), para populações do fungo *P. pachyrhizi* coletados em diferentes regiões produtoras de soja do Paraná, na safra 2014/15.

Materiais e métodos

Foram conduzidos ensaios in vitro, no laboratório de Fitopatologia da Embrapa Soja, no ano de 2015, utilizando a metodologia de germinação de esporos de *P. pachyrhizi* em meio de cultura (FRAC, 2006). O inóculo de *P. pachyrhizi* foi proveniente de amostras de folhas infectadas, coletadas em casa-de-vegetação ou lavouras do Paraná (Tabela 1). Foi recebido um número maior de amostras, porém, em razão de terem sido coletadas em lavouras comerciais com fungicida, apresentaram baixa germinação de esporos, impossibilitando sua utilização.

Formulações comerciais de Priori®, Syngenta (azoxistrobina 25%); Comet®, BASF (piraclostrobina 25%) e Oranis®, DuPont

(picoxistrobina 25%) foram usadas nos experimentos. Os fungicidas foram previamente diluídos em solução estoque com água estéril na concentração de $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$, seguido de diluições seriadas em água para obter as concentrações finais. As diferentes concentrações dos fungicidas foram incorporadas ao meio ágar-água fundente e vertidos 20 mL em placas de Petri de 7 cm de diâmetro (esterilizadas e descartáveis) e as placas colocadas para resfriamento por 24 horas, em temperatura ambiente. A concentração final avaliada foi zero; 0,03125; 0,06250; 0,125; 0,25; 0,5; 0,1; 1 e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Uredosporos de *P. pachyrhizi* foram removidos dos folíolos de soja infectados por meio de aspiração com bomba de vácuo e colocados em 20 mL de água destilada e 0,5 mL de álcool 70%. O álcool foi utilizado para quebrar a tensão superficial e desagregar os esporos. Um ensaio prévio foi realizado para definir a concentração de álcool que não inibisse a germinação dos esporos. Uma suspensão de 1,5 mL de uredosporos foi depositada por placa. As placas foram incubadas em BOD (câmara de germinação) a $23 \text{ }^\circ\text{C} + 2 \text{ }^\circ\text{C}$ por um período mínimo de quatro horas. Foram realizadas quatro repetições por concentração.

A germinação dos esporos foi quantificada em microscópio óptico (10X), sendo considerado germinado o esporo com tubo germinativo maior que o comprimento do esporo. Foram observados 50 esporos por placa.

A porcentagem de controle de cada fungicida foi calculada conforme a equação, $PC = 100(1 - X_{ij}) / X_{\text{max}}(\text{test})$, onde PC é a porcentagem de controle, X_{ij} é a germinação observada na concentração i da repetição j , $X_{\text{max}}(\text{test})$ é a germinação máxima observada no tratamento testemunha. Os dados foram linearizados pela função logaritmo da porcentagem de controle, na base 10. As estimativas das doses letais (DL_{50}) foram obtidas pelo modelo de regressão probit Proc Probit, do sistema SAS® Versão 9.1.3.

Resultados e discussão

Todos os valores de DL_{50} estimados foram abaixo de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, independente do produto, local e data de coleta. Os valores de DL_{50} variaram de $0,012 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $0,77 \mu\text{g mL}^{-1}$ para piraclostrobina (média: $0,21 \mu\text{g mL}^{-1}$), $0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $0,64 \mu\text{g mL}^{-1}$ para picoxistrobina (média: $0,18 \mu\text{g mL}^{-1}$) e $0,0066 \mu\text{g mL}^{-1}$ a $0,95 \mu\text{g mL}^{-1}$ para azoxistrobina (média: $0,23 \mu\text{g mL}^{-1}$) (Figura 1). Não foi observado um padrão entre os valores para os diferentes produtos. Em Londrina, PR (amostra 4), Cruzmaltina, PR (amostra 12) e Ubiratã, PR (amostra 14) os maiores valores de DL_{50} foram observados para piraclostrobina. Já em Campo Mourão, PR (amostra 6), Luziânia, PR (amostra 8), Londrina, PR (amostra 12) e Mauá da Serra, PR (amostra 13) as maiores DL_{50} foram observadas para azoxistrobina.

Mesmo com diferente metodologia, os valores obtidos por Schmitz et al. (2014) para piraclostrobina e azoxistrobina em 2010, foram semelhantes aos obtidos nesse estudo e abaixo de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os baixos valores de DL_{50} não explicam a queda de eficiência observada no campo para os Qols. Os esporos para o ensaio com a amostra de Londrina, PR (amostra 10), foram coletados dentro de uma parcela onde havia sido aplicado azoxistrobina, e apresentava baixa eficiência de controle. Também não foi observada nenhuma tendência de aumento de valores de DL_{50} ao longo da safra, com valores baixos mesmo em amostras coletadas em soja safrinha em Ubiratã, PR (amostras 14 e 15).

Conclusão

Os valores de DL_{50} obtidos para piraclostrobina, picoxistrobina e azoxistrobina foram abaixo de $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, com médias semelhantes para os três produtos. Ensaio adicionais serão conduzidos com populações com valores extremos para verificar a correlação dos valores de DL_{50} com a eficiência no campo.

Referências

BORÉM, A. Escape gênico: os riscos do escape gênico da soja no Brasil. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 10, p. 101-107, 1999.

CONAB. 7º **Levantamento** - Safra 2014/15. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 20 abr. 2015.

FRAC. PHAKPA in vitro method Syngenta 2006 V1. 2006. Disponível em: <<http://www.frac.info/monitoring-method>>. Acesso: em 20 abr. 2015.

GODOY, C.V.; UTIAMADA, C.M.; MEYER, M.C.; CAMPOS, H.D.; PIMENTA, C.B.; CASSETARI NETO, D.; JACCOUD FILHO, D.S.; BORGES, E.P.; ANDRADE JUNIOR, E.R.; SIQUERI, F.V.; JULIATTI, F.C.; GRIGOLLI, J.F.J.; NUNES JUNIOR, J.; CARNEIRO, L.C.; SILVA, L.H.C.P.; SATO, L.N.; CANTERI, M.G.; MADALOSSO, M.; ITO, M.A.; MARTINS, M.C.; BALARDIN, R.S.; FURLAN, S.F.; MONTECELLI, T.D.N.; CARLIN, V.J.; BARROS, V.L.N.; VENANCIO, W.S. **Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2013/14: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 8p. (Embrapa Soja, Circular Técnica 103).

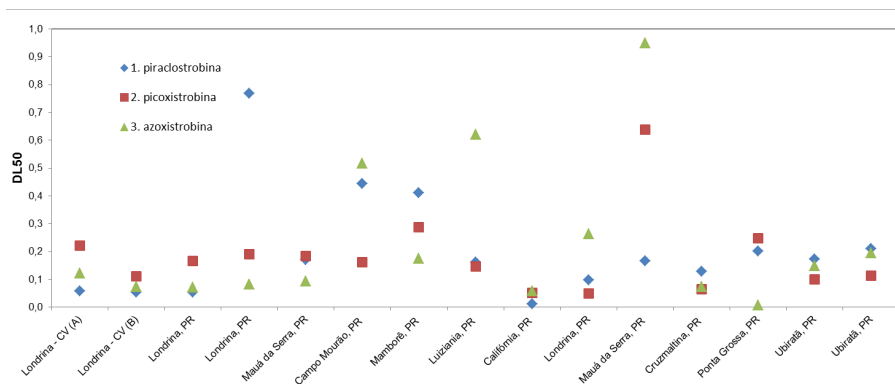
SCHMITZ, H.K.; MEDEIROS, C.A.; CRAIG, I.R.; STAMMLER, G. Sensitivity of *Phakopsora pachyrhizi* towards quinone-outside-inhibitors and demethylation-inhibitors, and corresponding resistance mechanisms. **Pest Management Science**, v. 70, n. 3, p. 378–388, 2014.

SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. Soybean rust. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Eds.). **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. Saint Paul: APS Press, 1999. p. 25-26.

TECNOLOGIAS de produção de soja: região central do Brasil 2012 e 2013. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 261p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 15).

Tabela 1. Locais e data de coleta das amostras avaliadas.

Local	Data de coleta
1 Londrina – casa de vegetação (A)	28/01/2015
2 Londrina – casa de vegetação (B)	02/02/2015
3 Londrina, PR	17/02/2015
4 Londrina, PR	25/02/2015
5 Mauá da Serra, PR	27/02/2015
6 Campo Mourão, PR	05/03/2015
7 Mamborê, PR	05/03/2015
8 Luiziania, PR	06/03/2015
9 California, PR	12/03/2015
10 Londrina, PR – Campo Embrapa Soja	17/03/2015
11 Mauá da Serra, PR - Sementes Mauá	20/03/2015
12 Cruzmaltina, PR	24/03/2015
13 Ponta Grossa, PR	26/03/2015
14 Ubatatã, PR	15/04/2015
15 Ubatatã, PR	24/04/2015

**Figura 1.** Valores de DL₅₀ de *Phakopsora pachyrhizi* para os fungicidas piraclostrobina, picoxistrobina e azoxistrobina, em diferentes locais, na safra 2014/15.

Purificação de *Potyvirus* de ocorrência natural em *Hypochaeris brasiliensis*

SILVA, J. A.¹.; BRIZOLA, D. C.².; DIAS, L. A. F.².; POLICAN, P. M.².; ALMEIDA, A. M. R.².

¹Centro Universitário Filadélfia, ²Embrapa Soja, . Londrina, Paraná, e-mail: alvaro.almeida@embrapa.br

Introdução

O gênero *Potyvirus* é o responsável por causar a maior parte das viroses em plantas. Cerca de 30% de todas as viroses conhecidas são causadas por *Potyvirus* (WARD; SHUKLA, 1991). Esses vírus têm forma de partículas flexuosas, apresentando de 11 nm a 15 nm de largura e 680 nm a 900 nm de comprimento (DOUGHERTY; CARRINGTON, 1988). Uma característica interessante desse gênero, segundo Edwardson (1974), é o fato de apresentarem inclusões proteicas em forma de catavento, no citoplasma das células infectadas, sendo um critério importante na sua identificação. A maior parte da transmissão desses vírus é feita por afídeos. Esses vírus possuem RNA, fita simples e senso positivo.

O Almeirão do campo (*Hypochaeris brasiliensis*) é uma planta daninha encontrada rotineiramente na cultura da soja, sendo hospedeira de

patógenos, nas áreas cultivadas da América do Sul (MITUTI et al. 2006).

A purificação de vírus para se determinar a característica físico-química consiste em utilizar um método específico para a obtenção de vírus livre de qualquer tipo de contaminante proteico. Várias etapas são necessárias para a obtenção de extrato puro de partículas virais, onde se faz uso de centrifugações diferenciais, com combinação de baixas e altas centrifugações. Existem diversos métodos específicos para cada tipo de planta e vírus, sendo às vezes necessárias adaptações para a purificação do vírus desejado, caso o mesmo não tenha um método totalmente definido. Normalmente trata-se de um processo demorado.

O objetivo deste trabalho foi a obtenção de uma solução viral, a mais pura possível, livre de contaminantes, podendo ser utilizada em outros trabalhos, como a produção de antissoro e o estudo dos componentes estruturais dos vírus (RNA e DNA).

Materiais e métodos

Foi realizada a coleta de 100 g de folhas de *Hypochoeris brasilienses*, quando estas apresentaram sintoma nítido da doença. As folhas foram trituradas em um liquidificador na presença de tampão resfriado de fosfato de sódio 0,2M, pH 7,0, com adição de EDTA 0,01M e 0,5% de sulfito de sódio, e em seguida o extrato foi filtrado em gaze dupla. O filtrado foi submetido a adição de 7% de álcool butílico e agitado no agitador magnético, durante a noite. A precipitação das impurezas resultantes foi obtida através de uma centrifugação com baixa rotação (10.000 g) por 10 minutos. Ao sobrenadante foi adicionado 0,5% de detergente Triton x-100 e deixado em agitação por 10 minutos, e em seguida realizada uma centrifugação com alta rotação (118.000 g) por 3 horas.

Na centrifugação foram utilizados tubos de 38 mL, sendo 30 mL do extrato e 8,0 mL de sacarose 20%, essa última foi adicionada cuidadosamente no fundo dos tubos, formando um “colchão” de sacarose. O precipitado formado após a centrifugação foi

ressuspendido em 3 mL de tampão fosfato de sódio 0,05 M, pH 7,5, EDTA 0,01 M e 0,5% de Triton X-100. Uma nova centrifugação com baixa rotação foi efetuada para a precipitação de impurezas. A verificação da pureza do vírus foi determinada através de um espectro com uma faixa de comprimento de onda entre 220 nm e 400 nm, fazendo-se uma relação entre as absorbâncias em 260/280nm. Um novo ciclo de centrifugações foi realizado para se obter uma concentração maior de vírus e com maior pureza. A segunda centrifugação com alta rotação se deu com solução tampão fosfato de sódio 0,01 M, pH 7,0, num total de aproximadamente 12 mL, e centrifugado com rotação de 106.000 g por 2 horas e meia. O precipitado formado foi ressuspendido novamente em 600 μ L de tampão fosfato de sódio 0,01 M, pH 7,0, fazendo-se a leitura final no espectrofotômetro, na diluição de 1:20.

Para a determinação da massa molecular da proteína, foi utilizada a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE).

Resultados e discussão

Para cada 100 g de folha, obteve-se 600 μ L de suspensão de vírus purificado. A relação de absorbância entre 260 nm e 280 nm foi de 1,38, número considerado próximo ao característico de *Potyvirus*. De acordo com Stevens (1983), uma relação ideal de proteína capsidial e impureza é de 1,2. O coeficiente de extinção utilizado foi de 2,3, concluindo-se que 100 g de tecido infectado de *H. brasiliensis* tinha ao final 1 mg de vírus ml^{-1} .

Na Figura 1, as amostras referentes à proteína do capsídeo do vírus mostraram uma massa molecular de 34 kDa. Segundo Alisson et al. (1985), espécies de *Potyvirus* apresentam uma massa molecular por volta de 33 kDa, valores que estão muito próximos.

Conclusão

Esse método apresentou uma quantidade satisfatória de suspensão de vírus purificado. A pureza da solução viral ficou próxima do ideal para *Potyvirus*.

Com base no peso molecular da proteína capsidial de aproximadamente 34 kDa, conclui-se que o vírus pertence ao gênero *Potyvirus*.

Referências

ALLISON, R.F., SORENSON, J.C., KELLY, M.E., ARMSTRONG, F.B. ; DOUGHERTY, W.G. Sequence determination of the capsid protein gene and flanking regions of Tobacco etch virus: evidence for synthesis and processing of a polyprotein in potyvirus gene expression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 82, p.3969-3972, 1985.

DOUGHERTY, W. G.; CARRINGTON, J. C. Expression and function of potyviral gene products. **Annual Review of Phytopathology**, v. 26, p. 123-143, 1988.

EDWARDSON, J. R. **Some properties of the potato virus Y-group**. Florida Agricultural Experimental Station, (1974). 225 p. (Monograph Series 4).

MITUTI, T. ; KITAJIMA, E.W. ; ALMEIDA, A. M. R . Natural occurrence of a potyvirus on *Hypochoeris brasiliensis*. In: Encontro Nacional de Virologia, 17., 2006, Campos de Jordão **Virus Reviews and Research**. Supplement. São Paulo: Multibeat Estúdio de Mídias, 2006. v. 11. p. 187-187

STEVENS. W.A. **Virology of flowering plants**. New York: Chapman & Hall, 1983.183 p.

WARD, C. W.; SHUKLA, D. D. Taxonomy of potyviruses: current problems and some solutions. **Intervirology**, v. 32, p. 269-296, 1991.

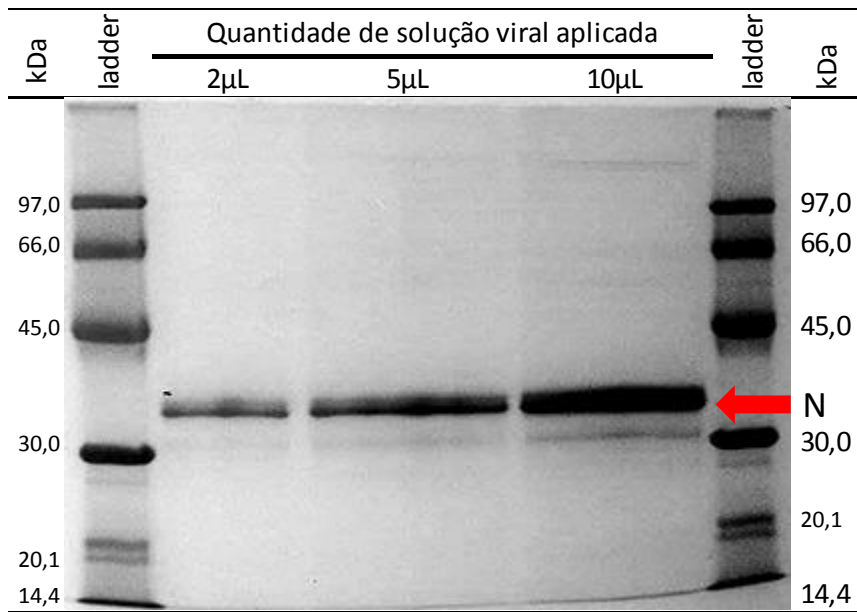


Figura 1. Eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-Page). N = Nucleoproteínas.

Patogenicidade de isolados de *Fusarium* spp. da Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja

VENANCIO, J. F. ¹; SEIXAS, C. D. S.²

¹Centro Universitário Filadélfia, ²Embrapa Soja. Londrina, Paraná, e-mail: claudine.seixas@embrapa.br

Introdução

A soja [*Glycine max* (L.) Merr.] é a oleaginosa mais cultivada no mundo (WILCOX, 2004). Um dos importantes fatores que impedem a soja de atingir altas produtividades é a ocorrência de doenças.

A síndrome da morte súbita ("Suden Death Syndrome" - SDS) da soja foi relatada pela primeira vez, em 1972, nos Estados Unidos (RUPE, 1989). No Brasil foi observada pela primeira vez na safra 1981/82 em São Gotardo, Minas Gerais, e em seguida no Distrito Federal (NAKAJIMA et al., 1996). Foi denominada podridão vermelha da raiz (PVR).

O patógeno infecta as raízes, reduzindo a massa e a nodulação. O lenho adquire coloração castanho-clara, que se estende por vários

centímetros acima do solo, mas a medula permanece clara (NAKAJIMA et al., 1996; ALMEIDA et al., 2005). A haste principal apresenta uma mancha avermelhada, logo abaixo do nível do solo, que se expande adquirindo coloração negra (NAKAJIMA et al., 1996; ALMEIDA et al., 2005). Nas folhas, os sintomas consistem de manchas cloróticas internervais, que surgem normalmente após o estágio reprodutivo R4 (FEHR et al., 1971), em infestações severas, esses podem surgir nos estádios vegetativos. Com o desenvolvimento da doença, as lesões evoluem para necrose ou formam estrias cloróticas (NAKAJIMA et al., 1996), resultando no sintoma conhecido como “folha carijó” (ALMEIDA et al., 2005). Os sintomas evidenciados nas folhas são consequência da ação de toxinas produzidas pelo fungo nas raízes e translocadas para a parte aérea (LI et al., 2000).

Inicialmente, o agente causal da PVR foi identificado como *Fusarium solani* (RUPE, 1987). Posteriormente, com base na especialização em relação ao hospedeiro e nos tipos de sintomas causados, o fungo foi classificado como *Fusarium solani* f. sp. *glycines* (ROY, 1997).

Estudos recentes, associando análises moleculares, morfológicas e de patogenicidade do fungo, relacionaram quatro espécies, do complexo *Fusarium solani* (FSSC), a SDS/PVR da soja: *Fusarium brasiliense*, *F. crassistipitatum*, *F. tucumaniae*, *F. virguliforme*, dessas, as três primeiras ocorrem no Brasil (AOKI et al., 2005, 2012), mas há poucas informações disponíveis sobre a sua distribuição no País.

A Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja (CMES) contém 357 isolados de *Fusarium* spp. de diferentes regiões do Brasil, obtidos de amostras de plantas com sintomas de PVR e de solo, mas a espécie de cada isolado ainda é desconhecida, com exceção de três isolados, que foram utilizados por Aoki et al. (2005, 2012). A primeira etapa para essa identificação foi selecionar os isolados com cor de colônia característica do FSSC (azuladas, verde-azuladas, creme e brancas). Antes da caracterização morfológica e molecular, a patogenicidade dos isolados precisa ser verificada.

O objetivo deste trabalho foi testar a patogenicidade de isolados de *Fusarium* spp. da CMES, sendo essa a segunda etapa para se chegar a identificação dos isolados da Coleção.

Material e métodos

O teste foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Foi avaliada a patogenicidade de 92 isolados de *Fusarium*, obtidos de amostras de plantas com sintomas da PVR (11 isolados) e de solo (81 isolados) de áreas de cultivo de soja (Tabela 1). Três isolados, obtidos de amostras de plantas, já identificados foram incluídos como controle positivo (testemunhas): CMES 04 (*F. brasiliense*), CMES 24 (*F. crassistipitatum*) e CMES 25 (*F. tucumaniae*), totalizando no teste, 95 isolados.

Foram utilizados vasos com capacidade de um litro, contendo substrato (solo, areia e esterco bovino), semeando-se em cada vaso, cinco sementes de soja, da cultivar BRS 133, suscetível ao patógeno. Após a emergência das plantas foi feito o desbaste deixando-se três plantas por vaso. Foram feitas três repetições, sendo cada repetição constituída de um vaso com três plantas, totalizando nove plantas por isolado. Os 95 isolados, que estavam preservados pelo método de Castellani, foram repicados para placas de Petri (uma placas por isolado) contendo meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), e mantidos por 20 dias em câmaras de incubação a 28 °C com fotoperíodo de 12 horas.

Para inoculação foi empregado o método do palito de dente colonizado descrito por Keeling (1982) adaptado por Yorinori (1996). Placas de Petri contendo 150 pontas de palito-de-dente com 15 mm de comprimento, em posição vertical, foram esterilizadas. Em seguida, meio ágar-fubá foi vertido nas placas, em quantidade suficiente para que apenas 3 mm da ponta dos palitos permanecessem acima do meio de cultura. Após os 20 dias de incubação, os isolados foram repicados para essas placas (uma placa por isolado) e mantidos em câmara de incubação por 25 dias a 28 °C e fotoperíodo de 12 horas. Durante esse período foi feita a semeadura dos vasos e quando as plantas encontravam-se no estágio V2-V3 (FEHR et al., 1971), procedeu-se à

inoculação introduzindo uma ponta de palito colonizada no hipocótilo de cada planta, na altura média entre o solo e os cotilédones. Os vasos com as plantas inoculadas permaneceram em casa de vegetação, com a temperatura variando entre 25 °C a 28 °C e com irrigação de cinco minutos a cada hora, para favorecer o desenvolvimento do patógeno. Após trinta dias da inoculação foi feita a avaliação das plantas observando os sintomas de lesão a partir do ponto de infecção, murcha, folha carijó e morte de plantas. As lesões foram medidas com auxílio de régua.

Resultados e discussão

Todas as plantas inoculadas apresentaram sintoma. Portanto, os 92 isolados testados são patogênicos à soja.

Porém esses isolados apresentaram apenas lesão a partir do ponto de infecção. Não ocasionaram murcha, folha carijó ou morte de plantas. Esses sintomas foram observados apenas nas plantas inoculadas com dois dos isolados-testemunha, sendo que o CMES 04 causou folha carijó, além da lesão e o CMES 25 matou todas as plantas inoculadas. Arruda et al. (2005) também utilizou o método do palito de dente, mediu comprimento de lesão e considerou o método adequado para indicar isolados causadores de PVR mais e menos agressivos. Esses autores avaliaram o comportamento de duas cultivares frente a diversos isolados obtidos de plantas com sintomas da PVR e já identificados.

A média de comprimento de lesão dos 92 isolados variou de 2 mm a 20 mm de comprimento. Os isolados CMES 107, CMES 161, CMES 163 e CMES 179, obtidos de solo, foram os menos agressivos nesse teste, com 2 mm de comprimento médio de lesão.

Os isolados mais agressivos foram o CMES 203 com o maior tamanho médio de lesão, 20 mm, CMES 119, CMES 191, CMES 194 que provocaram lesão de 18 mm e o isolado CMES 68 que causou lesão de 16 mm em média. Desses, apenas o CMES 68 foi obtido de amostra de planta, os demais foram obtidos de solo. Apesar de terem apresentado

tamanho médio de lesão maior que o isolado-testemunha CMES 04 (14 mm), esses isolados não provocaram o sintoma de folha carijó como o CMES 04. Mueller et al. (2002) não encontraram correlação entre lesão na raiz e o sintoma foliar, o que pode explicar esse resultado.

A folha carijó é um sintoma reflexo, consequência da produção de toxinas que se translocam para a parte aérea das plantas (LI et al., 2000). Hartman et al. (2004) sugerem que juntamente com certas condições ambientais (temperatura do solo, umidade), mecanismos não tóxicos podem estar envolvidos no sintoma foliar. Considerando que todos os isolados foram submetidos à mesma condição, esses 92 isolados podem não ter provocado a folha carijó por causa de algum outro mecanismo que Hartman et al. (2004) não especifica quais seriam ou talvez não produzam a toxina em quantidade suficiente para induzir o sintoma. De qualquer forma, não ter provocado o sintoma de folha carijó não significa que esses 92 isolados não sejam causadores da PVR e que pertençam a uma das espécies descritas na literatura (AOKI et al. 2005, 2012) como causadoras dessa doença.

Conclusão

Os isolados testados são patogênicos à soja e serão submetidos a outros estudos para determinação da espécie.

Referências

ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA J. F. V.; HENNING, A. A.; GODOY, C. V.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M.C. Doenças da soja (*Glycine max*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**, 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005. p. 569-588.

AOKI, T.; O'DONNELL, K.; HOMMA Y.; LATTANZI, A. R.; SCANDIANI, M. M. Sudden death syndrome of soybean in south America is caused by four species of *Fusarium*: *Fusarium brasiliense* sp. nov., *F. cuneirostrum* sp. nov., *F. tucumaniae*, and *F. virguliforme*. **Mycoscience**, v. 46, p. 162-183, Dec. 2012.

AOKI, T.; SCANDIANI, M. M.; O´DONNELL, K. Phenotypic, molecular phylogenetic, and pathogenic characterization of *Fusarium crassistipitatum* sp. nov., a novel soybean Sudden death syndrome pathogen from Argentina and Brazil. **Mycoscience**, v. 53, p.167-186, 2012.

ARRUDA, G.M.T.; LILLER, R.N.G.; FERREIRA, M.A.S.V.; CAFÉ-FILHO, A.C. Morphological and molecular characterization of the sudden death syndrome pathogen of soybean in Brazil. **Plan Pathology**, v. 54, p. 53-65, 2005.

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E.; BURMOOD, D.T.; PENNINGTON, J.S. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, v. 11, p. 929-931, 1971.

HARTMAN, G. L.; HUANG, Y. H.; LI, S. Phytotoxicity of *Fusarium solani* culture filtrates from soybeans and other hosts assayed by stem cuttings. **Australasian Plant Pathology**, v. 33, n. 1, p. 9-15, 2004.

KEELING, B.L. A seedling test for resistance to soybean stem canker caused by *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*. **Phytopathology**, v.72, p.807-809, 1982.

LI, S.; HARTMAN, G. L.; LEE, B.S.; WIDHOLM, J. M.; Identification of a stress-induced protein in stem exudates of soybean seedlings root-infected with *Fusarium solani* f. sp. *glycines* culture filtrates. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 803-809, 2000.

MUELLER, D. S.; LI, S.; HARTMAN, G. L.; PEDERSEN, W. L. Use of aeroponic chambers and grafting to study partial resistance to *Fusarium solani* f. sp. *glycines* in soybean. **Plant Disease**, v. 86, n. 11, p. 1223-1226, 2002.

NAKAJIMA, T. et al. First occurrence of sudden death syndrome of soybean in Brazil. **Japanese Agricultural Research Quarterly**, v. 30, n. 1, p. 31-34, Jan. 1996.

ROY, K. W. *Fusarium solani* on soybean roots: nomenclature of the causal agent of sudden death syndrome and identity and relevance of *F. solani* form B. **Plant Disease**, v. 81, p. 259-266, 1997.

RUPE, J.C. Occurrence and pathogenicity of *Fusarium solani* recovered from soybean with sudden death syndrome. **Phytopathology**, v. 77, p.1689, 1987.

WILCOX, J.R. World distribution and trade of soybean. In. BOERMA H. R.; SPECHT, J. (Ed.). **Soybeans**; improvement, production and uses. 3. ed. Madison: ASA: CSSA: SSSA, 2004. p. 1-14. (Agronomy Monograph, 16).

YORINORI, J. T. **Cancro da haste da soja**: epidemiologia e controle. Londrina, PR: Embrapa Soja, 1996. 75 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 14).

Tabela 1. Identificação do isolado, local de origem (município/estado) e data de coleta dos isolados de *Fusarium* spp.

Isolado	Local de Origem	Ano de Coleta	Isolado	Local de Origem	Ano de Coleta
CMES 4	Brasília/DF	1992	CMES 117	Londrina/PR	2009
CMES 24	Cristalina/GO	2000	CMES 119	Londrina/PR	2009
CMES 25	Ponta Grossa/PR	2000	CMES 122	Londrina/PR	2009
CMES 33	Carambeí/PR	2000	CMES 124	Londrina/PR	2009
CMES 47	Ponta Grossa/PR	2001	CMES 125	Londrina/PR	2009
CMES 53	Ponta Grossa/PR	2001	CMES 126	Londrina/PR	2009
CMES 58	Pirapó/RS	2002	CMES 127	Londrina/PR	2009
CMES 68	Ponta Grossa/PR	2004	CMES 128	Londrina/PR	2009
CMES 100	Londrina/PR	2009	CMES 129	Londrina/PR	2009
CMES 106	Londrina/PR	2009	CMES 131	Londrina/PR	2009
CMES 107	Londrina/PR	2009	CMES 132	Londrina/PR	2009
CMES 109	Londrina/PR	2009	CMES 133	Londrina/PR	2009
CMES 111	Londrina/PR	2009	CMES 134	Londrina/PR	2009
CMES 112	Londrina/PR	2009	CMES 140	Londrina/PR	2009
CMES 115	Londrina/PR	2009	CMES 144	Londrina/PR	2009
CMES 145	Londrina/PR	2009	CMES 189	Londrina/PR	2009
CMES 146	Londrina/PR	2009	CMES 190	Londrina/PR	2009
CMES 147	Londrina/PR	2009	CMES 191	Londrina/PR	2009
CMES 148	Londrina/PR	2009	CMES 192	Londrina/PR	2009
CMES 150	Londrina/PR	2009	CMES 193	Londrina/PR	2009
CMES 151	Londrina/PR	2009	CMES 194	Londrina/PR	2009
CMES 152	Londrina/PR	2009	CMES 195	Londrina/PR	2009
CMES 153	Londrina/PR	2009	CMES 196	Londrina/PR	2009
CMES 154	Londrina/PR	2009	CMES 197	Londrina/PR	2009
CMES 155	Londrina/PR	2009	CMES 198	Londrina/PR	2009
CMES 157	Londrina/PR	2009	CMES 199	Londrina/PR	2009
CMES 159	Londrina/PR	2009	CMES 200	Londrina/PR	2009
CMES 160	Londrina/PR	2009	CMES 201	Londrina/PR	2009
CMES 161	Londrina/PR	2009	CMES 202	Londrina/PR	2009
CMES 162	Londrina/PR	2009	CMES 203	Londrina/PR	2009
CMES 163	Londrina/PR	2009	CMES 204	Londrina/PR	2009
CMES 164	Londrina/PR	2009	CMES 205	Londrina/PR	2009
CMES 165	Londrina/PR	2009	CMES 206	Londrina/PR	2009
CMES 168	Londrina/PR	2009	CMES 208	Londrina/PR	2009
CMES 170	Londrina/PR	2009	CMES 209	Londrina/PR	2009
CMES 171	Londrina/PR	2009	CMES 210	Londrina/PR	2009
CMES 173	Londrina/PR	2009	CMES 212	Londrina/PR	2009
CMES 175	Londrina/PR	2009	CMES 213	Londrina/PR	2009
CMES 178	Londrina/PR	2009	CMES 215	Londrina/PR	2009
CMES 179	Londrina/PR	2009	CMES 217	Londrina/PR	2009
CMES 180	Londrina/PR	2009	CMES 218	Londrina/PR	2009
CMES 181	Londrina/PR	2009	CMES 718	Rio Verde/GO	1995
CMES 182	Londrina/PR	2009	CMES 719	*	1991
CMES 183	Londrina/PR	2009	CMES 725	*	1997
CMES 184	Londrina/PR	2009	CMES 733	Londrina/PR	1999
CMES 185	Londrina/PR	2009	CMES 738	Floresta/PR	2000
CMES 187	Londrina/PR	2009	CMES 746	Balsas/MA	2005
CMES 188	Londrina/PR	2009			

(*) : Informações desconhecidas.

Avaliação de similaridade e estruturação genética em *Spodoptera frugiperda* através de marcadores moleculares de microssatélites

Silvério, J. M. M.¹; Husch, P. E.2; Ferreira, D. G.³ Sosa-Gómez, D.R.⁴,

¹Universidade Norte do Paraná, Bolsista CNPQ/PIBIC; ²Universidade Federal do Paraná; ³Universidade

Estadual de Londrina, ⁴Embrapa Soja | jessika.silverio@colaborador.embrapa.br

Introdução

A lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae) é uma das principais pragas da cultura do milho, mas pode ocasionar danos também em outras culturas (BOREGAS et al., 2013). Ocasionalmente, causa danos em soja atuando como lagarta cortadeira ou destruindo vagens (SOSA-GÓMEZ et al., 2014). Este inseto ocorre em todo o continente americano, causando consideráveis prejuízos econômicos, de modo que para o manejo adequado desta praga é interessante entender aspectos relacionados a migração, diversidade genética e potencial de desenvolvimento (ARIAS et al., 2011).

O avanço da biologia molecular, a descoberta da reação em cadeia da polimerase (PCR) e o uso de marcadores moleculares de DNA, tais como microssatélites, possibilitaram a identificação de polimorfismos em genomas animais, revolucionando o monitoramento e a caracterização genética de suas populações (SILVA, 2007). Microssatélites são sequências simples repetidas, geralmente de um a seis nucleotídeos dispostos em tandem em regiões não-codificantes do DNA, os quais possuem a vantagem de serem codominantes, multi-alelicos e amplamente distribuídos no genoma, o que pode proporcionar resolução adequada para estudos de variabilidade intraespecífica (OLIVEIRA et al., 2006). A obtenção destes marcadores envolve a amplificação de *loci* de SSRs via PCR (Polimerase Chain Reaction) utilizando iniciadores específicos (geralmente de 20 a 25 pb) para as regiões de DNA que flanqueiam os SSRs (FALEIRO, 2007).

Embora o uso de microssatélites como marcadores em Lepidópteros seja complexo, principalmente devido à ocorrência de locus com múltiplas cópias no genoma e regiões flangeadoras semelhantes entre diferentes locus, estudos têm demonstrado um grande potencial para estas ferramentas na obtenção de conhecimentos genéticos sobre a população de espécies de Lepidópteros (ZHANG, 2004). Deste modo, o presente estudo empregou microssatélites na análise genética de populações de *S. frugiperda*, buscando avaliar níveis de similaridade genética, estrutura genética e fluxo gênico desta espécie ao longo de regiões produtoras de soja do Sul do Brasil.

Material e métodos

A análise molecular de microssatélites foi realizada utilizando 95 amostras de DNA de *S. frugiperda* coletadas na safra 2010/2011 (Tabela 1), extraídas no ano de 2012.

O programa touchdown PCR foi utilizado para amplificação no termociclador Veriti® Thermal Cycler, em um volume total de 15 microlitros, sendo 3 μ L de amostra de DNA diluídos em uma concentração de (2ng/ μ L) e 12 μ L de mix [1,5 μ L de tampão (10x), 2,0 μ L de BSA, 0,45 μ L de MgCl₂ (50MM), 0,80 μ L de dNTP's (2,5

MM], 1,5 μL de cada iniciador ($2\mu\text{M}$) (Stv_Spf670-F e Stv_Spf670-R; Stv_Spf00997-F e Stv_Spf00997-R; Stv_Spf00789-F e Stv_Spf00789-R; Stv_Spf01592-F e Stv_Spf01592-R; Stv_Spf01706-F e Stv_Spf01706-R; Stv_Spf00918-F e Stv_Spf00918-R; Stv_Spf00343-F e Stv_Spf00343-R; Stv_Spf00658-F e Stv_Spf00658-R; Stv_Spf00544-F e Stv_Spf00544-R, ver Arias et al., 2011), 0,2 μL Taq Polimerase (SU/ μL) e 4,05 μL de H_2O Milli Q.

A separação dos fragmentos de microssatélite foi realizada em géis de poliacrilamida, na parte inferior do gel foi utilizado 8,9 ml de poliacrilamida (40% 29:1), 3,3 ml de H_2O destilada, 4,2 ml de TRIS HCL (1,5 m pH 8,8), 15,8 μL de TEMED e 63,8 μL de persulfato de amônia. Para a segunda parte do gel foi adicionado 0,6 ml de poliacrilamida (40%, 29:1), 2,04 ml de H_2O destilada, 0,98 ml de TRIS HCL (0,5 m pH 6,8), 4 μL de TEMED 30 μL de persulfato de amônia. Foi acrescentado, 2 μL de tampão de amostra (40% sacarose) em cada amostra e também foi utilizado em todos os géis, para comparar 2 μg de marcador de peso molecular de 100 pb DNA ladder (Invitrogen, SP). A eletroforese foi realizada durante sete horas, após a qual o gel foi corado por 10 minutos em brometo de etídio e lavado em água pelo mesmo tempo para retirar seu excesso. A digitalização da imagem foi realizada no sistema de fotodocumentação, com uso de luz ultravioleta (Loccus biotecnologia, L-PIX EX). As imagens foram processadas e os dados analisados mediante os programas TFPGA (<http://www.marksgeneticsoftware.net/tfpga.htm>) utilizando o método de UPGMA (Unweighted Pair-group Method Arithmetic Averages) e o índice de Nei 1972. A diversidade genética foi estimada a partir do programa POPGEN v. 1.31 (YEH et al. 1997), utilizando o cálculo da heterozigosidade esperada (H_E) e observada (H_O), número de alelos por *locus* (N_A) e número de alelos efetivos (N_E). A estrutura genética foi estimada a partir da análise da variância molecular (AMOVA) e do índice ΦST par a par, usando o programa Arlequin 3.11 (EXCOFFIER et al., 2005). O fluxo gênico foi estimado a partir do programa BayesAss 1.3 (WILSON & RANNALA, 2003).

Resultados e discussão

Os níveis de diversidade genética obtidos entre as populações de *S. frugiperda* do presente estudo, H_E variando de 0,506 na Pop1 (Vacaria, RS) a 0,630 na Pop6 (Maringá, PR) e N_A variando de 2,111, Pop1 (Vacaria, RS) a 4,889 na Pop3 (Goioerê, PR), foram abaixo dos valores anteriormente reportados para a espécie em outras regiões do Brasil, $H_E = 0,742$ e $N_A = 10,8$ (PAVINATO et al., 2013) ou outras espécies do gênero no continente africano, $HE = 0,782$ e $N_A = 12,6$ (IBRAHIM et al., 2004).

A análise de variância molecular (AMOVA) mostrou que a maior parte da variação genética das amostras de *S. frugiperda* aqui estudadas encontra-se dentro de populações (89,96%). Contudo, esta análise também indicou uma parcela significativa (valor de $P < 0,05$) de variação entre as populações (10,04%). Do mesmo modo, os resultados significativos de Φ_{ST} par a par indicaram níveis de diferenciação genética que variaram (segundo Wright) de baixa ($\Phi_{ST} < 0,05$) a alta ($\Phi_{ST} > 0,15$), com o menor valor entre Campo Mourão e Maringá, PR ($\Phi_{ST} = 0,002$) e o maior entre Vacaria e Goioerê ($\Phi_{ST} = 0,249$) (Tabela 2).

A análise bayesiana de fluxo gênico apresentou poucos valores significativos de migrações entre as populações estudadas (Tabela 3). A maioria das populações apresenta constituição genética determinada por não migrantes ou amostras não incluídas nesta análise. Contudo, de modo distinto, as populações de Campo Mourão e Maringá apresentaram uma grande proporção de migrantes provenientes da população de Goioerê, 14,9% e 18,3%. Do mesmo modo, a população de Telêmaco Borba apresentou importantes contribuições dentro da População de Maringá (7%) e da População de Candido Mota (6%). Estes resultados, juntamente com o padrão observado na análise de estruturação genética (Φ_{ST} par a par), corroboram o dendrograma de similaridade obtido a partir a distância genética de Nei (Nei, 1972), onde são formados três grupos, um englobando as populações Goioerê, Campo Mourão, e Maringá, outro englobando Warta, Telêmaco Borba e Candido Mota e a população de Vacaria, RS mais afastada (Figura 1).

Conclusão

Os valores de Φ_{ST} (análogo de F_{ST}) indicam que ocorre reduzida estruturação das populações de *S. frugiperda* da região central do Paraná. As populações provenientes de Vacaria, RS foram as que tiveram maior diferenciação genética quando comparadas com as populações do Paraná. Os índices de fluxo gênico indicam migração na região central do Paraná.

Referências

- ARIAS, R. S.; BLANCO, C. A.; PORTILLA, M.; SNODGRASS, G. L.; SCHEFFLER, B. E. First microsatellites from *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and their potential use for population genetics. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 104, n. 3, p. 576-587, 2011.
- BOREGAS, K. G. B.; MENDES, S. M.; WAQUIL, J. M.; FERNANDES, G. W. Estádio de adaptação de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em hospedeiros alternativos. **Bragantia**, v. 72, n. 1, p. 61-70, 2013.
- EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics**, v. 1, p. 47-50, 2005.
- FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.
- IBRAHIM, K. M.; YASSIN, Y.; ELGUZOULI, A. Polymerase chain reaction primers for polymorphic microsatellite loci in the African armyworm, *Spodoptera exempta* (Lepidoptera: Noctuidae). **Molecular Ecology Notes**, v. 4, p. 653-655, 2004.

OLIVEIRA, E. J.; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R.; VIEIRA, M. L. C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 2, p. 294-307, 2006.

PAVINATO, V. A.; MARTINELLI, S.; LIMA, P. F. de, ZUCCHI, M. I.; OMOTO, C. Microsatellite markers for genetic studies of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 1, p. 370-380, 2012.

SILVA, P. V. C. **Caracterização genética de javalis por meio de marcadores microssatélites**. 2007. 46f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

SOSA-GÓMEZ, D. R.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, L. J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A. R.; BUENO, A. de F.; HIROSE, E.; ROGGIA, S. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. 3. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 100 p. (Embrapa Soja. Documentos, 269).

WILSON, G. A.; RANNALA, B. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. **Genetics**, v.163, p. 1177-1191, 2003.

YEH, F.C.; BOYLE, T.J.B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. **Belgian Journal of Botany**, v.129, p.157, 1997.

ZHANG, D. Lepidopteran microsatellite DNA: redundant but promising. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 19, n. 10, p. 5607-509, 2004.

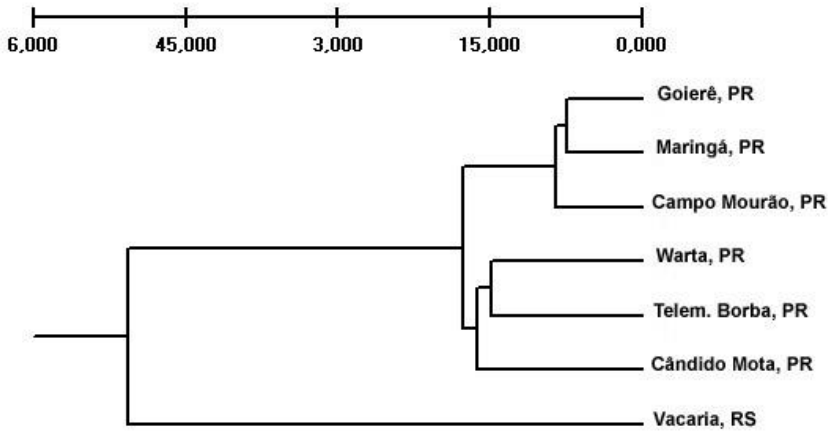


Figura.1 Dendrograma obtido por UPGMAS e distância de Nei1972 das populações de *Spodoptera frugiperda* estudadas com marcadores de microssatélites.

Tabela 1. Dados das populações geográficas de *Spodoptera frugiperda*.

Localidade	Data de coleta	GPS	Cultura
Vacaria – RS	Safra 2010/2011	-	-
Warta – PR	Safra 2010/2011	S 23°11'41,3 WO 51°10'54,7"	Milho
Goioerê – PR	Safra 2010/2011	S 24°11'24,5" WO 52°59'29,6"	Milho
Campo Mourão – PR	Safra 2010/2011	S 24°03'26,5" WO 52°31'50,3"	Milho
Telêmaco Borba - PR	Safra 2010/2011	S 24°23'06,1" WO 50°41'35,8"	Milho
Maringá - PR	Safra 2010/2011	S 23°30'21,3" WO 52°00'55,2"	Milho
Cândido Mota – SP	Safra 2010/2011	S 22°43'04,5" WO 60°18'47,4"	Milho

Tabela 2. Valores de FSTs das populações de *S. frugiperda*.

	Vacaria	Warta	Goioerê	Campo Mourão	Telêmaco Borba	Maringá	Cândido Mota
Vacaria	0.00000						
Warta	0.09616	0.00000					
Goioerê	0.24956	0.08322	0.00000				
Campo Mourão	0.18600	0.07107	0.04858	0.00000			
Telêmaco Borba	0.16642	0.08564	0.17051	0.06844	0.00000		
Maringá	0.18532	0.08969	0.01102	0.00272	0.10643	0.00000	
Cândido Mota	0.14333	0.11252	0.16472	0.11962	0.10545	0.11053	0.00000

Tabela 3. Fluxo gênico estimado a partir de uma análise bayesiana, utilizando o programa BayesAss. Porcentagem de migrantes e não migrantes dentro de cada uma das sete populações estudadas. Vacaria = Pop1, Warta = Pop2, Goioerê = Pop3, Campo Mourão = Pop4, Telêmaco Borba = Pop5, Maringá = Pop6 e Cândido Mota = Pop7.

Nº não migrantes (95% IC)						
Pop1	Pop2	Pop3	Pop4	Pop5	Pop6	Pop7
0,900	0,967	0,922	0,693	0,962	0,688	0,893
(0,689-	(0,888-	(0,824-	(0,667-	(0,873-	(0,667-	(0,670-
0,996)	0,999)	0,989)	0,767)	0,999)	0,742)	0,999)

N° migrantes (95% IC)						
Pop1	Pop2	Pop3	Pop4	Pop5	Pop6	Pop7
Pop2 – 0,021	Pop1 – 0,005	Pop1 – 0,008	Pop1 – 0,012	Pop1 – 0,006	Pop1 – 0,010	Pop1 – 0,007
(4,50 ⁻⁸ – 0,125)	(4,90 ⁻⁹ – 0,031)	(5,58 ⁻⁷ – 0,043)	(2,94 ⁻⁵ – 0,053)	(1,30 ⁻⁸ – 0,039)	(2,74 ⁻⁵ – 0,045)	(2,50 ⁻⁸ – 0,038)
Pop3 – 0,021	Pop3 – 0,009	Pop2 – 0,037	Pop2 – 0,023	Pop2 – 0,006	Pop2 – 0,014	Pop2 – 0,016
(1,52 ⁻⁸ – 0,129)	(8,29 ⁻⁹ – 0,058)	(0,0001 – 0,114)	(9,85 ⁻⁵ – 0,089)	(7,13 ⁻⁹ – 0,043)	(5,67 ⁻⁵ – 0,064)	(5,02 ⁻⁸ – 0,105)
Pop4 – 0,015	Pop4 – 0,005	Pop4 – 0,007	Pop3 – 0,149	Pop3 – 0,006	Pop3 – 0,183	Pop3 – 0,011
(9,21 ⁻⁹ – 0,089)	(8,29 ⁻⁹ – 0,058)	(7,36 ⁻⁷ – 0,04)	(0,039 – 0,267)	(4,37 ⁻⁹ – 0,038)	(0,077 – 0,278)	(7,89 ⁻⁹ – 0,077)
Pop5 – 0,021	Pop5 – 0,005	Pop5 – 0,007	Pop5 – 0,088	Pop4 – 0,006	Pop4 – 0,010	Pop4 – 0,006
(4,17 ⁻⁹ – 0,127)	(6,47 ⁻⁹ – 0,035)	(5,72 ⁻⁷ – 0,046)	(0,007 – 0,200)	(1,70 ⁻⁸ – 0,043)	(2,18 ⁻⁵ – 0,048)	(3,90 ⁻⁸ – 0,040)
Pop6 – 0,015	Pop6 – 0,004	Pop6 – 0,008	Pop6 – 0,012	Pop6 – 0,006	Pop5 – 0,072	Pop5 – 0,060
(1,37 ⁻⁸ – 0,095)	(7,89 ⁻⁹ – 0,029)	(3,50 ⁻⁷ – 0,048)	(3,07 ⁻⁵ – 0,055)	(1,27 ⁻⁸ – 0,039)	(0,016 – 0,156)	(1,90 ⁻⁸ – 0,282)
Pop7 – 0,014	Pop7 – 0,005	Pop8 – 0,011	Pop7 – 0,023	Pop7 – 0,008	Pop7 – 0,022	Pop6 – 0,008
(1,06 ⁻⁸ – 0,082)	(1,11 ⁻⁸ – 0,030)	(1,53 ⁻⁶ – 0,055)	(0,0002 – 0,082)	(1,63 ⁻⁸ – 0,055)	(5,91 ⁻⁵ – 0,111)	(2,45 ⁻⁸ – 0,049)

Seletividade de inseticidas utilizados no controle de *Helicoverpa armigera* à pupas de *Telenomus podisi* ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae)

Souza, J. M.¹, Silva, G. V.², Queiroz, A. P.³, Braz, E. C.⁴, Neves, P. M. O. J.⁵, Bueno, A. F.⁶, Silva, D. M.⁷

¹Centro Universitário Filadélfia, Londrina-PR,²Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR, ^{3,7}Instituto Agrônomo do Paraná, Londrina – PR, ⁴Universidade do Norte do Paraná, Londrina – PR, ⁶Embrapa Soja, Londrina – PR.

Introdução

O conceito de manejo integrado de pragas (MIP) preconiza a utilização de diversas táticas de controle de forma harmônica visando complementar o controle biológico natural e manter assim as populações de pragas abaixo do nível de dano econômico, conservando o ambiente e os artrópodes benéficos. Portanto, parasitoides e produtos fitossanitários podem ser utilizados simultaneamente em programas de MIP, porém é necessário verificar a compatibilidade entre eles (POLANCZYK et al., 2010). Assim, a seletividade dos inseticidas aos inimigos naturais é de grande importância e deve ser avaliada para qualquer tomada de decisão em relação ao produto utilizado a sua dose para casos específicos (BUENO et al., 2012).

A seletividade de inseticidas a diferentes inimigos naturais vem sendo estudada intensamente e, inúmeros trabalhos já foram publicados (HASSAN, 1992; CASTRO et al., 2012). A maioria desses estudos refere-se ao efeito de inseticidas sobre os agentes de controle biológico e alguns deles (BUENO et al., 2008; CARMO et al., 2009; LIMA et. al., 2010) relatam, também, efeitos colaterais de outros produtos químicos (herbicidas e fungicidas) sobre os inimigos naturais.

Após a recente identificação da *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) no Brasil, o controle químico vem sendo muito empregado em seu controle com dosagens de inseticidas maiores do que as tradicionalmente utilizadas nas culturas de soja, algodão e milho no manejo das demais lagartas dessas lavouras. Assim, *H. armigera* vem ganhando maior atenção na cultura da soja, onde é mais daninha no período reprodutivo, consumindo folhas e também as vagens, ocorrendo no mesmo período que outras pragas importantes do sistema produtivo como os percevejos que sugam vagens e sementes.

Sendo assim, o controle químico dessas lagartas pode impactar o controle biológico dos percevejos quando produtos ou dosagens não seletivas forem utilizadas. Entre os inimigos naturais dos percevejos da soja, o parasitoide de ovos *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) merece destaque (CORRÊA-FERREIRA, 1993), por ser uma espécie abundante e apresentar preferência por ovos de *E. heros* (CORRÊA-FERREIRA e AZEVEDO, 2002, DOETZER e FOERSTER, 2007). Assim, o presente trabalho buscou identificar os possíveis danos da pulverização de Premio® e Ampligo® em diferentes doses ao parasitoide de ovos *T. podisi*.

Material e métodos

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com dez tratamentos (T1 a T5: inseticida Premio® - clorantiraniliprole - nas doses de 50, 75, 100, 150 e 250 ml p.c./ha, respectivamente; T6 a T8: inseticida Ampligo® - clorantiraniliprole + lambdacialotrina - nas

doses de 100, 200 e 300 ml p.c./ha, respectivamente; T9 testemunha negativa água corrente e T10 com o inseticida Lorsban 480BR® na dose de 2L p.c./ha e) e cinco repetições cada. As soluções referentes a cada tratamento foram pulverizadas, através de uma Torre de Potter previamente calibrada, sobre cartelas contendo ovos de *Euschistus heros* com pupas de *T. podisi* (aproximadamente 13 dias de desenvolvimento).

Posteriormente, as cartelas permaneceram em condições ambientais por cerca de duas horas, para completa secagem da calda, originando uma película do produto. Foram confeccionadas gaiolas de contato, de acordo com a metodologia proposta por Degrande et al. (2002), sendo que placas de vidro compuseram o fundo e a cobertura do interior da gaiola. A superfície exterior das placas de vidro foi coberta com papel cartão preto que teve o quadrado central (7 cm x 7 cm) removido. As cartelas contendo as pupas de *T. podisi* foram inseridas nas gaiolas e, após 24h, 72h e 120h da emergência dos parasitoides, foram inseridas novas cartelas com aproximadamente 70 ovos do hospedeiro *E. heros* para parasitismo.

Os parâmetros biológicos avaliados foram a viabilidade de pupas e a porcentagem de parasitismo da geração F1. Para estes parâmetros foram avaliadas a normalidade dos erros e a homogeneidade da variância dos erros dos tratamentos (SHAPIRO;WILK, 1965; BURR;FOSTER, 1972). Quando os dados não atenderam os pressupostos da análise de variância (anova) os dados foram transformados em arco-seno $\sqrt{X/100}$. As comparações múltiplas de médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) (SAS INSTITUTE, 2001).

Além disso, o efeito do tratamento em *T. podisi* para cada agrotóxico foi determinado através da comparação com a testemunha negativa (água destilada), calculada por meio da fórmula de Hassan et al. (1985; 2000): $E_1\% = (1 - \text{Parasitismo no tratamento} / \text{Parasitismo na testemunha}) \times 100$ para os ensaios com adultos e $E_2\% = (1 - \text{Viabilidade das pupas pulverizadas com o tratamento} / \text{viabilidade das pupa na testemunha}) \times$

100 (modificado de HASSAN et al., 1985) para os ensaios com pupas. Posteriormente os tratamentos foram classificados como: classe 1 = inócuo ($E < 30\%$), classe 2 = levemente nocivo ($30\% \leq E < 80$), classe 3 = moderadamente nocivo ($80\% \leq E < 99$), classe 4 = nocivo ($E \geq 99\%$).

Resultados e discussão

Existem diferentes maneira de pupas de parasitoide serem afetadas por produtos químicos pulverizados sobre seus hospedeiros, como por exemplo através da ingestão dos resíduos ao consumir o córion contaminado no momento da emergência (CÔNSOLI et al., 2001). Além disso, há a possibilidade das moléculas do produto atravessarem o ovo através de estruturas como as micrópilas e entrarem em contato com o parasitoide em desenvolvimento (BEAMENT 1952; KOPPEL et al., 2011). Porém, é evidente que parasitoides de ovos estão menos expostos aos efeitos de agrotóxicos durante seu desenvolvimento (JERVIS, 2005; GARCIA, 2011) comparados a sua fase adulta.

De maneira geral, pôde-se perceber que ambos os inseticidas químicos testados no presente estudo foram seletivos a pupas do parasitoide *T. podisi*, ou seja, se enquadraram na classe 1 (inócuo) de acordo com a classificação da IOBC, exceto pelo tratamento cinco (clorantraniliprole a 250 ml p.c./ha), que foi classificado como levemente nocivo (Tabela 1). Em todos os períodos testados, a viabilidade de pupas não apresentou diferença entre os tratamentos, mas é possível observar que, 24h após a emergência, a aplicação dos inseticidas resultou em menor viabilidade (Tabela 2). Isto pode ser explicado pelo fato de que com 72h e 120h após a emergência, a película formada pelo produto havia sofrido maior evaporação.

Para a porcentagem de parasitismo, obteve-se diferença apenas para o tratamento cinco em 24h e 72h após a emergência, sendo os valores mais baixos comparados aos outros tratamentos. Porém, 120h após a emergência observou-se aumento na porcentagem de parasitismo, possivelmente devido a menor influência dos inseticidas sobre os parasitoides.

De acordo com experimentos realizados por Serikawa et al. 2013, o inseticida Premio (Clorantraniliprole) é seletivo a diversas espécies de parasitoides e predadores, corroborando com os resultados obtidos no presente estudo. No entanto, a lambdacialotrina, um dos ingredientes ativos do Ampligo, apresentou-se tóxica a *T. podisi*, (Golin, 2014) e a algumas espécies de parasitoides de ovos de lepidópteros (BUENO et al., 2008; ANTIGO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2013), resultados opostos aos obtidos neste trabalho. Porém, é importante ressaltar que o efeito dos inseticidas pode ser alterado de acordo com a dose utilizada, com a interação com outros produtos e o estágio de desenvolvimento do parasitoide.

Conclusão

Conclui-se que os inseticidas Premio e Ampligo, nas doses testadas, são seletivos a pupas de *Telenomus podisi*, podendo ser priorizados em programas de manejo integrado de pragas (MIP).

Agradecimentos

Ao pesquisador Dr. Adeney de Freitas Bueno pela oportunidade de estágio, a equipe do Laboratório de Parasitoides pela contribuição na realização do trabalho e a Embrapa Soja pela bolsa de estágio.

Referências

ANTIGO, M. R.; OLIVEIRA, H. N.; CARVALHO, G. A.; PEREIRA, F. F. Repelência de produtos fitossanitários usados na cana-de-açúcar e seus efeitos na emergência de *Trichogramma galloi*. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 44, n. 4, p. 910-916, 2013.

BEAMENT, J. W. L. The role of cuticle and egg-shell membranes in the penetration of insecticides. **Annual Applied Biology**, v. 39, p. 142–143, 1952.

BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; VIEIRA, S. S. Effects of pesticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v.38, n.6, p.1495- 1593, 2008.

BURR, I. W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26p. (Mimeo Series, 282).

CARMO, E. L.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. **BioControl**, v. 55, p. 455- 464, 2010.

CÔNSOLI, F.L.; BOTELHO, P.S.M.; PARRA, J.R.P. Selectivity of insecticides to egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988, (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Journal of Applied Entomology**, v. 125, p. 37-43, 2001.

CORREA-FERREIRA, B. S. **Utilização do parasitoide de ovos *Trissolcus basalís* (Wollaston) no controle de percevejos da soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1993. 40p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Tecnica, 11).

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; AZEVEDO, J. DE. Soybean seed damage by different species of stink bugs. **Agricultural and Forest Entomology**, v. 4, p. 145-150, 2002.

DEGRANDE, P. E.; REIS, P. R.; CARVALHO, G. A.; BELARMINO, L. C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.

DOETZER, A. K.; FOERSTER, L. A. Desenvolvimento, longevidade e reprodução de *Trissolcus basalís* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) em condições naturais durante a entressafra da soja no sul do Paraná. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 2, p. 233-242, 2007.

GARCIA, P. Sublethal effects of pyrethroids on insect parasitoids: What we need to further know. In: STOYTCHIEVA, M. (Ed.). **Pesticides: formulations, effects, fate**. In: Rijeka: InTech, 2011. p.477-494.

HASSAN, S. A.; BIGLER, F.; BLAISINGER, P.; BOGENSCHÜTZ, H.; BRUN, J.; CHIVERTON, P.; DICKLER, E.; EASTERBROOK, M. A.; EDWARDS, P. J.; ENGLERT, W. D.; FIRTH, S. I.; HUANG, P.; INGLESFIELD, C.; KLINGAUF, F.; KÜHNER, C.; LEDIEU, M. S.; NATON, E.; OOMEN, P. A.; OVERMEER, W. P. J.; PLEVOETS, P.; REBOULET, J. N.; RIECKMANN, W.; SAMSOSE-PETERSEN, L.; SHIRES, S. W.; STÄUBLI, A.; STEVENSON, J.; TUSET, J. J.; VANWETSWINKEL, G.; VAN ZON, A. Q. Standard methods to test the side-effects of pesticides on natural enemies of insects and mites developed by the IOBC/WPRS Working Group 'Pesticides and Beneficial Organisms'. **EPPO Bulletin**, v. 15, n. 2, p. 214-255, 1985.

JERVIS, M.; COPLAND, M. J. W.; HARVEY, J. A. The life-cycle. In: JERVIS, M. (Ed.). **Insects as natural enemies: a practical perspective**. Dordrecht: Springer, 2005. p.73-165.

KOPPEL, A.L.; HERBERT, JR., D.A.; KUCHAR, T.P.; MALONE, S.; ARRINGTON, M. Efficacy of selected insecticides against eggs of *Euschistus servus* and *Acrosternum hilare* (Hemiptera: Pentatomidae) and the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Scelionidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 104, n. 1, p. 137-142, 2011.

LUCAS, B. V.; HERNANDEZ, D. D.; PEREIRA, A. R.; SANTOS, V. J. N.; LUCAS, M. B. Seletividade do inseticida Novaluron na artropodofauna benéfica na cultura da soja sob solo de cerrado In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 28., 2006, Uberaba. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja: Fundação Meridional: Fundação Triângulo, 2006. p. 104-105. (Embrapa Soja. Documentos, 272).

OLIVEIRA, H.N.; ANTIGO, M.R.; CARVALHO, G.A.; GLAESER, D.F.; PEREIRA, F.F. Seletividade de inseticidas utilizados na cana-de-açúcar a adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Bioscience Journal**, v. 29, n. 5, p. 1267-1274, 2013.

POLANCZYK, R. A.; PRATISSOLI, D.; DALVI, L. P.; GRECCO, E. D.; FRANCO, C. R. Efeito de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin e *Metarhiziumanisopliae* (Metsch.) Sorokin nos parâmetros biológicos de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner, 1983 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, n. 6, p. 1412-1416, 2010.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: user's guide**. 6th ed. Cary: SAS Institute, 2001. 502p.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.

Tabela 1. Efeito da pulverização de inseticidas sobre pupas de *Telenomus podisi* de acordo com a classificação da IOBC.

Tratamento g. i.a. ha ⁻¹	24h		72h		120h	
	E% ¹	Classe ²	E% ¹	Classe ²	E% ¹	Classe ²
T1 - clorantniliprole 10	8,295216	1	0	1	0	1
T2 - clorantniliprole 15	10,59871	1	0	1	0	1
T3 - clorantniliprole 20	5,155621	1	0	1	0	1
T4 - clorantniliprole 30	20,79214	1	0	1	0	1
T5 - clorantniliprole 50	31,42795	2	14,51158	1	0	1
T6 - Clorantniliprole 10 + lambdacialotrina 5°	14,15978	1	0	1	0	1
T7 - Clorantniliprole 20 + lambdacialotrina 10	13,88732	1	3,118745	1	0	1
T8 - Clorantniliprole 30 + lambdacialotrina 15	21,1467	1	5,873114	1	0	1
T10 - clorpirifós 960	63,54606	2	52,9672	2	76,27926	2

¹E (%) = $(1 - V_t/V_c) \times 100$, onde: E (%) é a porcentagem de redução no parasitismo ou emergência de parasitoides; ²Classes: 1 = inócuo (E < 30%), 2 = pouco nocivo (30 ≤ E ≤ 79%), 3 = moderadamente nocivo (80 ≤ E ≤ 99%), 4 = nocivo (E > 99%).

Tabela 2. Parâmetros biológicos de *Telenomus podisi* pulverizados com Premio® e Ampligo® na fase de pupa.

Tratamento (dose/150L - H ₂ O)	24 h após a emergência		72 h após a emergência		120 h após a emergência	
	¹ Viabilidade de pupas (%)	² Parasitismo (%)	¹ Viabilidade de pupas (%)	² Parasitismo (%)	¹ Viabilidade de pupas (%)	² Parasitismo (%)
T1 - clorantirnilprole 10	40,15 ± 4,21 ^{ns}	71,056 ± 2,39ab	60,04 ± 10,41 ^{ns}	66,31 ± 1,52ab	69,8 ± 3,79 ^{ns}	81,67 ± 3,20a
T2 - clorantirnilprole 15	39,95 ± 4,79	69,27 ± 3,43ab	63,73 ± 11,27	77,4 ± 3,06a	66,47 ± 1,97	78,45 ± 2,74a
T3 - clorantirnilprole 20	38,38 ± 3,40	73,488 ± 3,95a	68,52 ± 13,26	63,81 ± 2,76ab	64,36 ± 3,43	75,69 ± 5,56a
T4 - clorantirnilprole 30	51,75 ± 5,01	61,372 ± 4,18ab	47,96 ± 1,76	66,72 ± 4,71ab	72,63 ± 2,93	73,82 ± 1,92a
T5 - clorantirnilprole 50	47,87 ± 2,04	53,123 ± 4,65b	72,52 ± 16,05	52,93 ± 2,30b	64,64 ± 4,1	74,81 ± 4,15a
T6 - Clorantirnilprole 10 + lambdacialotrina 5 ¹	45,54 ± 4,16	66,512 ± 5,35ab	64,2 ± 9,69	69,4 ± 2,00ab	67,68 ± 4,03	81,66 ± 3,17a
T7 - Clorantirnilprole 20 + lambdacialotrina 10	45,7 ± 4,63	66,742 ± 1,83ab	67,4 ± 13,49	59,98 ± 5,20ab	73,31 ± 1,88	71,2 ± 3,39a
T8 - Clorantirnilprole 30 + lambdacialotrina 15	51,77 ± 2,47	61,098 ± 4,76ab	67,92 ± 13,96	58,28 ± 7,31ab	63,69 ± 2,1	82,68 ± 1,37a
T10 - clorpirifós 960	50,04 ± 3,51	77,484 ± 1,83a	66,91 ± 8,53	61,91 ± 6,12ab	71,06 ± 2,45	71,02 ± 3,48a
T1 - clorantirnilprole 10	55,44 ± 4,25	28,248 ± 3,69c	70,15 ± 11,44	29,12 ± 0,83c	73,23 ± 5,1	16,85 ± 7,11b
CV	18,86	13,48	38,99	15,46	10,49	12,36
Gl _{resíduo}	9	9	9	9	9	9
F	2,06	13,63	0,36	7,99	1,35	19,69
P	0,0583	<0,0001	0,945	<0,0001	0,2433	<0,0001

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ns Estatística F da ANOVA não significativa.

Análise de dados com medidas correlacionadas no tempo com a cultura da cana-de-açúcar

OLIVEIRA, J. R.¹; OLIVEIRA, M. C. N. de ².

¹Universidade Norte do Paraná, jooliveira02@hotmail.com; ²Embrapa Soja.

Introdução

A análise de medidas repetidas é aplicada nos casos em que os fatores ou tratamentos são avaliados em uma mesma unidade experimental. Entre estes fatores, estão as medidas realizadas em diferentes épocas, avaliação de raízes de plantas em diferentes profundidades do solo, diferentes dietas ministradas a animais em tempos distintos e, neste caso, o corte da cultura da cana-de-açúcar em tempos distintos.

Na análise de variância univariada, em que os tratamentos são aleatorizados, a estrutura da matriz de variâncias e covariâncias deve ser uniforme em parcelas subdivididas, assim supõe erros normalmente, identicamente e independentemente distribuídos. Neste caso, a estatística F tem distribuição exata para as parcelas e, nas subparcelas, a variável aleatória deve ser uniformemente correlacionada com variâncias homogêneas nos diferentes tempos de avaliações. No

caso em que estas medidas são tomadas ao longo do tempo, as mais próximas apresentam correlações maiores que as mais distantes.

A análise univariada de perfil é comumente usada na agricultura com o delineamento de blocos ao acaso com parcelas subdivididas, em que o tratamento nas parcelas tem distribuição aleatória e a avaliação do tempo não aleatorizado nas subparcelas. A ausência de independência na estrutura de covariância entre as medidas no tempo compromete a exatidão dos testes F para os efeitos do tempo e sua interação com os tratamentos. A solução para dados com estrutura de covariância correlacionada envolve o uso da análise multivariada de perfil. Neste método, várias hipóteses relacionadas aos perfis dos tratamentos, do tempo e a interação entre estes efeitos devem ser avaliados quanto ao seu paralelismo, coincidência, verticalidade, horizontalidade e a nulidade.

Para responder estas questões, este trabalho avaliou a maturação da cana-de-açúcar a Pol (%) de açúcar em resposta a várias cultivares de cana-de-açúcar, em diferentes tempos de corte.

Material e métodos

A pesquisa foi delineada em blocos ao acaso em parcelas subdivididas, sendo as parcelas as cultivares de cana-de-açúcar e as subparcelas os tempos de cortes (12, 24 e 36 meses) com quatro blocos. Inicialmente os dados foram analisados pelo método univariado e, confirmada a significância da interação entre tratamentos e tempo de corte, hipótese inadequada, utilizou-se o método multivariado por meio dos procedimentos Proc GLM e Proc Mixed pelo SAS para as duas situações.

O experimento foi conduzido por técnicos do CTC (Centro Tecnológico Copersucar) em Piracicaba, na Usina Barra Grande – Fazenda Retiro. A instalação do canavial foi em 07/02/1980, tendo sido realizados três cortes no tempo. O primeiro corte foi realizado aos 12 meses (09/07/1981), o segundo aos 24 meses (21/07/1982) e o último aos 36 meses 25/07/1983 (DEMÉTRIO, 1985). As 22 variedades de

cana-de-açúcar utilizadas foram: CB 45-155, CB 53-98, CP 51-22, IAC 48-65, IAC 51-205, IAC 52-150, IAC 53-37, NA 56-79, SP 70-1005, SP 70-1078, SP 70-1143, SP 70-1284, SP 70-1423, SP 70-3370, SP 71-1043, SP 71-1074, SP 71-1081, SP 71-1182, SP 71-1578, SP 71-3149, SP 71-4156, SP 71-6949. A parcela experimental correspondeu a cinco linhas de oito metros.

Anterior a estes procedimentos foram checados todas as pressuposições da Análise de Variância (ANOVA), avaliando a independência e normalidade dos erros, homogeneidade de variâncias dos tratamentos e não-aditividade do modelo. Os dados foram submetidos a diferentes métodos: 1- o exploratório, 2- o modelo linear geral (GLM) e 3- o modelo misto (MIXED) com o software científico SAS-R. Os testes aplicados para os métodos univariados foram: Shapiro & Wilk, não-aditividade do modelo, Burr & Foster, Tukey e coeficientes de assimetria e curtose. Para o método multivariado foram avaliados: teste de esfericidade, critério de informação de Akaike (AIC) e de Informação Bayesiana (BIC). Na seleção da melhor estrutura de matriz de covariâncias e correção dos graus de liberdade para os efeitos das subparcelas, utilizou-se o critério de Mauchly, sendo as estimativas dos parâmetros foram realizadas por REML.

Resultados e discussão

Na análise exploratória univariada (ANOVA), foi observado que os dados de pol (%) atenderam pré-requisitos da ANOVA (Tabela 1). Na ANOVA pelo GLM, os efeitos de cultivar, do tempo e da interação entre cultivar e tempo de corte foram significativas, com estatísticas F iguais a 9,56, 48,97 e 2,00, respectivamente. Os CVs (%) das parcelas e subparcelas ($CV(a) = 3,6\%$ e $CV(b) = 3,7\%$) indicaram pouca variabilidade no conjunto de dados (Tabela 2).

Comparando-se os métodos univariados e multivariados de perfil (Tabelas 2, 3 e 4), os resultados são semelhantes, ou seja, o fator cultivares de cana-de-açúcar (perfis médios são paralelos) indica que as distâncias médias destes tratamentos diferem e a hipótese não é rejeitada.

No tempo de corte de 12 meses, as cultivares SP701284 e SP703370 diferiram somente das cultivares SP711578, SP711043, BC5398 e SP701423. À medida que se realizavam novos cortes o pol (%) reduziu, da mesma forma para o tempo de três anos. Aos 24 meses, a SP701284 diferiu de oito cultivares e no último período (36 meses) diferiu de nove cultivares (Tabela 3), mas esta cultivar sempre ficou em primeiro lugar. As cultivares com menor teor de pol (%) nos três tempos de cortes foram a BC5398 e SP701423. Comparando dentro de cada cultivar, não houve resposta significativa nos três períodos para 10 cultivares: SP701284, SP714156, SP713149, SP701078, NA5679, SP703370, SP711081, SP701143, SP711578 e SP716949. No segundo grupo encontram-se as três cultivares que foram similares nos cortes de 24 e 36 meses diferenciando de 12 meses: IAC51205, IAC5337 e SP711182. Para as demais cultivares houve similaridade entre os dois primeiros tempos diferenciando de 36 meses (Tabela 3).

O efeito da interação significativa entre cultivares vs. tempos de cortes pode também ser confirmado pela Figura 1.

No caso dos tempos de cortes (perfis médios horizontais) e a interação das cultivares versus tempos de cortes (hipótese de perfis paralelos), a hipótese é aceita. Nas análises para medidas repetidas usando o PROC MIXED, os resultados para as estruturas da matriz de covariâncias, bem como a tendência dos preparos do solo nos diferentes períodos de cortes foram 'Simetria Composta', 'Sem Estrutura', 'Componentes de Variância', 'Autoregressiva', Huynh-Feldt, Toeplitz, Autoregressiva Heterogênea e Simetria Composta Heterogênea,

A condição de esfericidade não foi violada e a estatística do Critério de Mauchly foi 0,985 e o valor do χ^2 para este critério foi 0,91 com $p < 0,633$, não significativo. Assim, afirma-se que a matriz de covariância pode ser considerada uniforme no modelo univariado de perfil em parcelas subdivididas e não necessita corrigir os graus de liberdade para os efeitos de tempos de cortes das subparcelas.

Ainda na Tabela 5, foi selecionada a matriz de covariâncias pelo método 'NÃO ESTRUTURADO', com o maior valor de AIC. O critério de esfericidade não foi rejeitado então, conclui-se que a ANOVA univariada pode ser aceita, no entanto é necessário checar os valores das covariâncias (dados não apresentados neste trabalho).

Para esses dados, recomenda-se o método de medidas repetidas, o uso do PROC MIXED e as matrizes NÃO ESTRUTURADA (1^a. opção) e TOEPLITZ (2^a. opção), conforme Tabela 5. Considerando o maior valor do Critério Bayesiano ou Critério de Schwarz, as estruturas recomendadas são: SEM ESTRUTURA, SIMETRIA COMPOSTA HETEROGÊNEA, HUYNH-FELDT, AUTOREGRESSIVA HETEROGÊNEA.

Conclusão

Os procedimentos do SAS utilizados são importantes para avaliar dados correlacionados. O teste de esfericidade é suficiente e desejável para que se tenham resultados consistentes da ANOVA para dados com medidas repetidas no tempo com o delineamento em parcelas subdivididas. Houve convergência do método em todas as estruturas estudadas.

Referências

DEMETRIO, C.G.B. **Análise multidimensional para dados de cana-de-açúcar**. 1985. 143f. Tese (Doutorado em Agronomia), ESALQ, Piracicaba.

KHATTREE, R. NAIK, D.N. *Applied multivariate statistics with SAS Software*. 2nd edition. Cary: SAS, 1999. 338 p.

Tabela 1. Resultados de estatísticas descritivas para a variável Pol (%) da cana-de-açúcar. Londrina, PR.

Testes	¹ Estatísticas	Probabilidades
Coeficiente de Assimetria	0,113	
Coeficiente de Curtose	0,531	
CV = Coeficiente de Variação (%)	a = 3,644	b = 3,699
Shapiro-Wilk	W = 0,994	Pr < W 0,388
Não-aditividade de Tukey	F = 3,56	Pr (F) < 0,06
Burr-Foster	Q _{calc} = 0,031	Vlr Crítico de Q = 0,033

¹As estatísticas W, F e Q devem ser não significativas para obtenção de: distribuição normal e independência dos erros, aditividade do modelo e uniformidade de variâncias de tratamentos

Tabela 2. ANOVA usando o PROC GLM do SAS para avaliar o Pol (%) da cana em função de 22 cultivares de cana-de-açúcar e três tempos de cortes. Londrina, PR.

Causas da variação	G.L	S.Q.	Q.M.	Estatística F	Prob. > F
Bloco	03	0,5509678	0,1836559	0,70	0,5525
Cultivar (C)	21	104,8946716	4,9949844	9,56	<,0001
Resíduo (a)	63	15,9895572	0,2538025	0,97	0,5454
Tempo de Cortes (TC)	02	25,6246841	12,8123420	48,97	<,0001
C*TC	42	21,9409159	0,5224028	2,00	0,0016
Resíduo (b)	132	34,5352000	0,2616303		
Total	263	203,5352			

CV (a) = 3,6 % CV (b)

= 3,7 %

Tabela 3. Quadro da Interação entre Tempos de Cana-de-açúcar e Cultivares. Variável Resposta Pol de cana (%).

	12 MESES			24 MESES			36 MESES		
	Valor	Letras	Letras	Valor	Letras	Letras	Valor	Letras	Letras
SP701284	15,340*	a	A	14,850	a	A	14,920	a	A
SP714156	14,212	abcde	A	14,747	ab	A	14,615	ab	A
SP713149	14,322	abcd	A	13,967	abcde	A	14,425	abc	A
SP701078	14,985	ab	A	14,250	abcd	A	14,390	abcd	A
NA5679	14,180	abcde	A	14,380	abc	A	14,377	abcd	A
IAC4865	14,607	abc	A	13,730	abcde	B	14,330	abcd	AB
SP703370	15,057	a	A	14,292	abcd	A	14,300	abcd	A
SP711081	14,077	abcde	A	14,435	abc	A	13,822	abcde	A
SP701143	14,442	abcd	A	13,867	abcde	A	13,790	abcde	A
IAC52150	14,865	abc	A	14,192	abcd	AB	13,712	abcde	B
SP711578	13,742	bcde	A	13,342	cde	A	13,562	bcde	A
SP716949	14,100	abcde	A	13,935	abcde	A	13,485	bcde	A
IAC51205	14,320	abcd	A	13,385	cde	B	13,425	bcde	B
SP701005	14,265	abcd	A	13,967	abcde	AB	13,242	cdef	B
IAC5337	14,215	abcde	A	13,315	cde	B	13,175	cdefg	B
SP711074	14,117	abcde	A	13,307	cde	AB	13,102	defg	B
CB45155	14,252	abcd	A	13,450	bcde	AB	12,945	efg	B
SP711182	14,092	abcde	A	13,177	cde	B	12,752	efg	B
CP5122	14,237	abcd	A	13,657	abcde	A	12,742	efgh	B
BC5398	13,197	de	A	12,792	e	AB	12,097	fgh	B
SP711043	13,635	cde	A	12,842	e	A	11,897	gh	B
SP701423	12,915	e	A	13,012	de	A	11,435	h	B

*Médias seguidas de mesma letra minúsculas nas colunas, e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 5\%$)

Tabela 4. Respostas dos testes multivariados para os fatores intra-indivíduos (cultivares e cultivares*tempo de corte) – Pol (%) de cana-de-açúcar. Londrina, PR.

H = Matriz da soma de quadrados e produtos cruzados para o fator Tempos de cortes				
E = Matriz da soma de quadrados e produtos cruzados do resíduo - S = 1 M = 0 N = 30				
Modelos Estatísticos	Valor	F	GL Numerador	GL Denominador
Lambda de Wilks	0,3687	53,07	2	62
Traço de Pillai	0,6312	53,07	2	62
Traço de Hotelling-Lawley	1,7118	53,07	2	62
Roy	1,7118	53,07	2	62
H = Matriz da soma de quadrados e produtos cruzados para o fator Tempos de cortes				
E = Matriz da soma de quadrados e produtos cruzados do resíduo - S = 2 M = 9 N = 30				
Modelos Estatísticos	Valor	F	GL Numerador	GL Denominador
Lambda de Wilks	0,3634	1,94	42	124
Traço de Pillai	0,7809	1,92	42	126
Traço de Hotelling-Lawley	1,3336	1,97	42	108,9
Roy	0,9233	2,77	21	63

NOTA: Estatística F para o Teste de Roy o valor 13,63 é um limite superior e para estatística F para o teste de Wilks 'Lambda é exata para a interação Preparos e Profundidades

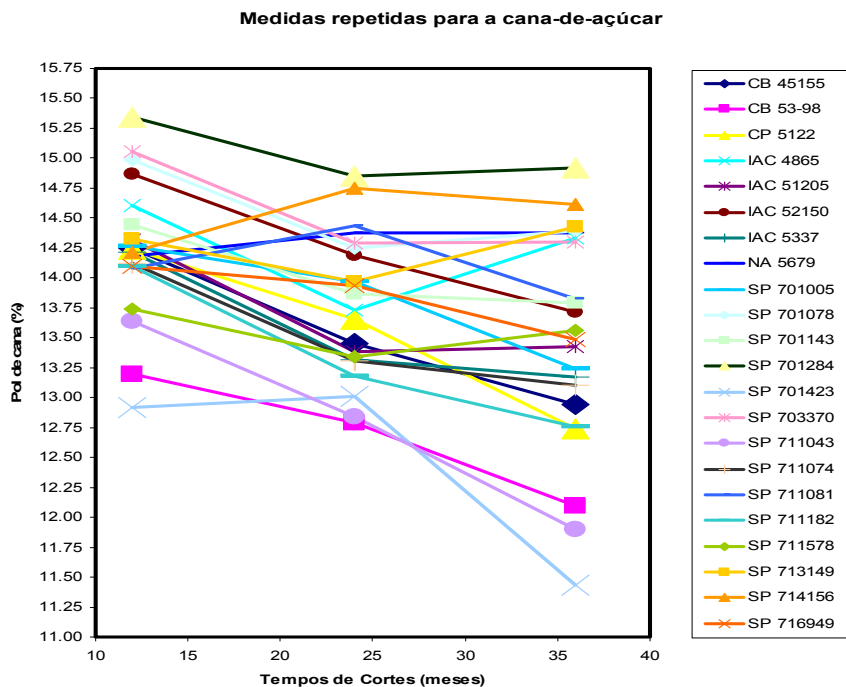


Figura 1. Valores médios da interação cultivares vs tempo de corte para a maturação da cana-de-açúcar Pol

Tabela 5. Matrizes de covariâncias do tipo Simetria Composta, Sem Estrutura, Componentes de Variância, Autoregressiva, usando o proc MIXED com os dados de Pol (%). Londrina, PR.

SIMETRIA COMPOSTA		SEM ESTRUTURA	
Descrição	Valor	Descrição	Valor
Observações	264,00	Observações	264,00
Critério de Inform. Akaike	396,70	Critério de Inform. Akaike	400,10
Critério de Inform. de Schwarz	401,60	Critério de Inform. de Schwarz	415,00
COMPONENTES DE VARIÂNCIA		AUTOREGRESSIVA	
Descrição	Valor	Descrição	Valor
Observações	264,00	Observações	48,00
Critério de Inform. Akaike	394,70	Critério de Inform. Akaike	396,30
Critério de Inform. de Schwarz	397,20	Critério de Inform. de Schwarz	401,20
HUYNH-FELDT		TOEPLITZ	
Descrição	Valor	Descrição	Valor
Observações	264,00	Observações	264,00
Critério de Inform. Akaike	396,90	Critério de Inform. Akaike	397,90
Critério de Inform. de Schwarz	406,80	Critério de Inform. de Schwarz	405,40
AUTOREGRESSIVA HETEROGÊNEA		SIMETRIA COMPOSTA HETEROGÊNEA	
Descrição	Valor	Descrição	Valor
Observações	264,00	Observações	264,00
Critério de Inform. Akaike	396,60	Critério de Inform. Akaike	397,00
Critério de Inform. de Schwarz	406,50	Critério de Inform. de Schwarz	406,90

Os repositórios como veículos de divulgação de informações técnicas e científicas agrárias

BENDER, L. A. P.¹; LIMA, A. B. A. de².

¹Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Pr; ²Embrapa Soja.

Visando demonstrar a relevância dos repositórios para divulgação de informações técnicas e científicas agrárias, apresentamos o presente relato, onde a base de dados é um importante suporte da informação.

Base de dados é um termo para indicar que informações de interesse de uma determinada área do conhecimento estão armazenadas para recuperação. Sendo assim temos as bases de dados bibliográficas, que armazenam informações publicadas em diferentes veículos, tais como periódicos, livros, folhetos e similares. Esses veículos podem estar no formato físico, eletrônico ou nos dois formatos simultaneamente.

As bases de dados bibliográficas podem ser gerenciadas por instituições públicas ou privadas. De acordo com a lista QUALIS-PERÍODICOS da CAPES, as principais base de dados relacionados a ciências agrárias são: CAB, BIOSIS, AGRIS, SCIELO, ISI e SCOPUS.

No século XXI a divulgação científica está em processo de reorganização, por meio das novas tecnologias de informação e de comunicação, como por exemplo, (OAI) Iniciativa de Arquivo Aberto e Movimento de Acesso Livre. Essas iniciativas permitem o acesso eletrônico à produção científica. A internet disponibiliza um novo ambiente para a essa produção e também uma nova estrutura de acesso à informação, promovendo a interação entre pesquisadores, favorecendo o compartilhamento de ideias, disseminação e uso da informação. Temos então os repositórios individuais, o pesquisador individualmente insere sua publicação nesses repositórios: <http://www.researchgate.net/>.

Segundo Eprints (2005, apud Weitzel, 2005, p. 8):

O auto-arquivamento é o depósito de um documento eletrônico em um website público e acessível, preferencialmente baseado no OAI. O auto-arquivamento se refere ao envio espontâneo do autor do seu texto, dados, metadados, som, imagem, etc, a um repositório digital.

E temos também os repositórios institucionais, como esses dois exemplos: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/> e <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/>

De acordo com Betetto (2008 apud VIANA, 2005, p. 3) “Um repositório digital é uma forma de armazenamento de objetos digitais que tem a capacidade de manter e gerenciar material por longos períodos de tempo e prover o acesso apropriado”.

Repositórios digitais são uma forma de armazenar coleções digitais, são construídos de diferentes formas de organização, possuem diferentes finalidades. Podem ser colaborativos como, por exemplo, a Wikipédia. Mas podem, também ser gerenciados pelas instituições provedoras. Alguns repositórios estão voltados a determinados usuários com as suas especificidades de necessidades informacionais, como no caso

dos estudantes. Na atualidade, os repositórios são utilizados como um ambiente de aprendizagem, auxiliando na disseminação da informação.

Os repositórios institucionais (RI) possuem uma diversidade de tipologias de conteúdos e formatos que podem ser armazenados nos RI, tais como: artigos científicos, livros eletrônicos, capítulos de livros, preprints, postprints, relatórios técnicos textos para discussão, teses. Dissertações, trabalhos apresentados em conferências, palestras, material de ensino (slides, transparência, texto resumo, resenhas, trabalhos apresentados, entre outros), arquivo de multimídia etc. Betetto (2008 apud LEITE e COSTA, 2005, p. 8).

O crescimento dos repositórios institucionais tem se consolidado nas universidades e instituições governamentais. Os repositórios institucionais permitem uma nova forma de comunicação científica e, dessa forma, constituem, nos dizeres de Crow (2002), “coleções digitais que capturam e preservam a produção intelectual da comunidade de uma única universidade ou de uma comunidade multiuniversitária”. De acordo com Crow (2002), os repositórios institucionais, vão, além de “expandir o acesso à pesquisa, reafirmar o controle sobre o saber, pela academia, e reduzir o monopólio dos periódicos científicos”. Os repositórios expandiram o acesso à pesquisa, como uma forma de reduzir a restrição de acesso aos periódicos científicos.

A Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) mantém a base de dados BDPA – Base de Dados da Pesquisa Agropecuária: <http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/consulta/>

Através da BDPA pode-se ter acesso à produção técnico-científica da Embrapa e ao acervo de todas as bibliotecas do SEB – Sistema Embrapa de Bibliotecas: <https://www.embrapa.br/seb>

A partir da BDPA temos os seguintes repositórios: Alice (Repositório Acesso Livre à Informação Científica da Embrapa) e Infoteca-e (Informação Tecnológica em Agricultura).

O Repositório Acesso Livre à Informação Científica da Embrapa (Alice) destina-se a reunir, organizar, armazenar, preservar e disseminar, na íntegra, informações científicas produzidas por pesquisadores da Embrapa e editadas em capítulos de livros, artigos em periódicos indexados, artigos em anais de congressos, teses e dissertações, notas técnicas, entre outros. Por usar tecnologias padronizadas adotadas também pela comunidade científica mundial, é interpretável com os demais sistemas de acesso aberto, e, por isso, integra uma rede global de informação científica. Assim, além de poder contribuir direta e automaticamente para o aumento do impacto dos resultados de pesquisa, contribuirá também para uma maior visibilidade da Embrapa e de seus pesquisadores. (www.alice.cnptia.embrapa.br/)

O serviço Informação Tecnológica em Agricultura (Infoteca-e) reúne e permite acesso a informações sobre tecnologias produzidas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), as quais se relacionam às áreas de atuação de seus demais centros de pesquisa. Suas coleções são formadas por conteúdos editados na própria instituição (em forma de cartilhas, livros para transferência de tecnologia, programas de rádio e de televisão), com linguagem adaptada de modo que produtores rurais, extensionistas, técnicos agrícolas, estudantes e professores de escolas rurais, cooperativas e outros segmentos da

produção agrícola possam assimilá-los com maior facilidade, e, assim, apropriarem-se de tecnologias geradas pela Embrapa. (www.infoteca.cnptia.embrapa.br/)

Os repositórios são fontes de informação para produtores agropecuários, pesquisadores, professores, extensionistas e a sociedade em geral. O Alice fornece Informações para fundamentação teórica, principalmente para pesquisadores, professores e estudantes e o Infoteca-e, informação para transferência de tecnologias, principalmente para extensionistas e produtores.

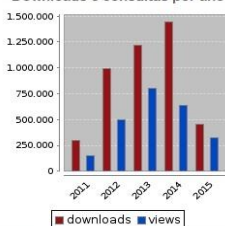
O Alice e o Infoteca-e podem oferecer diferentes tipos de relatórios, tais como: estatísticas de acesso e de downloads de publicações disponíveis.

Exemplos de relatórios Alice:

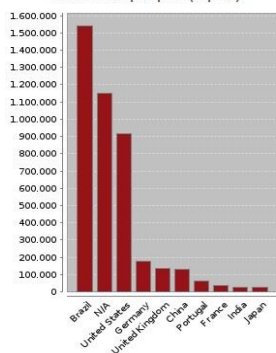
Downloads e consultas

Ano	Downloads	Consultas
2011	299.071,0	146.586
2012	991.790,5	497.579
2013	1.219.101,5	798.501
2014	1.445.741,9	632.744
2015	455.635,5	327.402
	4.411.340,5	2.402.812

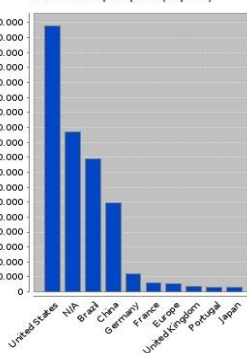
Downloads e consultas por ano



Downloads por país (top 10)



Consultas por país (top 10)

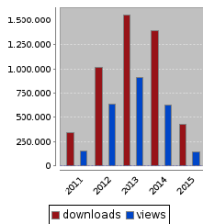


Exemplos de relatórios Infoteca:

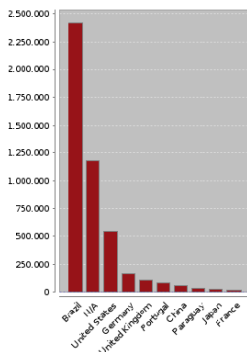
Downloads e consultas

Ano	Downloads	Consultas
2011	339.313,0	152.330
2012	1.015.600,6	640.924
2013	1.562.248,4	915.926
2014	1.395.431,8	636.324
2015	426.561,6	144.706
	4.739.155,5	2.490.210

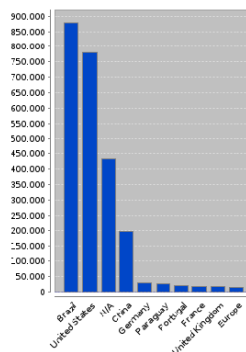
Downloads e consultas por ano



Downloads por país (top 10)



Consultas por país (top 10)



Com base na quantidade dinâmica de consultas e downloads por estudantes, pesquisadores, produtores rurais e extensionistas, o Alice e o Infoteca-e podem contribuir para alavancar, tanto o desenvolvimento de ensino e pesquisa, quanto a tecnificação da agropecuária com vistas ao aumento da produtividade.

REFERÊNCIAS

BETETTO M. J. **Estudo de adesão dos pesquisadores da Unidade Embrapa Soja a um repositório Institucional.** 2008. 79 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Biblioteconomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

CROW, R. **The Case for Institutional Repositories: A SPARC Position Paper.** Washington, C: Scholarly Publishing & Academic Resources Coalition, 2002. Disponível em: <<http://www.arl.org/sparc/IR/ir.html>> Acesso em maio 2015.

INFOTECA-E: INFORMAÇÃO TECNOLÓGICA EM AGRICULTURA.

Disponível em: < <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br> > . Acesso em: 15 abr. 2015.

REPOSITÓRIO ALICE: ACESSO LIVRE À INFORMAÇÃO CIENTÍFICA DA

EMBRAPA. Disponível em: < <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/> > .

Acesso em: 15 abr. 2015.

WEITZEL, S. da R. Iniciativa de arquivos abertos como nova forma de comunicação científica. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL LATINOAMERICANO DE PESQUISA EM COMUNICAÇÃO, 3., 2005, São Paulo. **Proceedings...** La Paz : Asociación Latinoamericana de Investigaciones de la Comunicación ALAIC, 2005. p. 1-15.

WEITZEL, S. da R. O papel dos repositórios Institucionais e temáticos na estrutura da produção científica. **Em Questão**, Porto Alegre, v. 12, n. 1, p. 51-71, jan./jun. 2006.

Isolamento e quantificação de microesclerócios de *Macrophomina phaseolina* e análise da atividade microbiana no solo em diferentes sistemas de manejo

DIAS, L. A. F¹; BRIZOLA, D. C¹; SILVA, J. A¹; OLIVEIRA, M. C. N²; JUNIOR, A. O²; ALMEIDA, A. M. R².,

¹ Universidade Norte do Paraná, ²Embrapa Soja, Londrina, Paraná, e-mail: alvaro.almeida@embrapa.br

Introdução

A podridão de carvão das raízes, causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* Tassi (1901), é capaz de infectar centenas de espécies vegetais como, milho, sorgo, amendoim, algodão e girassol, sendo comum em áreas cultivadas com soja (*Glycine Max L.*). Estudos realizados pela Embrapa Soja, mostram que este fungo é natural dos solos de mata nativa. Normalmente, aparece em reboleiras, de diversos tamanhos (ALMEIDA et al.,2001). Nos tecidos infectados são produzidos microesclerócios em grande quantidade, os quais são estruturas de resistência do fungo. São facilmente encontrados sob a epiderme das raízes ou na camada externa do córtex e na região do colo. Com a decomposição dos tecidos, os microesclerócios são liberados no solo, entrando em contato com as raízes das plantas,

germinando e infectando essas raízes. Nem todos germinam na mesma época podendo infectar as plantas em vários estádios diferentes. A incidência e a severidade de *M. phaseolina*, normalmente, tem sido associado à déficit hídrico e temperatura do solo. Baixo potencial hídrico e altas temperaturas aumentam a suscetibilidade das plantas. Os sintomas variam de acordo com a idade da planta. Durante a emergência, causam lesões de coloração marrom-escuro na região do colo. As folhas tornam-se murchas permanecendo aderidas ao longo das hastes (principal característica), tornando-se secas e de coloração marrom-escuro. As raízes apresentam a epiderme que se solta facilmente, deixando à mostra pontuações negras, que são os microesclerócios. O sistema de rotação de culturas é uma medida inviável para o controle dessa doença, por ela ter centenas de plantas hospedeiras (SHORT et al., 1980).

Considerou-se que um solo, cuja atividade microbiana fosse alta, tivesse efeito na redução da podridão de carvão. Fungos, bactérias e actinobactérias atuam no processo de decomposição da matéria orgânica do solo e na liberação de nutrientes lábeis para os colóides do solo. Assim, a avaliação da atividade microbiana tem sido proposta como um indicador sensível do aumento ou diminuição do teor e da qualidade da matéria orgânica do solo, e no monitoramento de alterações ambientais decorrentes do uso agrícola, como o sistema de semeadura convencional. Diferentes métodos podem ser usados para medição da atividade microbiana. Um método simples e rápido é o descrito por ADAM e DUNCAN, (2001) que mede a atividade microbiana do solo pela hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA). Segundo COSTA et al. (2000), o FDA é hidrolisado por várias enzimas (lípsases, proteases e esterases), presentes nos microrganismos e vem sendo usado para avaliar a atividade microbiana do solo.

Este trabalho teve como objetivo quantificar microesclerócios (colônias) de *M. phaseolina* e determinar a atividade microbiana de amostras de solo coletadas durante o verão em diferentes sistemas de manejo.

Material e métodos

As amostras foram coletadas na Fazenda Experimental da Coamo, Campo Mourão/PR, em 8 tratamentos diferentes. As práticas de manejo químico e biológico adotado (adubação, calagem e inoculação com *Bradyrhizobium*) foram as mesmas para todas as áreas. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com três repetições. As análises de variâncias foram realizadas atendendo aos testes de normalidade e independência dos erros, homogeneidade de variâncias e não-aditividade do modelo.

Os tratamentos consistiram em sistema de semeadura convencional (SSC), além de sistema plantio direto (SPD), tabela 1.

As coletas foram realizadas por meio de trado, retirando-se o solo com auxílio de uma espátula na profundidade de 0-10 cm. As amostras foram homogeneizadas, obtendo-se amostras compostas acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificadas, que foram armazenadas em câmara fria e iniciando-se a avaliação no dia seguinte. A determinação da umidade das amostras foi efetuada pelo método de gravimetria, secando em estufa 10 g de solo de cada amostra a 104°C por 24h. Para o peneiramento das amostras foi utilizado malha de abertura 2,0 mm. Antes deste processo, as amostras foram expostas ao ar, em temperatura ambiente, por uma hora.

O meio de cultura utilizado para *M. phaseolina* foi BDA com adição de 0,01% de rosa de bengala e posteriormente esterilizado. Foram pesadas 5 g de solo por amostra, em backers, devidamente etiquetados. Procedeu-se à lavagem das amostras de solo com solução 0,6% de hipoclorito de sódio por 5 minutos. Após isso o resíduo foi peneirado em peneiras de 297 μm , coletando-se micropartículas do solo que ficavam retidos na peneira de 45 μm , devolvendo-se ao backer utilizando uma piseta com água destilada e completando com 20 mL.

Os meios retirados da autoclave foram mantidos em banho-maria a 60°C. Foi adicionado 1,28 mL de estreptomicina/cloroneb a 1% e a

mistura de 5 g solo em 20 mL de água destilada, totalizando 100 mL. Estes foram homogeneizados e distribuindo posteriormente em 5 placas a cada 100 mL de meio.

Estas placas foram incubadas por 10 dias à temperatura de 28°C fazendo-se a avaliação do número de colônias. A quantificação dos resultados considerou a contagem de 15 placas por amostra.

A atividade microbiana foi determinada pelo método de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) descrito por SCHUNER e ROSSWALL et al. (1982) e adaptado por COSTA et al. (2000). A solução stock FDA foi incubada (banho-maria) a 100°C por 1 hora, e resfriado até o início das análises.

Para análise, foram colocadas 5 g de solo de cada amostra, em erlenmeyers com capacidade de 250 mL, nos quais foram adicionados 20 mL de solução tampão fosfato de potássio e 200 μ L de solução stock de FDA (0,2%), sendo transferidos para o agitador orbital por 20 minutos a 160 rpm. Após esse processo, foi adicionado 20 mL de acetona por amostra para paralisar a reação de hidrólise. A suspensão foi filtrada em filtro Watman 1 durante 10 minutos e, em seguida, realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (modelo Gênese 10uv), no comprimento de onda de 490 nm, para a determinação da quantidade de fluoresceína hidrolisada.

Foi elaborada uma curva padrão nas concentrações de 0, 100, 200, 300 e 400 μ g de FDA já hidrolisado. Neste processo 5 g de solo de cada amostra foi colocado em erlenmeyer, no qual foi adicionado 15 mL de solução tampão fosfato de potássio e 5 mL de cada curva padrão, de acordo com cada concentração. Após isso, cada erlenmeyer foi transferido para o agitador orbital por 20 minutos a 160rpm. Foi adicionado 20 mL de acetona por amostra e realizada a filtragem durante 10 minutos. A leitura da absorbância em espectrofotômetro foi feita imediatamente após a filtragem para evitar a evaporação da acetona, no comprimento de onda de 490 nm.

Resultados e discussão

As avaliações de atividade microbiana, utilizando FDA, devem sempre considerar o histórico das sequências das culturas em rotação (milho e soja) e sucessão (trigo, aveia, tremoço, nabo forrageiro, ervilhaca forrageira), tabela 2. De igual forma, a contagem de colônias da *M. phaseolina*, tabela 3.

A atividade microbiana, medida por hidrólise de diacetato de fluoresceína - FDA, foi significativamente igual aos tratamentos T3, T4, T6 e T8. A pior atividade foi medida no tratamento convencional com soja no verão e trigo no inverno. Os demais tratamentos apresentaram valores intermediários.

Com relação à concentração de propágulos de *M. phaseolina*, o tratamento com menor contagem de propágulos, foi o tratamento convencional soja-aveia, utilizado por 10 anos nessa sequência. O tratamento com maior contagem de propágulos, foi o tratamento 3. Devido ao alto coeficiente de variação, 50%, estima-se que um fungo polífago e com distribuição irregular no solo, tenha sua avaliação afetada pela amostragem.

Conclusão

As avaliações, embora anuais, devem sempre considerar o histórico das sequências das culturas da área de cultivo;

As maiores atividades microbiana, com o uso do FDA, ocorreram nos tratamentos T3, T4, T6 e T8;

Tanto os tratamentos que mostraram os melhores índices atividade microbiana e os tratamentos com a menor atividade, não apresentaram efeito deletério sobre a concentração de microesclerócios de *M. phaseolina*.

Referências

ADAM, G.; DUNCAN, H. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 943-951, 2001.

ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N. de; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; COSTA, J. M. da; GAUDÊNCIO, C. de A. **Macrophomina phaseolina em soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 55 p. (Embrapa Soja. Documentos, 346).

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2011. v.1, 704 p.

COSTA, J. L. da S.; MENGE, J. A.; CASALE, W. L. Biological control of Phytophthora root rot of avocado with microorganisms grown in organic mulches. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 31, n. 4, p. 239-246, 2000.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Método de hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA) como indicador de atividade microbiana no solo e supressividade a *Rhizoctonia solani*. **Summa Phytopathologica**, v.24, n.3/4, p.239-242, 1998.

GODOI, L. C. L. **Propriedades microbiológicas de solos em áreas degradadas e recuperadas na região dos cerrados goianos**. 2001. 87f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

HUNGRIA, M.; ANDRADE, D. de S.; COLOZZI FILHO, A.; BALOTA, E. L.; SANTOS, J.C.F. dos Ecologia microbiana em solos sob cultivos na Região Sul do Brasil. In: SIMPOSIO BRASILEIRO SOBRE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 3.; REUNIAO DE LABORATORIOS PARA RECOMENDACAO DE ESTIRPES DE RHIZOBIUM E BRADYRHIZOBIUM, 6., 1994, Londrina. **Microbiologia do solo: desafios para o seculo XXI - anais**. Londrina: IAPAR/EMBRAPA-CNPSO, 1995. p.234-270.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Ceres, 2005. v.2, 663 p.

SHUNER, J.; ROSSWALL, T. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. **Applied and Environmental Microbiology**. v.43, p.1256-1261, 1982.

SILVA, M.; SIQUEIRA, E. R.; COSTA, J. L. S. Hidrólise de diacetato de fluoresceína como bioindicador da atividade microbiana de um solo submetido a reflorestamento. **Ciência Rural**, v. 34, n. 5, p. 1493-1496, 2004.

Tabela 1. Relação dos diferentes tipos de rotação/sucessão, referentes a 4 anos de rotação. Fazenda Experimental da Coamo, Campo Mourão, 2015.

Tratamentos	Anos			
	2011 Verão/Inverno	2012 Verão/Inverno	2013 Verão/Inverno	2014 Verão/Inverno
T3	SOJA/MILHO-S	SOJA/TRIGO	MILHO/AVEIA	SOJA/MILHO-S-M
T4	SOJA/TRIGO	SOJA/TRIGO	MILHO/TREMOÇO	SOJA/AVEIA
T6	SOJA/TRIGO	SOJA/TRIGO	MILHO/ERVILHACA	SOJA/TRIGO
T8	SOJA/MILHO-S	SOJA/TRIGO	MILHO/ERVILHACA-F	MILHO/TREMOÇO
T9	SOJA/TRIGO	SOJA/MILHO-S	MILHO/AVEIA + NABO	SOJA/MILHO-S
T11	SOJA/TRIGO	SOJA/TRIGO	SOJA/TRIGO	SOJA/TRIGO
Conv-Trigo	SOJA/TRIGO	SOJA/TRIGO	SOJA/TRIGO	SOJA/TRIGO
Conv-Aveia	SOJA/AVEIA	SOJA/AVEIA	SOJA/AVEIA	SOJA/AVEIA

A descrições abreviadas acima são: S = safrinha, M = milho e F = forrageira.

Tabela 2. Efeito dos sistemas de rotação/sucessão de culturas, em semeadura direta e convencional, em relação a atividade microbiana utilizando método de hidrólise de diacetato de fluoresceína. Fazenda Experimental da Coamo; Campo Mourão, 2015.

Tratamentos	Atividade Microbiana (μg FDA hidrolisado/g solo seco/min)
T-4	4,99 a
T-6	4,76 a
T-8	4,76 a
T-3	4,53 a b
T-11	4,23 b c
T-9	4,05 b c
Conv-Aveia	3,95 b c
Conv-Trigo	3,31 c

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

Tabela 3. Efeito dos sistemas de rotação/sucessão de culturas, em semeadura direta e convencional, na concentração de microescleródios de *Macrophomina phaseolina*. Fazenda Experimental da Coamo; Campo Mourão, 2015.

Tratamentos	<i>Macrophomina phaseolina</i> (microescleródios/g solo seco)
T-3	23,42 a
T-4	18,81 a b
T-6	12,29 a b
T-8	18,96 a b
T-9	13,27 a b
T-11	10,02 a b
Conv-Trigo	17,31 a b
Conv-Aveia	6,39 b

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

Efeito da aplicação de glifosato e zinco na avaliação de extratores em solo cultivado com soja

Pereira L. E.²; Moreira, A.²; Moraes, L. A. C.²

¹Unifil, Londrina, Paraná; ²Embrapa Soja, Londrina, PR

Introdução

A utilização da soja (*Glycine max* (L.) Merrill) geneticamente modificada, resistente ao herbicida glifosato [(N-fosfometil-glicina)] por 85% dos produtores no Brasil acarretou em aumento considerável na utilização deste herbicida ou combinado com outros produtos, principalmente em pós-emergência com três a quatro aplicações durante o ciclo da cultura (Ikeda, 2013).

O glifosato é o herbicida não-seletivo de ação sistêmica mais utilizado no mundo, recomendado tanto para o controle de plantas anuais quanto perenes. O seu mecanismo de ação é baseado na inativação da enzima 5-enolpiruvil-chiquimato-3-fosfato sintase – EPSPS, evitando a síntese dos aminoácidos (AAs) de cadeia aromática (triptofano, tirosina, fenilalanina e histidina) e efeitos adversos no metabolismo do carbono (C) fotossintético e translocação da sacarose dentro das plantas (Cakmak et al., 2009). A soja resistente ao glifosato

foi desenvolvida com a inserção de um transgene (cp4) oriundo do *Agrobacterium* sp., que codifica uma versão insensível ao EPSPS. Mesmo com esse processo, existem relatos que a aplicação do herbicida pode interferir na absorção de nutrientes (Cakmak et al., 2009). Nos AAs de cadeia aromática, como o triptofano, onde o zinco (Zn) atua, o mesmo é precursor do ácido indolilacético (AIA), hormônio vegetal necessário para expansão celular, manutenção da dominância apical, entre outros processos fisiológicos (Marschner, 1995).

O Zn juntamente com o B, são os micronutrientes que mais afetam a produção na região dos trópicos. Na planta, o Zn é absorvido, preferencialmente, como cátion bivalente, e atua como constituinte ou ativador de várias enzimas, estando diretamente envolvido no metabolismo do nitrogênio (N), fotossíntese, respiração, síntese de aminoácidos, proteínas e controle hormonal. A carência de Zn causa diminuição do florescimento e frutificação, redução da elongação das células, acarretando em internódios curtos e redução no desenvolvimento do sistema radicular (Marschner, 1995). O objetivo deste trabalho foi verificar os efeitos da interação glifosato e Zn na fertilidade de dois tipos de solo cultivado com soja transgênia e outra convencional em duas condições edafoclimáticas.

Material e métodos

Os experimentos foram realizados em Ponta Grossa, Estado do Paraná (25°05'42" LS e 50°10'43" LW) sobre um Latossolo Vermelho Amarelo distrófico e Três Lagoas em Neossolo Quartzarênico, em parcelas de 4 m × 8 m dispostos em delineamento experimental de blocos casualizados em esquema fatorial 3 × 5, com quatro repetições. Os tratamentos consistiram de cinco doses de Zn (0, 3, 6, 9 e 12 kg/ha – fonte: ZnSO₄ × 7H₂O) e duas cultivares parentais (BRS 133 e a essencialmente derivada BRS 245RR), sendo que a última foi dividida em duas, formando, neste caso, três tratamentos: BRS 133, BRS 245RR com glifosato (+ Gly) e BRS 245RR sem glifosato (-Gly).

Em área total, foi incorporado a 0-20 cm de profundidade o calcário para elevar a saturação por bases a 60%. Exceto o N e Zn, os micronutrientes

(B, Cu, Fe e Mn) e as doses de Zn correspondente aos tratamentos foram misturados com gesso e incorporados com enxada rotativa. As sementes foram inoculadas com *Bradyrhizobium elkanii*. No estágio V4, metade das plantas com tratamento BRS 245RR receberam aplicação de glifosato na dose de 1,5 L/ha/aplicação, aplicado com pulverizador costal, a pressão constante, mantida por CO₂ comprimido de 276 kPa, com volume de pulverização equivalente a 150 L/ha. Após aplicação do herbicida as plantas foram fotografadas para acompanhamento dos sintomas visuais de deficiência ou fitotoxicidade. Foram retiradas amostras de solo na profundidade de 0-20 cm em cada tratamento, as quais foram secas ao ar e passadas em peneiras de 2,0 mm para quantificação dos atributos químicos do solo e avaliação dos extratores Mehlich 1 (Mehlich, 1978) e DTPA-TEA, pH 7,3 (Lindsay e Norvell, 1975) para determinação do Zn disponível.

De acordo com o delineamento proposto, foi realizado o teste de normalidade para as variáveis analisadas e a homogeneidade de variâncias, e posteriormente submetidas à análise de variância (ANOVA - teste F) e correlações foram feitas entre as doses de Zn com os teores disponíveis de Zn extraídos com as soluções extratoras DTPA-TEA e Mehlich 1.

Resultados e discussão

As cultivares NGM (BRS 133) e GM (BRS 245RR) sem (-Gly) e com (+ (Gly) aplicação do glifosato não apresentaram interação cultivares × doses de Zn sobre os teores dos nutrientes no solo. Dentro das doses de Zn, somente os teores de P e Zn foram significativamente influenciados. O P disponível nos tratamento -Gly na cultivar GM cultivada no Neossolo Quartzarênico distrófico e na NGM e GM (-Gly) no Latossolo Vermelho foram afetados pelas doses de Zn ($\hat{y} = 15,352 + 0,441x$, $R^2 = 0,94$, $\hat{y} = 1,666 + 0,357x$, $R^2 = 0,80$ e $\hat{y} = 2,008 + 0,269x$, $R^2 = 0,76$, $P \leq 0,05$). Tais resultados demonstram os efeitos de interação negativa do Zn × P descritos Moreira e Malavolta (2001), no entanto, a aplicação do herbicida minimizou este efeito independentemente do tipo de solo. O índice pH e os teores de P, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, S-SO₄²⁻, B, Cu, Fe, Mn e Zn no Neossolo Quartzarênico situaram-se dentro ou próximos dos níveis de interpretação de

suficiência, enquanto no Latossolo Vermelho Amarelo, somente os teores de P disponível ficaram abaixo dos adequados para o cultivo da soja nas condições de clima e solo dos trópicos.

Os extratores Mehlich 1 (M1) e DTPA-TEA apresentaram alto coeficiente de correlação na determinação do Zn disponível, independentemente do tipo de solo e aplicação ou não de glifosato (Figura 1). O extrator M1 apresentou, na média, maior taxa de recuperação de Zn que o DTPA-TEA (superior a 63,9%). Este resultado também corrobora Moreira et al. (2015), que ao compararem estes dois extratores, observaram que a maior capacidade de extração da solução de M1 se deve à acidez elevada do meio ($0,0625 \text{ mol H}^+ \text{ L}^{-1}$), solubilizando formas oclusas de Zn no solo indisponíveis para as plantas, enquanto a solução de DTPA-TEA, por apresentar reação alcalina ($\text{pH} = 7,3$), não solubilizou.

As correlações entre o teor foliar de Zn e o teor disponível no solo com os extratores M1 e DTPA-TEA foram semelhantes aos observados por Moreira et al. (2015), com correlação significativa, o mesmo foi observado com os teores de Zn no tecido foliar, no entanto, a solução extratora DTPA-TEA, apresentou os maiores coeficientes de correlação ($r = 0,78, 0,81 \text{ e } 0,78, P \leq 0,05$), nos dois tipos de solo e diferentes cultivares e manejo adotado.

Os dois extratores tiveram relações lineares semelhantes, com significância positiva com as doses aplicadas, sendo as seguintes equações para as cultivares BRS 133, BRS 245RR (-Gly), BRS 245RR (+ Gly) e a média dos três tipos de manejo nas duas localidades. x = dose de Zn em kg/ha e \hat{y} = estimativa do teor no solo em mg dm^{-3} :

a) Três Lagoas, MS - Neossolo Quartzarênico

Extrator Mehlich 1

BRS 133 – $\hat{y} = 0,529 + 0,201 * x, R^2 = 0,40, P \leq 0,05;$

BRS 245RR (-Gly) – $\hat{y} = 0,389 + 0,195 * x, R^2 = 0,48, P \leq 0,05;$

BRS 245RR (+ Gly) – $\hat{y} = 0,555 + 0,151 * x, R^2 = 0,66, P \leq 0,05;$

Total – $\hat{y} = 0,491 + 0,182 * x, R^2 = 0,41, P \leq 0,05.$

Extrator DTPA-TEA, pH 7,3

BRS 133 – $\hat{y} = 0,488 + 0,115 \cdot x$, $R^2 = 0,44$, $P \leq 0,05$;

BRS 245RR (-Gly) – $\hat{y} = 0,416 + 0,126 \cdot x$, $R^2 = 0,50$, $P \leq 0,05$;

BRS 245RR (+Gly) – $\hat{y} = 0,561 + 0,092 \cdot x$, $R^2 = 0,57$, $P \leq 0,05$;

Total – $\hat{y} = 0,489 + 0,111 \cdot x$, $R^2 = 0,48$, $P \leq 0,05$.

b) Ponta Grossa, PR - Latossolo Vermelho Amarelo

Extrator Mehlich 1

BRS 133 – $\hat{y} = 0,515 + 0,263 \cdot x$, $R^2 = 0,58$, $P \leq 0,05$;

BRS 245RR (-Gly) – $\hat{y} = 0,919 + 0,185 \cdot x$, $R^2 = 0,40$, $P \leq 0,05$;

BRS 245RR (+Gly) – $\hat{y} = 1,019 + 0,123 \cdot x$, $R^2 = 0,55$, $P \leq 0,05$;

Total – $\hat{y} = 0,817 + 0,190 \cdot x$, $R^2 = 0,44$, $P \leq 0,05$.

Extrator DTPA-TEA, pH 7,3

BRS 133 – $\hat{y} = 0,361 + 0,125 \cdot x$, $R^2 = 0,51$, $P \leq 0,05$;

BRS 245RR (-Gly) – $\hat{y} = 0,386 + 0,103 \cdot x$, $R^2 = 0,40$, $P \leq 0,05$;

BRS 245RR (+Gly) – $\hat{y} = 0,403 + 0,082 \cdot x$, $R^2 = 0,70$, $P \leq 0,05$;

Total – $\hat{y} = 0,383 + 0,104 \cdot x$, $R^2 = 0,47$, $P \leq 0,05$.

Os valores nas duas condições edafoclimáticas indicam que os dois extratores (Mehlich 1 e DTPA-TEA) forneceram informações semelhantes na avaliação do nível de Zn disponível no solo. Deve-se levar em consideração que na escolha do método, o extrator M1, mesmo com coeficientes inferiores ao DTPA-TEA, além de extrair o Zn disponível, também pode ser utilizado para determinação de P, K, Ca, Mg, Cu, Fe e Mn no mesmo extrato.

Conclusão

Os extratores Mehlich 1 e DTPA-TEA foram eficientes na determinação do Zn disponível. Exceto o P e Zn disponível, os atributos químicos do solo não foram influenciados pelos tratamentos.

Referências

CAKMAK, I.; YAZICI, A.; TUTUS, Y.; OZTURK, L. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. **European Journal of Agronomy**, v.31, p.114–119. 2009.

IKEDA, F. S. Resistência de plantas daninhas em soja resistente ao glifosato. **Informe Agropecuário**, v. 34, p.1-8, 2013.

LINDSAY, W. L.; NORVELL, W. A. Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese and copper. **Soil Science Society of America Journal**, v.42, p.421–428, 1978.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889p.

MEHLICH, A. New extractant for soil test evaluation of phosphorus, potassium, magnesium, calcium, sodium, manganese and zinc. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.9, p.477–492, 1978.

MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. Sources, rates and extractants of phosphorus on alfalfa and centrosema. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.1519-1527, 2001.

MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.; FAGERIA, N. K. Zinc and amino-acids on the yield and nutritional state of alfalfa grown in the tropical soil. **Journal of Plant Nutrition**, v.38, p.780–794, 2015.

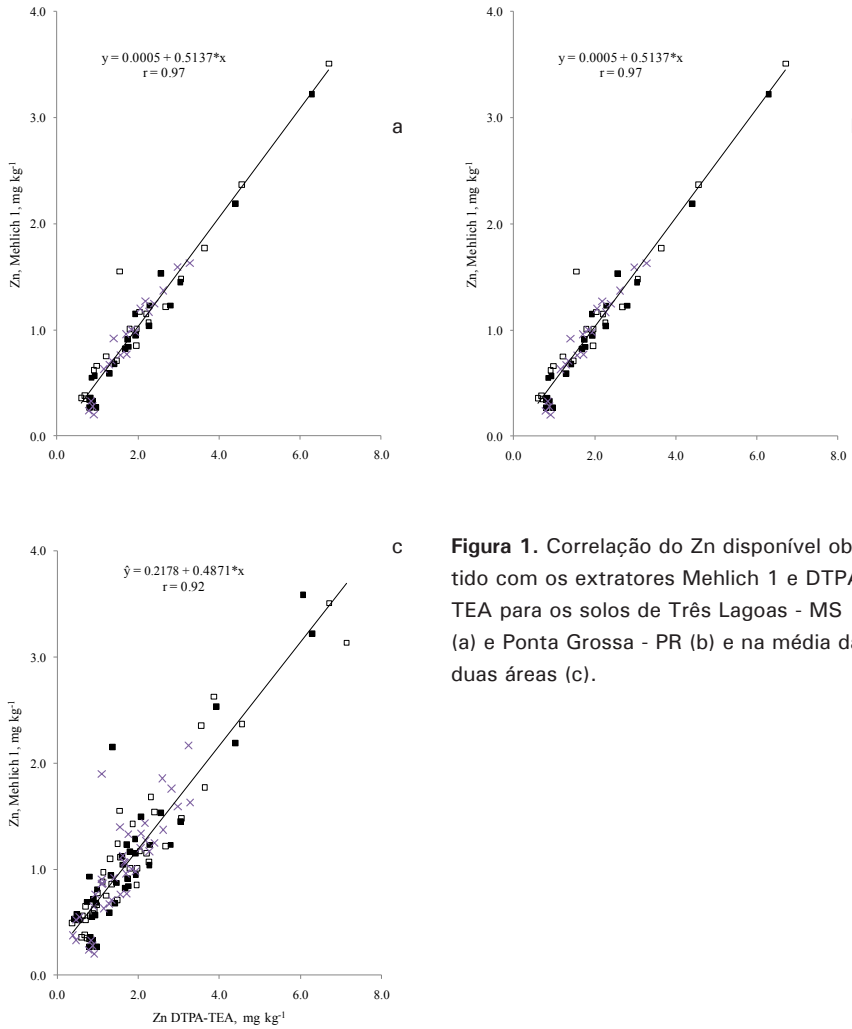


Figura 1. Correlação do Zn disponível obtido com os extratores Mehlich 1 e DTPA-TEA para os solos de Três Lagoas - MS (a) e Ponta Grossa - PR (b) e na média das duas áreas (c).

Avaliação de genótipos de girassol para resistência a *Sclerotinia sclerotiorum* em folhas destacadas

Luis Guilherme Semenghini Bernardelli¹; Maria Cristina N. de Oliveira²; Regina M. V. B. C. Leite²

¹Curso de Agronomia, UNOPAR, Londrina, PR; ²Embrapa Soja, Londrina, PR. e-mail: regina.leite@embrapa.br

Introdução

No Brasil, as lavouras de girassol semeadas imediatamente após a colheita da safra de verão, nos meses de fevereiro a maio, ou seja, na “safrinha”, podem ficar expostas às condições de umidade e temperatura favoráveis ao desenvolvimento da podridão branca de capítulo e haste, também conhecida como mofo branco, causada por *Sclerotinia sclerotiorum* (LEITE et al., 2000).

No mundo, esse fungo é considerado o patógeno mais importante para o girassol e está distribuído em todas as regiões produtoras. A podridão branca pode causar a queda de aquênios ou do capítulo, resultando em perda total da produção. Além desses prejuízos, o fungo persiste durante muitos anos no solo, na forma de estruturas

de resistência denominadas escleródios, tornando-se um problema permanente para o girassol e para outras espécies suscetíveis cultivadas na mesma área (ZIMMER; HOES, 1978; MASIREVIC; GULYA, 1992).

Sclerotinia sclerotiorum pode causar sintomas nos diferentes órgãos da planta de girassol. Na base da haste, o primeiro sintoma observado é uma murcha súbita da planta sem lesões foliares. A lesão é marrom-clara, mole e encharcada, podendo ser recoberta com o micélio branco. Muitos escleródios são encontrados dentro da porção colonizada na haste. Os sintomas da podridão do capítulo caracterizam-se por lesões pardas e encharcadas no lado dorsal do capítulo, com micélio branco cobrindo porções dos tecidos. Um grande número de escleródios é encontrado no interior do capítulo. No final, ocorre a completa desintegração do capítulo, com os elementos vasculares fibrosos expostos, assemelhando-se a uma vassoura. Massas de aquênios e escleródios caem na base da planta (ZIMMER; HOES, 1978; MASIREVIC; GULYA, 1992).

O controle da podridão branca é dificultado por causa da permanência de escleródios viáveis por um longo tempo no solo, do fato de que os ascosporos que produzem a infecção aérea podem ser provenientes de escleródios existentes a longas distâncias, da falta de controle químico eficaz e da alta suscetibilidade dos genótipos de girassol cultivados (GULYA et al., 1997). A resistência genética à podridão basal e à podridão do capítulo tem sido estudada em condições de campo em vários países, inclusive no Brasil (LEITE, 2005; LEITE et al., 2007; LEITE et al., 2011; LEITE; OLIVEIRA, 2013).

As observações em condições de campo podem ser inconsistentes em razão da não uniformidade da ocorrência da doença no campo e das diferenças na maturidade das cultivares ou arquitetura da planta, que podem influenciar o processo de infecção (BRADLEY; DEL RIO, 2004). Vários métodos de inoculação em condições ambientais

controladas têm sido avaliados para essa finalidade. A técnica de inoculação em folhas destacadas para avaliar a reação de cultivares a *S. sclerotiorum* tem sido utilizada em colza (BAILEY, 1987), canola (BRADLEY; DEL RIO, 2004) e soja (GARCIA; JULIATTI, 2012). Em girassol, a técnica já foi utilizada para avaliação de ferrugem causada por *Puccinia helianthi* (HENNESSY; SACKSTON, 1970).

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a reação de genótipos de girassol para resistência a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas.

Material e métodos

Os experimentos de inoculação de folhas destacadas de girassol foram conduzidos no laboratório e casa de vegetação da Área de Fitopatologia da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Plantas de 18 genótipos de girassol, constituídos por cultivares comerciais utilizadas no Brasil ou por materiais em fase final de avaliação do potencial produtivo em ensaios de Valor de Cultivo e Uso, foram cultivadas em casa de vegetação, com temperatura e irrigação controladas. Para cada genótipo, foram utilizados três vasos, onde foram semeadas 10 sementes. No estágio fenológico V2, foi feito o desbaste, deixando quatro plantas por vaso. Quando as plantas atingiram o estágio V4, foi feita a coleta das folhas destacadas, para inoculação em laboratório.

Escleródios do fungo foram coletados de um campo de girassol infectado localizado em Mauá da Serra-PR e cultivado em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) para obtenção de isolado para inoculação. O isolado foi conservado em câmara fria. O fungo foi repicado para meio de BDA em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, que foram incubadas em BOD a 19 °C por dois dias no escuro, para produzir micélio para inoculação das folhas destacadas.

Placas de Petri de 15 cm de diâmetro foram higienizadas com uma solução de hipoclorito de sódio a 20% e deixadas secar naturalmente. Após identificação de acordo com os nomes dos genótipos, foram

colocados dois papéis de filtro saturados com 7 mL de água destilada em cada placa. A coleta e a distribuição de duas folhas destacadas por placa foram realizadas na própria casa de vegetação, para não haver desidratação no transporte até o laboratório.

A inoculação foi realizada em laboratório, em câmara de fluxo unidirecional horizontal. Discos de micélio de 6 mm de diâmetro foram cortados das margens das colônias cultivadas em BDA por dois dias e aplicados em contato direto com a face superior da folha destacada. Foi aplicado um disco no centro de cada folha. As placas foram colocadas em sacos plásticos umedecidos, que foram acondicionados em câmara de germinação, com temperatura de 19° C e 12 horas de fotoperíodo com luz fluorescente, durante 96 horas.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com 18 tratamentos (genótipos) e três repetições. Cada parcela foi representada por uma placa contendo duas folhas destacadas.

As avaliações de severidade da doença consideraram a porcentagem da área foliar colonizada pelo fungo, que foi estimada visualmente em cada folha destacada. Foram feitas quatro avaliações: a primeira 24 horas após a inoculação (dia 1), a segunda com 48 horas (dia 2), a terceira com 72 horas (dia 3) e a quarta com 96 horas (dia 4). A área abaixo da curva de progresso da doença (*AACPD*) foi usada para sumarizar o progresso da severidade da doença e foi calculada de

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} ((X_i + X_{i+1})/2)(t_{i+1} - t_i)$$

onde $X_i = X(t_i)$, n foi o número de avaliações, X foi a severidade da doença (em %) e $(t_{i+1} - t_i)$ foi o intervalo entre duas avaliações consecutivas (em dias).

Os dados de severidade da doença (%) e de *AACPD* foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando-se o software Statistica (STATSOFT, 1995). Para garantir a reprodutibilidade dos resultados, o experimento foi repetido três vezes.

Resultados e discussão

Os resultados dos três experimentos implantados em 31/06/2014, 07/04/2014 e 28/07/2014 estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. Observou-se que todos os genótipos avaliados foram infectados pelo fungo *S. sclerotiorum* nas folhas. Nenhum material foi imune à infecção na folha. De fato, muitos trabalhos indicam a falta de imunidade do girassol cultivado e de outras espécies selvagens, semelhante ao que se observa em todas as espécies de plantas que são afetadas por *S. sclerotiorum* (GULYA et al., 1997).

Observou-se que o fungo colonizou rapidamente as folhas de girassol, atingindo até 100% da área foliar 96 horas após a inoculação.

A variável *AACPD*, que mede o progresso da doença, conseguiu diferenciar os genótipos nos três experimentos, sendo que apenas os híbridos de girassol HLA 2012, CF 101, PARAISO 20, Helio 250 e SRM779 CL apresentaram menor *AACPD* nas três vezes que o experimento foi repetido (Tabelas 1 a 3). Deve-se ressaltar que, com a técnica utilizada, foi possível obter alta severidade da doença em todos os genótipos, o que nem sempre ocorre no campo. Estudos em condições de campo devem ser realizados para confirmar se esses genótipos apresentam maior nível de resistência à doença quando submetidos a condições favoráveis para a epidemia.

Os dados confirmam a observação de que não existem, até o presente, híbridos ou variedades comerciais que possuam nível de resistência adequado para cultivo em condições favoráveis à doença (MASIREVIC; GULYA, 1992; LEITE, 2005; LEITE et al., 2007; LEITE et al., 2011; LEITE; OLIVEIRA, 2013). Esforços devem ser empreendidos para prevenir a ocorrência da doença, evitando-se épocas e locais de maior favorabilidade climática para a doença.

Conclusão

Todos os genótipos testados são suscetíveis à infecção por *S. sclerotiorum* em folhas destacadas.

Agradecimentos

Ao técnico Allan Misael Flausino, pelo auxílio na condução dos experimentos.

Referências

BAILEY, D. J. Screening for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in oilseed rape using detached leaves. **Annals of Applied Biology**, v. 110 (suplemento), p.152-153, 1987.

BRADLEY, C. A.; DEL RIO, L. E. Evaluation of canola cultivars for resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* using petiole and detached leaf inoculation. **Phytopathology**, v. 94, n. 6 (suplemento), p.S157, 2004.

BERGAMIN FILHO, A.; CARNEIRO, S.M.T.P.G.; GODOY, C.V.; AMORIM, L.; BERGER, R.D.; HAU, B. Angular leaf spot of *Phaseolus* beans: relationships between disease, healthy leaf area, and yield. **Phytopathology**, v. 87, p. 506-515, 1997.

GARCIA, R. A.; JULIATTI, F. C. Avaliação da resistência da soja a *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes estádios fenológicos e períodos de exposição ao inóculo. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n. 3, p. 196-203, 2012.

GULYA, T. J.; RASHID, K. Y.; MASIREVIC, S. M. Sunflower diseases. In: SCHNEITER, A. A. (Ed.). **Sunflower technology and production**. **Madison: American Society of Agronomy**, 1997. p. 263-379.

HENNESSY, C. M.; SACKSTON, W. E. Studies on sunflower rust .5. Culture of *Puccinia helianthi* throughout its complete life cycle on detached leaves of sunflower (*Helianthus annuus*). **Canadian Journal of Botany**, v. 48, n. 10, p. 1811-1813, 1970.

LEITE, R. M. V. B. C. Avaliação da resistência de genótipos de girassol à podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) em condições de campo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 16., Londrina, 2005. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2005. p. 105-107.

LEITE, R. M. V. B. C.; DORIGHELLO, D. V.; MELLO, F. E.; OLIVEIRA, M. C. N. Reação de genótipos de girassol à podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) em condições de campo, em 2009 e 2010. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 19., Aracaju, 2011. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2011. p.159-162.

LEITE, R. M. V. B. C.; OLIVEIRA, F. A. de; CASTRO, C. Reação de genótipos de girassol à podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) em condições de campo, em 2005 e 2006. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 17., Uberaba, 2007. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 2007. p. 32-35.

LEITE, R. M. V. B. C.; OLIVEIRA, M. C. N. de Reação de genótipos de girassol à podridão branca (*Sclerotinia sclerotiorum*) em condições de campo, em 2012 e 2013. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE GIRASSOL, 20.; SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE A CULTURA DO GIRASSOL, 8., 2013, Cuiabá. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2013. p. 70-73.

LEITE, R. M. V. B. C.; OLIVEIRA, M. F.; VIEIRA, O. V.; CASTIGLIONI, V. B. R. Incidência da podridão branca causada por *Sclerotinia sclerotiorum* em girassol semeado após a colheita da safra de verão, no Estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, p. 81-84, 2000.

MASIREVIC, S.; GULYA, T. J. *Sclerotinia* and *Phomopsis* - two devastating sunflower pathogens. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 30, p. 271- 300, 1992.

STATSOFT, Inc. **STATISTICA for windows**: computer program manual. Tulsa, Oklahoma, USA, 1995.

ZIMMER, D. E.; HOES, J. A. Diseases. In: CARTER, J. F. (Ed.). **Sunflower science and technology**. Madison: American Society of Agronomy, 1978. p. 225-262.

Tabela 1. Reação de genótipos de girassol para resistência a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas. Experimento implantado em 31/03/2014.

Genótipos	Sev. Dia 1 (%)	Sev. Dia 2 (%)	Sev. Dia 3 (%)	Sev. Dia 4 (%)	AACPD
M734	2,17 a	62,50 a	98,33 a	100,00 a	211,92 a
MG 305	0,17 b	14,83 b	64,17 c	95,83 a	127,00 b
MG 360	1,33 b	50,00 a	87,83 a	100,00 a	188,50 a
SYN					
3950HO	1,00 b	52,17 a	93,67 a	100,00 a	197,08 a
SYN 3840	2,33 a	75,83 a	100,00 a	100,00 a	227,00 a
HLA 2012	0,50 b	14,83 b	78,33 b	98,67 a	142,75 b
BRS G42	2,00 a	34,33 b	86,17 a	100,00 a	171,50 b
BRS 323	2,00 a	63,83 a	98,67 a	100,00 a	213,50 a
CF 101	1,50 a	29,17 b	77,17 b	98,83 a	156,50 b
ADV 5504	1,67 a	27,50 b	84,33 a	98,33 a	161,83 b
Aguará 04	1,00 b	41,67 b	80,67 b	95,00 a	171,00 b
Aguará 06	2,50 a	76,33 a	98,00 a	100,00 a	225,58 a
GNZ Neon	0,83 b	31,50 b	88,50 a	100,00 a	170,42 b
Paraiso 20	1,67 a	38,83 b	92,83 a	100,00 a	182,50 b
Helio 250	0,17 b	15,00 b	58,75 c	97,83 a	133,67 b
Helio 251	2,50 a	65,83 a	98,67 a	100,00 a	215,75 a
SRM767	1,33 b	65,83 a	98,17 a	100,00 a	214,67 a
SRM779					
CL	2,00 a	22,67 b	89,17 a	100,00 a	162,83 b
Média	1,50	43,48	87,95	99,14	181,89
C.V. (%)	49,84	36,56	9,95	2,50	13,24

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Reação de genótipos de girassol para resistência a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas. Experimento implantado em 07/04/2014.

Genótipos	Sev. Dia 1 (%)	Sev. Dia 2 (%)	Sev. Dia 3 (%)	Sev. Dia 4 (%)	AACPD
M734	2,67 a	57,50 a	91,00 a	100,00 a	188,17 a
MG 305	1,00 b	15,17 d	85,00 a	96,67 b	149,00 b
MG 360	1,50 b	18,83 d	75,83 b	96,50 b	143,67 b
SYN					
3950HO	1,17 b	23,00 c	85,83 a	100,00 a	159,42 a
SYN 3840	2,00 a	47,50 a	70,00 b	98,33 a	166,33 a
HLA 2012	1,17 b	17,67 d	77,50 b	100,00 a	145,75 b
BRS G42	2,00 a	24,67 c	87,83 a	100,00 a	163,50 a
BRS 323	2,17 a	27,50 c	66,75 b	95,50 b	150,83 b
CF 101	1,33 b	19,67 d	81,25 a	99,00 a	141,50 b
ADV 5504	2,17 a	27,00 c	88,83 a	100,00 a	166,92 a
Aguará 04	1,83 a	30,83 c	87,17 a	99,67 a	168,75 a
Aguará 06	1,50 b	25,67 c	87,67 a	100,00 a	164,08 a
GNZ Neon	2,00 a	25,50 c	93,33 a	100,00 a	169,83 a
Paraiso 20	1,50 b	24,67 c	91,25 a	96,67 b	154,58 b
Helio 250	1,00 b	18,50 d	88,33 a	100,00 a	157,33 b
Helio 251	1,83 a	35,83 b	92,17 a	99,67 a	178,75 a
SRM767	1,33 b	32,50 c	90,33 a	99,67 a	173,33 a
SRM779					
CL	0,83 b	14,17 d	74,17 b	96,83 b	137,17 b
Média	1,60	27,01	84,67	98,81	159,94
C.V. (%)	29,18	9,44	6,36	2,30	8,99

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Reação de genótipos de girassol para resistência a *S. sclerotiorum* em folhas destacadas. Experimento implantado em 28/07/2014.

Genótipos	Sev. Dia 1 (%)	Sev. Dia 2 (%)	Sev. Dia 3 (%)	Sev. Dia 4 (%)	AACPD
M734	2,00 a	66,17 a	100,00 a	100,00 a	217,17 a
MG 305	2,67 a	75,83 a	99,17 a	100,00 a	226,33 a
MG 360	1,83 a	39,17 b	94,00 a	100,00 a	178,58 b
SYN					
3950HO	2,00 a	52,50 a	99,67 a	100,00 a	203,17 a
SYN 3840	2,33 a	55,00 a	99,50 a	100,00 a	205,67 a
HLA 2012	1,50 b	40,83 b	81,25 c	100,00 a	178,75 b
BRS G42	2,33 a	43,33 b	93,67 a	100,00 a	188,17 b
BRS 323	2,33 a	48,33 a	97,50 a	100,00 a	197,00 a
CF 101	1,17 b	26,33 b	96,17 a	100,00 a	173,08 b
ADV 5504	1,33 b	27,17 b	94,50 a	97,50 a	157,42 b
Aguará 04	1,50 b	35,00 b	97,50 a	100,00 a	183,25 b
Aguará 06	1,33 b	35,83 b	97,50 a	100,00 a	184,00 b
GNZ Neon	2,17 a	39,67 b	100,00 a	100,00 a	184,58 b
Paraiso 20	1,50 b	40,83 b	90,50 b	100,00 a	182,08 b
Helio 250	1,17 b	24,17 b	91,00 b	100,00 a	165,75 b
Helio 251	2,17 a	59,17 a	98,83 a	100,00 a	209,08 a
SRM767	1,33 b	37,17 b	98,75 a	100,00 a	181,17 b
SRM779					
CL	1,00 b	22,50 b	98,17 a	100,00 a	190,00 b
Média	1,77	43,10	96,21	99,86	189,18
C.V. (%)	35,02	29,62	3,35	1,02	9,87

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Fertilidade do solo e produção de soja em áreas infestadas por *Pratylenchus brachyurus* no Mato Grosso

ALMEIDA, M. R.¹, CHICOWSKI A. S.², SANTOS, E. L.¹; DIAS, W. P.³; BALBINOT JUNIOR, A. A.³; DEBIASI, H.³; FRANCHINI, J. C.³;

¹Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL, Campus Palhano, Londrina-PR, maiararochoa.almeida@hotmail.com; ²Universidade Norte do Paraná – UNOPAR, Londrina-PR; ³Embrapa Soja, Londrina-PR.

Introdução

Nos últimos anos, o nematoide das lesões radiculares tem se tornado um dos principais problemas fitossanitários da soja, especialmente na região Centro-Oeste do Brasil. Reduções de até 50% na produtividade da soja, em áreas com altas populações desse nematoide, têm sido reportadas na literatura (ANTONIO et al., 2012). A produção de soja em solos arenosos, combinada à semeadura antecipada de cultivares muito suscetíveis ao nematoide e ao cultivo de milho ou algodão na entressafra, são os principais fatores que explicam o aumento recente da importância do nematoide das lesões radiculares para a cultura (DIAS et al., 2010).

Nematoides da espécie *P. brachyurus* são endoparasitas biotróficos obrigatórios, migradores e polípagos, cujos danos nas raízes das plantas

atacadas são resultantes de sua alimentação, movimentação no interior dos tecidos vegetais e da injeção de enzimas e toxinas no córtex (parênquima) celular (FERRAZ E MONTEIRO, 1995). O ciclo de vida de *Pratylenchus spp.* é simples e relativamente rápido; normalmente ocorrem várias gerações em uma única safra da cultura hospedeira. Altas populações podem ser detectadas nas raízes infectadas, logo no início do ciclo da cultura; porém, essas populações podem se tornar extremamente baixas, especialmente na ausência da cultura hospedeira (LOOF, 1991).

A intensidade dos danos ocasionados por nematoides e outros patógenos depende da interação entre o hospedeiro, o patógeno e o ambiente (BERGAMIN FILHO, 1995). Fatores ambientais podem alterar a intensidade dos sintomas de *P. brachyurus* em soja, por influenciarem tanto a predisposição das plantas à doença, quanto a sobrevivência, a disseminação, a infecção, a colonização e a reprodução do patógeno (BEDENDO, 1995).

Desta forma, a hipótese é que haja diferentes respostas na produção da soja bem como, na multiplicação de *P. brachyurus* em relação à fertilidade do solo. Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a eficiência da calagem, da gessagem e da adubação potássica na redução da população e dos danos de *P. brachyurus* na cultura da soja, sob as condições edafoclimáticas do Mato Grosso.

Material e métodos

O estudo foi conduzido em uma lavoura comercial de soja no Município de Lucas do Rio Verde, no estado do Mato Grosso (latitude: 12 52' 01''; longitude: 55 45' 05''), com solo de textura arenosa (130 g kg⁻¹ de argila), infestado por *P. brachyurus* e com problema de acidez do solo, durante a safra 2014/2015. Na lavoura foi selecionada uma área de 5 ha, que foi dividida em cinco módulos de 1 ha cada. Aos módulos foram aplicados um dos seguintes tratamentos, após a colheita da soja: T1) calagem; T2) calagem + gessagem; T3) calagem + adubação potássica em cobertura; T4) calagem + gessagem + adubação potássica em cobertura e T5) Testemunha sem calagem, gessagem e

adubação potássica em cobertura. Para todos os tratamentos, as doses de calcário foram estabelecidas com base na análise química e física de solo e nas indicações técnicas para a cultura da soja, de modo a elevar a saturação por bases para 50% (TECNOLOGIAS..., 2011). Nos tratamentos T2 e T4, as doses de gesso foram definidas com base no teor de argila solo, sendo aplicada a quantidade equivalente a 50 vezes o teor de argila. A adubação potássica de base (cloreto de potássio) foi realizada em todos os tratamentos, inclusive na testemunha, em dose determinada a partir dos resultados da análise química de solo e nas indicações técnicas para a cultura da soja (TECNOLOGIAS..., 2011). A adubação potássica adicional em cobertura, prevista nos tratamentos T3 e T4 foi realizada mediante a aplicação de 100 kg ha⁻¹ de cloreto de potássio.

A implantação e condução da cultura da soja na área referente ao experimento, incluindo cultivar, época de semeadura, espaçamento, população de plantas, adubação e tratamentos fitossanitários, foram realizadas da mesma forma que no restante do talhão. A coleta de raízes de soja para a determinação da densidade populacional de *P. brachyurus* foi realizada em 12/12/2014 quando a soja (cultivar 9144) estava no estádio R2. Foram coletados os sistemas radiculares de dez plantas em cada um de 105 pontos de amostragem, dispostos em uma grade regular de 20 x 20 metros, perfazendo 21 amostras por tratamento. No laboratório, as amostras foram mantidas em câmara fria (temperatura de 8°C), sendo retiradas e processadas para a extração de nematoides, pelo método de Coolen e D'Herde (1972). Os nematoides foram quantificados por meio de contagem em câmara de Peters, sob microscópio ótico. Os danos ocasionados por *P. brachyurus* à soja foram inferidos a partir da determinação da produtividade de grãos. A produtividade de grãos da soja foi avaliada por meio da colheita das plantas contidas em uma área de 30 m² (3 linhas espaçadas 50 cm de 20 metros), em 140 pontos de amostragem dispostos em uma grade regular de 15 x 15 metros, perfazendo 28 amostras por tratamento. Depois de trilhadas, as amostras foram pesadas e a produtividade corrigida para a umidade de 13%.

O efeito dos tratamentos sobre a população de *P. brachyurus* e a produtividade foram inferidos a partir de análise descritiva e geoestatística dos dados. Na análise geoestatística, os semivariogramas experimentais foram calculados usando os procedimentos e programas indicados por Vieira et al. (2002). Os valores krigados foram utilizados para a elaboração de mapas bidimensionais usando o programa Surfer®.

Resultados e discussão

Os tratamentos de manejo da fertilidade do solo influenciaram a densidade populacional de *P. brachyurus* e a produtividade da soja (Figuras 1 e 2). Todos os tratamentos reduziram a densidade populacional de *P. brachyurus* em relação a testemunha (Figura 1). A redução da população variou de a 24 a 39% nos diferentes tratamentos. Os resultados indicam que a aplicação de calcário contribuiu para reduzir a população de nematoide.

Assim como ocorreu para a população de nematoide, todos os tratamentos proporcionaram aumento de produtividade da soja em relação à testemunha (Figura 2). O aumento de produtividade em relação à testemunha variou de 13 a 26%.

O efeito dos tratamentos de manejo da fertilidade do solo sobre a população de nematoides e a produtividade da soja confirmaram que a correção da acidez do solo com o calcário contribuiu para a redução da população de nematoides e para o aumento da produtividade da soja. No entanto, os resultados não permitiram identificar efeitos complementares da adição de gesso e de potássio.

A calagem pode ter efeito direto sobre a produtividade da soja devido à elevação do pH e da saturação por bases, aumentando a disponibilidade de nutrientes. A redução da população de nematoides pela aplicação de calcário também pode estar associada à redução da acidez, uma vez que esta espécie de nematoide é bem adaptada à acidez, sendo observada em áreas de cerrado nativo. Por outro lado, a redução da acidez pode ter influência sobre a biologia do solo favorecendo grupos de microrganismos antagônicos ao nematoide. Como consequência,

ocorre um aumento da tolerância da soja aos danos causados por *P. brachyurus* pela melhor nutrição das plantas e diminuição da população devido à ação antagônica sobre os nematoides (Franchini et al., 2014).

A correção da acidez do solo pode contribuir para a redução de nematoides na cultura da soja, aliado a um planejamento integrado de métodos como: genético (uso de cultivares resistentes) e culturais (através de rotação de culturas).

Conclusão

Houve aumento da produtividade da cultura da soja e redução da população de *P. brachyurus*, quando foi realizada a correção da acidez do solo, por meio da aplicação de calcário.

Referências

ANTONIO, S. F.; MENDES, F. L.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; GOULART, A. M. C.; SILVA, J. F. V. Perdas de produtividade da soja em área infestada por nematoide das lesões radiculares em Vera, MT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 6., 2012, Cuiabá. **Soja: integração nacional e desenvolvimento sustentável: anais**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 4 p. 1 CD-ROM.

BEDENDO, I. P. Ambiente e doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 331-341.

BERGAMIN FILHO, A. Epidemiologia: conceitos e benefícios. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 540-553.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Gent: State Agricultural Research Center, 1972. 77 p.

DIAS, W. P.; ASMUS, G. L.; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. de S. Nematoides. In: ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S. (Ed.). **Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. p. 173-206.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 168-201.

FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; BALBINOT JUNIOR, A. A. Densidade populacional do nematoide das lesões radiculares em soja e sua relação com a calagem. In: Reunião de Pesquisa de Soja, 34., 2014, Londrina. **Resumos expandidos ...** Londrina: Embrapa Soja, 2014. p. 158-160.

LOOF, P. A. A. The family Pratylenchidae Thorne, 1949. In: NICKLE, W.R. (Ed.). **Manual of agricultural nematology**. New York: Marcel Dekker, p.363-421, 1991.

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA – REGIÃO CENTRAL DO BRASIL 2012 e 2013. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2011. 255 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 15).

VIEIRA, S. R.; MILLETE, J.; TOPP, G. C.; REYNOLDS, W. D. Handbook for geostatistical analysis of variability in soil and climate data. **Tópicos em Ciência do Solo**, v. 2, p. 1-45, 2002.

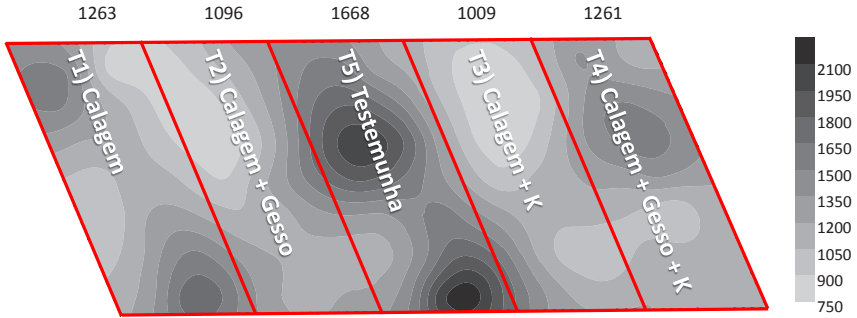


Figura 1. Mapa da densidade populacional de *P. brachyurus* (indivíduos/g de raiz) na cultura da soja, no estágio R2, em diferentes tratamentos de manejo da fertilidade do solo. Lucas do Rio Verde, Mato Grosso, 2015. Valores acima de cada área representam a média em cada tratamento.

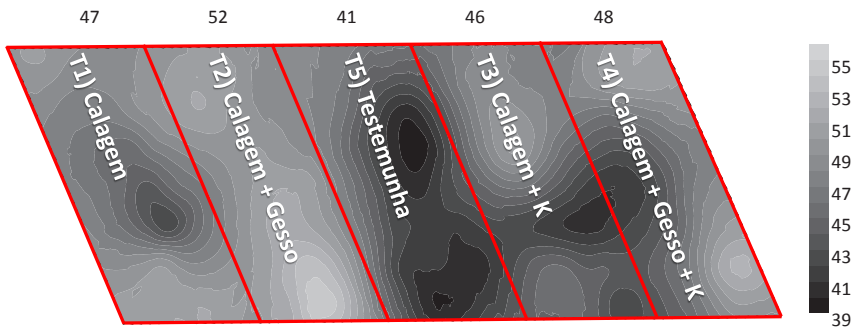


Figura 2. Mapa da produtividade da soja (sacas/ha) em diferentes tratamentos de manejo da fertilidade do solo. Lucas do Rio Verde, Mato Grosso, 2015. Valores acima de cada área representam a média em cada tratamento.

Seletividade de inseticidas a adultos de *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae)

GRANDE, M. L. M.¹; SILVA, G. V.¹; SILVA, D. M.²; QUEIROZ, A. P.²; SOUZA, J. M.³ BUENO, A. F.⁴;

¹Universidade Estadual de Londrina, ²Instituto Agronômico do Paraná, ³Centro Universitário Filadélfia ⁴Pesquisador Embrapa Soja, Caixa Postal 231, 86001-970, Londrina-PR, marcelalaiz@hotmail.com.

Introdução

A busca por uma produção de alimentos em grande quantidade e em tempo reduzido tem levado nas últimas décadas, tanto pesquisadores como o agricultor, a procura de ferramentas que possam elevar a produção agrícola visando um menor custo de produção por hectare cultivado. Com a descoberta dos insumos agrícolas, foi possível controlar ou pelo menos minimizar os danos causados por fatores adversos como pragas e doenças, mas pode-se observar que durante os últimos anos essa solução, antes benéfica, tornou-se um problema para o ambiente, pois também causam diversos desequilíbrios biológicos tanto nos ecossistemas como nos agroecossistemas

(GOULART et al., 2011).

Uma parcela significativa desse desequilíbrio que ocorre nos sistemas agrícolas deve-se ao uso inadequado de produtos químicos. A preservação de inimigos naturais tem sido uma das práticas de maior importância no manejo integrado de pragas (MIP) (BUENO e FREITAS, 2004). Assim, aplicações de produtos fitossanitários de alta toxicidade e de largo espectro, estão sendo conhecidos como a principal causa de eliminação desses insetos benéficos, provocando problemas como ressurgência de pragas e seleção de insetos resistentes (OMOTO, 2001; CARVALHO, 2002; DEGRANDE et al., 2002).

Das ferramentas de controle biológico disponíveis, *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) foi comprovado ser muito importante devido à sua eficácia biológica no controle clássico e inoculativo do percevejo-marrom, *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae), que pertence à família mais abundante do complexo de percevejos que atacam a soja na América do Sul e outras regiões do mundo (PANIZZI e OLIVEIRA, 1998). Portanto, este estudo foi realizado para avaliar a seletividade dos inseticidas Premio® e Ampligo® a adultos de *T. podisi*.

Material e métodos

o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com dez tratamentos e cinco repetições compostas por: T1 a T5: inseticida Premio® nas doses de 50, 75, 100, 150 e 250 ml p.c./ha, respectivamente; T6 a T8: inseticida Ampligo® nas doses de 100, 200 e 300 ml p.c./ha, respectivamente; T9 testemunha negativa com o inseticida Lorsban 480BR® na dose de 1L p.c./ha e T10 testemunha positiva com água corrente. Os tratamentos foram aplicados diretamente sobre placas de vidro (2 mm de espessura e tamanho de 13 x 13 cm) através de Torre de Potter. Depois dos tratamentos, as placas permaneceram em condições ambientais por cerca de duas horas, para secagem completa da calda, originando a formação de uma película do produto. Com as placas de vidro pulverizadas foram confeccionadas gaiolas de contato, de acordo com a metodologia

proposta por Degrande et al. (2002). As duas superfícies das placas de vidro com filme seco do produto formaram o fundo e a cobertura no interior da gaiola. A superfície exterior (não tratada) das placas de vidro foi coberta com papel cartão preto que teve o quadrado central (7 cm x 7 cm) removido. Assim, por serem atraídos pela luz, garante-se o contato com a película do produto. Os adultos de *T. podisi* foram inseridos dentro das gaiolas através de tubos de emergência (CARMO et al., 2010). Esses tubos, contendo adultos ativos dos parasitoides (24 h de idade), e previamente alimentados com mel, foram conectados às gaiolas de contato 2 h após a pulverização.

Foram aplicadas às variáveis respostas, parasitismo e emergência de parasitoides, os testes de normalidade dos erros e homogeneidade de variâncias dos erros dos tratamentos (SHAPIRO e WILK, 1965; BURR e FOSTER, 1972). Nos casos em que os dados não atenderam as pressuposições da análise de variância (anova) os mesmos foram transformados em arco-seno $\sqrt{X/100}$. As comparações múltiplas de médias foram realizadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$) (SAS INSTITUTE, 2001).

Além disso, a redução no parasitismo de *T. podisi* foi classificada em relação ao tratamento controle utilizando-se a fórmula: $R (\%) = (1 - V_t/V_c) \times 100$, em que $R (\%)$ é a percentagem de redução no parasitismo; V_t é o parasitismo médio para o tratamento testado, e V_c é o parasitismo médio observado para o tratamento controle (CARMO et al., 2010). Os tratamentos foram classificados de acordo com os padrões IOBC que são: classe 1, inócuo ($R < 30\%$); classe 2, levemente nocivo ($30\% \leq R \leq 79\%$); classe 3, moderadamente nocivo ($80\% \leq R \leq 99\%$) e classe 4, nocivo ($R > 99\%$) (HASSAN, 1992).

Resultados e discussão

após o contato de adultos do parasitoide *T. podisi* com os tratamentos, com 24h, somente o produto Ampligo® 200 e Ampligo® 300 e o controle positivo Lorsban® 480 diferiram estatisticamente dos demais tratamentos em relação ao parasitismo (Tabela 1) e foram classificados

de acordo com a IOBC (Classe 2) pouco nocivos (Ampligo® 200 e Ampligo® 300) e (Classe 3) moderadamente nocivos (Lorsban® 480) ao parasitoide de ovos *T. podisi* (Tabela 2). O controle positivo, clorpirifós (Lorsban®) atua na fosforilação da enzima acetilcolinesterase (AChE) nas terminações nervosas e provoca a perda da AChE disponível e aumento de atividade dos órgãos por excesso de acetilcolina, o que afeta insetos benéficos e pragas de forma semelhante. Várias pesquisas relatam a baixa seletividade de organofosforados em programas de MIP (BUENO et al., 2008; TOSCANO et al., 2012).

Após o terceiro dia do bioensaio (72 h) os resultados foram semelhantes ao primeiro dia (24 h) em relação ao parasitismo (Tabela 1), sendo que os parasitoides que receberam o tratamento Ampligo® 300 não parasitaram ovos oferecidos e foi avaliado como nocivo (Classe 4) ao parasitoide *T. podisi* (Tabela 2). A viabilidade do parasitismo não diferiu estatisticamente entre os tratamentos, nesse mesmo período, com exceção de Ampligo® 300, onde não houve parasitismo (Tabela 1).

Os parasitoides em contato com os tratamentos por 120 h tiveram o parasitismo afetado negativamente para os tratamentos com Ampligo® 100, Ampligo® 200, Ampligo® 300 e o controle positivo Lorsban® 480, onde o parasitismo foi de 0% (Tabela 1), e assim foram classificados em moderadamente nocivo (Classe 3) (Ampligo 100®) e nocivos (Classe 4) (Ampligo 200®, Ampligo 300®, controle positivo Lorsban® 480). O outro produto testado (Premio® 50, Premio® 75, Premio® 100, Premio® 150, Premio® 250) foi considerado inócuo (Classe 1) em todos os períodos de avaliação (24 h, 72 h e 120 h) de acordo com o resultados demonstrados na Tabela 2.

É importante ressaltar que os ensaios de contato com a fase de adultos foram realizados sob extrema exposição de pulverização para as doses recomendadas para a cultura da soja, portanto os produtos que foram considerados seletivos, ou seja, inócuos aos parasitoides o serão em qualquer condição de campo a que estiverem expostos. De acordo com Hassan (1992) para os produtos que foram classificados como

levemente nocivos, moderadamente nocivos ou nocivos deverão ser novamente testados a campo a fim de verificar os efeitos sobre os parasitoides nessas condições. A fase adulta, embora de vida livre, devido a sua mobilidade pode ser mais exposta ao efeito negativo de pulverizações dos produtos utilizados no combate de pragas (BUENO et al., 2009), o que torna importante estudos nessa área para basear e fundamentar tomadas de decisões para utilização junto ao MIP.

$E (\%) = (1 - V_t/V_c) \times 100$, onde: $E (\%)$ é a porcentagem de redução no parasitismo ou emergência de parasitoide; V_t é o parasitismo mediano para o tratamento testado, e V_c é o parasitismo médio observado para o tratamento testemunha (HASSAN, 1992). 4 Classes: 1 = inócuo ($E < 30\%$), 2 = pouco nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$), 3 = moderadamente nocivo ($80 \leq E \leq 99\%$), 4 = nocivo ($E > 99\%$).

Conclusão

O produto Premio® em todas as dosagens foram seletivos ao parasitoide de ovos *T. podisi* e podem ser utilizados no manejo integrado de pragas. O produto Ampligo® nas doses 100, 200, 300 e o controle positivo Lorsban® 480, devido à influência negativa sobre *T. podisi* recomenda-se cautela na utilização referente à dosagem e concentração desses produtos.

Agradecimentos

a Capes pela concessão da bolsa de estudos. Ao pesquisador Dr. Adeney de Freitas Bueno pela oportunidade de estágio. A equipe do Laboratório de Parasitoides pela contribuição na realização do trabalho.

Referências

BUENO, A. F.; FREITAS, S. Effect of the insecticides abamectin and lufenuron on eggs and larvae of *Chrysoperla externa* under laboratory conditions. **BioControl**, v. 49, p. 277–283, 2004.

BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F.; PARRA, J. R. P.; VIEIRA, S. S. Effects of pesticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum*. **Ciência Rural**, v. 38, p.1495–1503, 2008.

BUENO, R. C. O. F.; J. R. P. PARRA; A. F. BUENO; M. L. HADDAD. Desempenho de tricogramatídeos como potenciais agentes de controle de *Pseudoplusia includens* Walker (Lepidoptera, Noctuidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, p. 389–394, 2009.

BURR, I. W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26p. (Mimeo Series, 282).

CARMO, E.L.; BUENO, A. F.; BUENO, R. C. O. F. Pesticide selectivity for the insect egg parasitoid *Telenomus remus*. **BioControl**, v. 21, n. 55, p. 455-464, 2010.

CARVALHO, G.A.; GODOY, M.S.; PEDROSO, E.C. Uso da seletividade de inseticidas e acaricidas no manejo integrado de pragas de hortaliças. In: ZAMBOLIM, L.; LOPES, C.A.; PICANÇO, M.C.; COSTA, H. (Ed.). **Manejo integrado de doenças e pragas: hortaliças**. Viçosa: UFV, 2007. p. 539-575.

DEGRANDE, P. E.; REIS, P. R.; CARVALHO, G. A.; BELARMINO, L. C. Metodologia para avaliar o impacto de pesticidas sobre inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed.). **Controle biológico no Brasil: parasitóides e predadores**. São Paulo: Manole, 2002.

DIEZ-RODRÍGUEZ, G. I.; OMOTO, C. Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambdacialotrina. **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 2, p.311-316, 2001.

GOULART, M. M. P.; BUENO, A. F.; BUENO, A.C.O.F.; VIEIRA, S.S. Interaction between *Telenomus remus* and *Trichogramma pretiosum* in the management of *Spodoptera* spp. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 55, p. 121–124, 2011.

HASSAN, S. A. Guideline for the evaluation of side effects of plant protection product on *Trichogramma cacoeciae*. In: HASSAN, S.A.

(Ed.). Guidelines for testing the effects of pesticides on beneficial organisms: description of test methods. **IOBC/WPRS Bulletin**, v.15, p. 18-39, 1992.

PANIZZI, A. R.; OLIVEIRA, E. D. M. Performance and seasonal abundance of the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* nymphs and adults on a novel food plant (pigeonpea) and soybean. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 88, p. 169-175, 1998.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide. Cary: SAS Institute, 2001. 502p.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.

TOSCANO, L. C.; CALADO FILHO, G. C.; CARDOSO, A.M.; MARUYAMA, W. I.; TOMQUELSKI, G .V. Impacto de inseticidas sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e seus inimigos naturais em milho safrinha cultivado em Cassilândia e Chapadão do sul, MS. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.79, n.2, p. 223-231, 2012.

Tabela 1. Efeito da pulverização de inseticidas sobre o parasitismo e viabilidade na fase adulta do parasitoide de ovos *Telenomus podisi*

Tratamentos	24h ²		72h ²		120h ²	
	Parasitismo ¹	Viabilidade ¹	Parasitismo ¹	Viabilidade ¹	Parasitismo ¹	Viabilidade ¹
	41,90 ±	60,05 ±	82,53 ±	50,72 ±	83,54 ±	65,45 ±
Premio [®] 50	1,97 a	5,25 a	1,74 a	10,61 ^{ns}	2,94 a	3,31 ^{ns}
	43,53 ±	46,39 ±	72,62 ±	67,68 ±	79,84 ±	64,07 ±
Premio [®] 75	2,62 a	5,48 ab	5,52 a	5,66	0,28 a	6,17
	42,96 ±	61,00 ±	67,59 ±	61,26 ±	72,06 ±	65,00 ±
Premio [®] 100	1,05 a	3,70 a	5,69 a	6,10	7,11 a	5,27
	43,45 ±	55,43 ±	63,30 ±	74,55 ±	67,04 ±	63,93 ±
Premio [®] 150	3,28 a	5,78 ab	8,40 a	7,17	4,51 a	9,69
	46,69 ±	50,81 ±	71,08 ±	53,19 ±	81,50 ±	59,70 ±
Premio [®] 250	1,48 a	5,21 ab	8,65 a	9,43	5,38 a	9,60
Ampligo [®]	31,15 ±	58,17 ±	53,00 ±	64,73 ±	11,33 ±	70,36 ±
100	3,52 bc	4,51 a	6,05 ab	13,30	11,33 b	4,20
Ampligo [®]	28,45 ±	51,02 ±	25,33 ±	87,83 ±		
200	1,12 c	6,43 ab	11,0 bc	5,98	. ³	. ³
Ampligo [®]	15,12 ±	64,63 ±	0,00 ±			
300	2,10 d	10,39 a	0,00 c	. ³	. ³	. ³
Controle						
negativo	41,37 ±	51,42 ±	63,50 ±	54,06 ±	82,81 ±	63,03 ±
(água)	2,10 ab	4,79 ab	11,29 a	12,59	6,45 a	4,78
Controle						
positivo						
(Lorsban 480	1,27 ±	25,00 ±	0,00 ±			
CE) [®]	0,77 e	25,00 b	0,00 c	. ³	. ³	. ³

1 Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey (P>0.05); 2 Dados originais transformados em arcoseno $\sqrt{x/100}$; 3 não houve insetos para avaliação.

Tabela 2. Classificação dos inseticidas testados para *Telenomus podisi* de acordo com as normas da IOBC.

Tratamentos	24h		72h		120h	
	E%	Classe	E%	Classe	E%	Classe
Premio® 50	0	1	0	1	0	1
Premio® 75	0	1	0	1	3,58	1
Premio® 100	0	1	0	1	12,98	1
Premio® 150	0	1	0,37	1	19,04	1
Premio® 250	0	1	0	1	1,58	1
Ampligo® 100	24,7	1	19,59	1	86,31	3
Ampligo® 200	31,23	2	60,13	2	100	4
Ampligo® 300	63,44	2	100	4	100	4
Controle negativo (água)
Controle positivo (Lorsban 480 CE)®	96,92	3	100	4	100	4

$E (\%) = (1 - V_t/V_c) \times 100$, onde: E (%) é a porcentagem de redução no parasitismo ou emergência de parasitoide; V_t é o parasitismo mediano para o tratamento testado, e V_c é o parasitismo médio observado para o tratamento testemunha (HASSAN, 1992). 4Classes: 1 = inócuo ($E < 30\%$), 2 = pouco nocivo ($30 \leq E \leq 79\%$), 3 = moderadamente nocivo ($80 \leq E \leq 99\%$), 4 = nocivo ($E > 99\%$).

Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de girassol cultivados em segunda safra, 2013 e 2014

SILVA, M. F.¹; BORBA FILHO, A. B.²; DALCHIAVON, F. C.³; RESENDE, J. C. F.⁴; NÓBREGA, J. C. M. de ⁵; RAMOS, N. P.⁶; AMABILE, R. F.⁷; GODINHO, V. D. de P. C.⁸; CARVALHO, C. G. P. de⁹;

¹ Centro Universitário Filadélfia, Bolsista do PIBIC/CNPq – Brasil; ² Universidade Federal do Mato Grosso; ³ Instituto Federal do Mato Grosso; ⁴ Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais; ⁵ Centro Universitário Moura Lacerda; ⁶ Embrapa Meio Ambiente; ⁷ Embrapa Cerrados; MT; ⁸ Embrapa Rondônia; ⁹ Embrapa Soja

Introdução

Os aquênios de girassol, dentre outras utilidades, podem ser usadas como matéria-prima para alimentação animal e extração de óleo de alta qualidade para consumo humano ou produção de biodiesel. Essas características associadas à demanda do setor industrial torna a cultura do girassol uma importante alternativa econômica em sistemas de rotação e sucessão de cultivos nas regiões produtoras de grãos (PORTO et al., 2007).

Dentre as oleaginosas, o girassol é considerado a quarta mais consumida no mundo, depois da soja, palma e canola. As sementes

são abundantes em óleo, onde raras vezes contêm menos de 30%, chegando a ter quantidades superiores a 50% em algumas cultivares (LIRA et al., 2011).

A avaliação permanente de novas cultivares de girassol é um importante fator para a expansão da cultura do girassol como segunda safra de verão no Brasil, possibilitando, assim, a identificação de genótipos capazes de expressar alto rendimento de grãos e de óleo nas diferentes regiões. A ocorrência de condições pluviométricas e de temperatura adequadas para o cultivo do girassol o torna uma cultura favorável para essa segunda safra (PORTO et al., 2008).

A seleção de novas cultivares pode ser dificultado, quando observa-se um comportamento diferenciado dos genótipos às diferentes regiões produtoras. Essa interação genótipo x ambiente pode ser amenizada por meio de estudos de adaptabilidade e estabilidade dos genótipos (PORTO et al., 2009). A avaliação e seleção de genótipos de girassol de diferentes empresas no Brasil é realizada pela Rede de Ensaio de Avaliação de Genótipos de Girassol. Pelo fato de grande parte das cultivares utilizadas, ou em lançamento, terem sido desenvolvidas em outros países com aspectos diferentes de solo e de clima, estes estudos tornam-se relevantes.

Este trabalho teve como objetivo estudar a adaptabilidade e a estabilidade de genótipos de girassol, quanto a rendimento de grãos e de óleo, cultivados nas condições de segunda safra, 2013 e 2014.

Material e métodos

Foram avaliados 15 híbridos de girassol nos Ensaio Finais de Primeiro Ano (EFP1) e de Segundo Ano (EFP2), pertencentes a Rede de Ensaio de Avaliação de Genótipos de Girassol, coordenada pela Embrapa Soja. Os EFP1 foram conduzidos, na safrinha de 2013, em Espírito Santo do Pinhal, Manduri e Ribeirão Preto (SP), Anápolis (GO), Campo Novo do Parecis (MT), Vilhena – Ensaio A e Vilhena – Ensaio B (RO) e Planaltina (DF). Os EFP2 foram conduzidos, na safrinha 2014, em Manduri e Paraguaçu Paulista (SP), Uberlândia (MG), Vassouras (RJ), Campo

Novo do Parecis (MT), Chapadão do Sul (MS), Planaltina (DF) e Vilhena – Ensaio A e Vilhena – Ensaio B (RO).

Os ensaios foram semeados entre os meses de fevereiro e março em delineamento experimental de blocos completos casualizados, com quatro repetições, sendo cada parcela constituída de quatro linhas de 6 m de comprimento, espaçadas de 0,7 a 0,9 m. As duas linhas externas de cada parcela, na colheita, foram descartadas como bordaduras, obtendo-se uma área útil na parcela 7,0 a 9,0 m². Para possibilitar o melhor desenvolvimento das plantas foram realizados tratamentos culturais como adubação e capina. Foi considerado como testemunha dos ensaios o híbrido M 734.

Análises de variância para rendimentos de grãos e de óleo foram realizadas em cada local e ano. Como nem sempre os locais de teste nos EFP1 foram os mesmos dos EFP2, foi realizada análise conjunta de ambientes (local e ano específicos).

O método de Porto et al. (2007) foi utilizado para análise de adaptabilidade e estabilidade do desempenho produtivo dos genótipos cultivados nos diferentes ambientes. Neste método é feita a decomposição do rendimento de grãos (RG) de cada cultivar em rendimento em ambientes favoráveis (RGF) e rendimento em ambientes desfavoráveis (RGD). Desta forma, uma cultivar apresenta indicação geral, quando a mesma apresentar altos RGF e RGD nos ambientes favoráveis e desfavoráveis, respectivamente. Por sua vez, uma cultivar é indicada para os ambientes favoráveis quando mostrar alto RGF nos ambientes favoráveis e baixo rendimento RGD nos ambientes desfavoráveis e uma cultivar é indicada para os ambientes desfavoráveis quando tiver alto RGD nos ambientes desfavoráveis e baixo rendimento RGF nos ambientes favoráveis. Este mesmo procedimento foi utilizado para a decomposição do rendimento de óleo (RO) nos ambientes favoráveis (ROF) e desfavoráveis (ROD). Foi considerado ambiente favorável aquele cuja média foi superior à média geral do ensaio, e foi considerado ambiente desfavorável, aquele cuja média foi inferior à da geral (Verma et al., 1978).

Resultados e discussão

Os genótipos SYN 045, GNZ NEON, SYN 3950HO e HELIO 251 apresentaram os maiores rendimentos de grãos (Tabela 1). No estudo de adaptabilidade e estabilidade, os três primeiros híbridos tiveram indicação tanto a ambientes favoráveis como desfavoráveis, confirmando a análise com base na média geral (Tabela 2). Contudo, o HELIO 251 mostrou adaptabilidade apenas para ambientes desfavoráveis. Além disso, MG 305 teve adaptabilidade a ambientes favoráveis, apesar de ter mostrado baixa média geral. A identificação de genótipos para ambientes específicos mostra a importância do estudo de adaptabilidade e estabilidade.

Para rendimento de óleo, os híbridos SYN 045, SYN 3950HO, MG 360, CF 101 tiveram os melhores desempenhos. Destes, os três últimos apresentaram indicação geral pelo método do Porto et al. (2007), confirmando a análise da média geral. Por outro lado, o SYN 045 mostrou ter adaptabilidade apenas para ambientes favoráveis. Para ambientes favoráveis foram indicados, também, os híbridos GNZ NEON, MG 305, PARAISO 20 e ADV 5504. O híbrido SYN 3950HO foi o único que mostrou indicação geral para os dois componentes de rendimento.

Conclusão

Nas condições de segunda safra brasileira, o híbrido SYN 3950HO mostra indicação geral para rendimento de grãos e de óleo. Os híbridos SYN 045 e GNZ NEON tem indicação geral para rendimento de grãos e MG 360 e CF 101, para rendimento de óleo.

Agradecimentos

Aos pesquisadores e as instituições que avaliaram os ensaios da Rede de Ensaios de Avaliação de Genótipos de Girassol, cujos dados experimentais foram necessários para a elaboração desse trabalho.

Referências

LIRA, M. A.; CARVALHO, H. W. L. de; CHAGAS, M. C. M. das; BRISTOT, G.; DANTAS, J. A.; LIMA, J. M. P. de. **Avaliação das potencialidades da cultura do girassol, como alternativa de cultivo no semiárido nordestino**. Natal: EMPARN, 2011. 40 p. (EMPARN. Documentos, 40).

PORTO, W. S.; CARVALHO, C. G. P. de; PINTO, R. J. B. Adaptabilidade e estabilidade como critérios para seleção de genótipos de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, p.491-499, 2007.

PORTO, W. S.; CARVALHO, C. G. P. de; PINTO, R. J. B.; OLIVEIRA, M. F. de; OLIVEIRA, A. C. B. de. Evaluation of sunflower cultivar for Central Brazil. **Scientia Agricola**, v. 65, p. 139-144, 2008.

PORTO, W. S.; CARVALHO, C. G. P. de; PINTO, R. J. B.; OLIVEIRA, M. F. de; OLIVEIRA, A. C. B. de. Adaptabilidade e estabilidade de genótipos de girassol para a região subtropical do Brasil. **Ciência Rural**, v.39, p. 2452-2459, 2009.

VERMA, M. M.; CHAHAL, G. S.; MURTY, B. R. Limitations of conventional regression analysis: a proposed modification. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 53, p. 89-91, 1978.

Tabela 1. Análise conjunta de características agronômicas de híbridos de girasol nos Ensaios Finais de Segundo Ano – safrinha 2014, conduzidos em Manduri e Paraguaçu Paulista (SP), Uberlândia (MG), Vassouras (RJ), Campo Novo do Parecis (MT), Chapadão do Sul (MS), Planaltina (DF) e Vilhena – Ensaio A e Vilhena – Ensaio B (RO) e Ensaios Finais de Primeiro Ano – safrinha 2013, conduzidos em Espírito Santo do Pinhal, Manduri e Ribeirão Preto (SP), Anápolis (GO), Campo Novo do Pareci (MT), Vilhena – Ensaio A e Vilhena – Ensaio B (RO) e Planaltina (DF).

Genótipo	Rendimento de grãos (kg/ha)	Teor de óleo (%)	Rendimento de óleo (kg/ha)
SYN 045	2231 a	43,3 d	959 a
GNZ NEON	2218 a	39,2 f	872 bc
SYN 3950HO	2159 ab	46,2 b	998 a
M734 ^{1/}	2071 abc	39,1 f	823 c
HELIO 251	2069 abc	40,9 e	862 bc
MG 360	2017 b	47,8 a	1007 a
CF 101	2004 bc	44,9 c	922 ab
AGUARÁ 06	1951 cd	42,6 d	838 bc
PARAÍSO 20	1947 cd	44,5 c	868 bc
BRS 323	1907 cde	43 d	823 c
MG 305	1888 cde	44,7 c	822 c
AGUARÁ 04	1887 cde	44,7 c	853 bc
HELIO 250	1787 def	44,4 c	793 c
ADV 5504	1725 ef	46,3 b	832 bc
HLA 2012	1712 ef	44,8 c	775 c
BRS G42	1655 f	41,1 e	692 d
Média Geral	1950	43,5	856
Valor da testemunha	2071	-	823
C.V. (%) ^{2/}	13,6	4,6	13,9

^{1/} Testemunha do ensaio para comparação de híbridos; ^{2/} C.V. (%): coeficiente de variação e ^{3/} Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Análise conjunta de características agrônômicas de híbridos de girassol nos Ensaios Finais de Segundo Ano – safrinha 2014, conduzidos em Manduri e Paraguaçu Paulista (SP), Uberlândia (MG), Vassouras (RJ), Campo Novo do Parecis (MT), Chapadão do Sul (MS), Planaltina – Ensaio A e Planaltina - Ensaio B (DF) e Vilhena – Ensaio A e Vilhena – Ensaio B (RO) e Ensaios Finais de Primeiro Ano – safrinha 2013, conduzidos em Espírito Santo do Pinhal, Manduri e Ribeirão Preto (SP), Anápolis (GO), Campo Novo do Pareci (MT), Vilhena – Ensaio A e Vilhena – Ensaio B (RO) e Planaltina (DF).

Genótipo	Ambiente desfavorável ^{1/}			Genótipo	Ambiente favorável ^{1/}		
	Rendimento de grãos (kg/ha)	Teor de óleo (%)	Rendimento de óleo (kg/ha)		Rendimento de grãos (kg/ha)	Teor de óleo (%)	Rendimento de óleo (kg/ha)
SYN 3950HO	1950 a	46,5 a	907 a	SYN 045	2860 a	43,1 ef	1236 a
HELIO 251	1886 ab	41,1 e	786 bcd	GNZ NEON	2853 a	38,8 h	1134 abcd
SYN 045	1854 ab	43,4 cd	780 bcde	SYN 3950HO	2508 ab	45,6 bc	1151 abc
GNZ NEON	1846 abc	39,4 f	724 cdef	M734 ^{1/}	2502 ab	38,3 h	999 cdef
M734 ^{1/}	1819 abcd	39,5 f	728 cdef	MG 305	2487 abc	45,2 bc	1092 abcde
MG 360	1807 abcd	47,1 a	855 ab	PARAÍSO 20	2435 bc	44,8 bcde	1099 abcde
AGUARÁ 06	1804 abcd	42,8 d	778 bcde	CF 101	2395 bc	44,9 bcd	1099 abcde
CF 101	1786 abcd	44,8 b	821 abc	HELIO 251	2390 bc	40,4 g	989 cdef
AGUARÁ 04	1698 ebcd	44,8 b	774 bcde	BRS 323	2385 bc	43,4 def	1043 bcdef
BRS 323	1627 efcd	42,8 d	692 def	MG 360	2377 bc	48,7 a	1203 ab
PARAÍSO 20	1607 efcd	44,2 bc	710 def	AGUARÁ 04	2225 bc	44,4 cde	1000 cdef
HELIO 250	1542 efg	44,5 bc	685 def	HELIO 250	2215 bc	44,2 cde	991 cdef
MG 305	1538 efg	44,3 bc	664 fg	AGUARÁ 06	2191 bc	42 fg	938 ef
HLA 2012	1504 efg	44,7 bc	680 ef	ADV 5504	2177 bc	46,4 b	1056 abcdef
ADV 5504	1473 fg	46,1 a	682 def	BRS G42	2097 bc	40,8 g	890 f
BRS G42	1397 g	41,2 e	578 g	HLA 2012	2085 c	44,9 bcd	947 def
Média Geral	1646	43,3	713	Média Geral	2386	43,5	1054
C.V. (%) ^{3/}	14,6	4,2	15,3	C.V. (%) ^{3/}	12,1	5,2	12,1

^{1/} Foram considerados ambientes desfavoráveis aqueles que apresentaram valores inferiores a média geral dos ensaios para rendimento de grãos e ambientes favoráveis aqueles que apresentaram valores superiores a média geral; ^{2/} Testemunha do ensaio para comparação de híbridos; ^{3/} C.V. (%): coeficiente de variação; e ^{4/} Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade.

Avaliação fenotípica e de metabólitos secundários de genótipos de soja resistentes e suscetíveis à ferrugem asiática.

GHIZONI, P. A. S.^{1,3}; GRAÇA, J. P.³; DIAS, B. F.^{1,4}; ABELHA, A.^{1,3}; UEDA, T. E.^{2,3}; SALVADOR, M. C.³; OLIVEIRA, M. F.³; NUNES, E. O.³; HOFFMANN-CAMPO, C. B.^{3,1,3}Bolsista CNPq-PIBIC,

¹ Universidade Norte do Paraná, pauloalgustoghizoni@gmail.com; ² Universidade Estadual de Londrina; ³ Embrapa Soja.

Introdução

A ferrugem asiática da soja (FAS) causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* foi relatada pela primeira vez no Brasil em 2001, no Estado do Paraná. O fungo é capaz de se desenvolver em temperaturas que variam de 15°C a 30°C, podendo se adaptar a qualquer região brasileira e causar severas perdas na cultura da soja (EMBRAPA, 2004). Em surtos epidêmicos da doença foram relatadas perdas de até 80% na produção; estima-se que já houve um gasto de 19 bilhões de dólares para o Brasil, incluindo o controle da doença com fungicidas e as perdas de produtividade, com média anual de US\$ 2 bilhões por safra nos últimos anos (FAPCEN, 2015; GODOY et al., 2006a).

Uma das estratégias de manejo da doença é o uso de cultivares resistentes, que é considerada a forma mais econômica de controle (PIEROZZI et al., 2008). Até o momento foram identificados seis genes de resistência à ferrugem, sendo denominados de *Rpp1*, *Rpp2*, *Rpp3*, *Rpp4*, *rpp5* e *Rpp6* (LI et al., 2012). Além dos genes de resistência à FAS, que são mecanismos de defesa para evitar a infecção do fitopatógeno (AGRIOS, 2005), as plantas produzem, normalmente, uma série de compostos orgânicos de baixo peso molecular sem aparente função no seu crescimento e ou desenvolvimento (HOFFMANN-CAMPO.,1995). Essas substâncias, denominadas metabólitos secundários (TAIZ & ZEIGER, 2010) e cuja distinção no perfil de composição e concentração dos mesmos entre cultivares, permite a diferenciação entre resistentes, tolerantes e suscetíveis quando correlacionado com seu comportamento fenotípico. Estudos têm mostrado que a cultura da soja é capaz de responder a estresses provocados por microrganismos com a produção desses metabólitos secundários. Durante a infecção pelo fungo *P. pachyrhizi*, genótipos de soja aumentam a produção de compostos fenólicos, especialmente os resistentes onde pode ocorrer a produção de fitoalexinas como as gliceolinas (NOGUEIRA et al.,2006; YAMAOKA et al., 2002).

Com a seleção de plantas com maior produtividade e outras características agrônômicas é provável que, a soja e outras culturas tenham perdido alguns mecanismos de defesa (KOGAN et al., 1999). Assim, o retorno aos genótipos ou PIs ("*Plant Introductions*") permitirá a identificação de materiais com respostas rápidas, intensas e persistentes. Isso deve ser visto como um componente importante de programas de melhoramento, a fim de, proteger as plantas durante as suas fases mais sensíveis do desenvolvimento (KOGAN; FISCHER, 1991). O objetivo deste trabalho foi selecionar genótipos de soja resistentes e suscetíveis à ferrugem asiática pela sua resposta fenotípica e o seu perfil metabólico.

Material e métodos

Foram selecionados nove genótipos de soja, de acordo com características fenotípicas (WALKER et al.,2014) das lesões de

resistência – RB (*Reddish-Brown*) - (PI-224270, PI-507259, PI-567102B, PI-567046A) e suscetibilidade -TAN (PI-200492, PI-417116, PI-594172A, PI-615445 e PI-617045). Os genótipos foram semeados, em vasos de 5 L contendo 1 kg de mistura de terra, areia e esterco na proporção 3:1:2, com temperatura de 28°C e fotoperíodo de 14 horas, até estágio V5, em casa de vegetação contendo 5 plantas por vaso (FEHR & CAVINESS, 1977).

O inóculo de *P. pachyrhizi* foi obtido pela coleta de esporos em plantas da cultivar BRS 316 (suscetível) infectadas, cultivadas em casa de vegetação. Os esporos foram suspensos em água + tween 20 (agente dispersor) a 0,5% (V/V), com concentração final de $1,89 \times 10^5$ esporos mL⁻¹ de água. A contagem dos esporos foi realizada em câmara de Neubauer. A suspensão foi inoculada nas plantas com pulverizador costal.

O quarto trifólio foi coletado 11 dias após a inoculação, congelado em nitrogênio líquido e armazenado em ultrafreezer (-80°C). As amostras foram maceradas e uma alíquota de ≈ 700 mg foi utilizada para extração e adicionados 5 mL de metanol 90%. As amostras foram agitadas em vortex por 10 segundos, levadas ao banho de ultrassom por 20 minutos e novamente agitadas por 5 segundos. O material foi centrifugado a 5650 rpm a 2°C por 10 min. O sobrenadante foi coletado e seco em vácuo, e resolubilizado com metanol 80% ajustando o volume de acordo com a massa inicial de extração (1000 mg mL⁻¹) e filtradas em membrana Milipore® 0,45 μ m, transferidas para tubos de injeção automática e analisadas pelo sistema Prominence® (Shimadzu) composto de HPLC (high performance liquid chromatograph) e detector PDA (photo diodo array), de acordo com metodologia cromatográfica e quantitativa adotada por Graça (2012). A fase móvel foi composta dos solventes: (A)-2% de ácido acético (HOAc) e (B)-metanol, ácido acético e água (MeOH:HOAc:H₂O; 18:1:1) e o fluxo utilizado de 1 mL/min⁻¹.

Para a avaliação da reação fenotípica, o terceiro trifólio foi coletado 20 dias após a inoculação e, no laboratório com auxílio de um amplificador

óptico binocular (OptiVisor-da10blue®) foram determinados os tipos de lesão, RB (resistência), TAN (susceptibilidade), RT (predomínio de RB, com menos TAN) ou TR (predomínio de TAN, com menos RB). A quantidade relativa de esporulação foi medida e expressa com auxílio de escala de notas de 0 (sem esporulação) a 3 (maior esporulação) e a porcentagem da área foliar infectada (AFI) estimada através de escala diagramática de severidade (GODOY et al., 2006b).

Para o ensaio foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com nove genótipos de soja inoculados e quatro repetições.

Resultados e discussão

De modo geral, as PIs apresentaram diferenças fenotípicas quanto a doença e na concentração de compostos secundários na folha. A PI 567102B (RB) apresentou menor porcentagem de área foliar infectada (AFI) e baixa esporulação (Tabela 1). Esse genótipo possui o gene de resistência *Rpp6* (WALKER et al., 2014), fator este que pode ter contribuído para os resultados fenotípicos obtidos nesse material. Em contrapartida, a PI 224270 (RB) mesmo apresentando alta porcentagem de AFI (severidade alta), exibiu baixa esporulação, a que pode estar associada à presença do gene de resistência *Rpp2*.

Os genótipos PI 471116 e PI 594172A (TAN), apesar de serem considerados suscetíveis à FAS, apresentaram severidade e esporulação menores quando comparados a PI 617045 (TAN) que teve a maior nota de esporulação entre os genótipos. Os demais apresentaram uma porcentagem de AFI intermediária e baixa esporulação mesmo com lesões do tipo TAN e RT.

Em relação à concentração de compostos secundários, a PI 615445 (TAN) além da baixa esporulação, apresentou as maiores concentrações de daidzina, malonil-daidzina, malonil-genistina e coumestrol e elevada nível de genistina (Figura 1). Entretanto, a PI 617045 (TAN) mesmo tendo alta concentração de compostos (daidzina, malonil-daidzina, malonil-glicetina e coumestrol) apresentou altas severidade e esporulação. Nos extratos da PI 200492 (TAN),

que possui o gene Rpp1, foi identificado apenas as substâncias rutina e daidzina em baixas concentrações. A PI 417116 (TAN) apresentou todos os compostos investigados, exceto a genistina. Já a PI 567102B (RB) que apresentou as maiores concentrações de genistina e rutina também exibiu a menor severidade e baixa esporulação.

Isoflavonoides com característica de fitoalexinas são relativamente comuns em soja, sendo as gliceolinas (pterocarpanos) e o coumestrol (coumestrans) citados em relação à proteção da soja a estresses bióticos (NOGUEIRA et al., 2006). No presente trabalho, a produção de gliceolinas em especial a do tipo III (dados não apresentados) foi observada em todos os genótipos. O acúmulo de compostos fenólicos e, incluindo-se gliceolinas tem sido descrito após a infecção com *Phytophthora megasperma* (GRAHAM et al., 1990; GRAHAM; GRAHAM, 1991; CHENG et al., 2011). As ações das fitoalexinas sobre fungos são diversas incluindo granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas (LO et al., 1996). Esses efeitos, segundo os autores, inibem a germinação e alongamento do tubo germinativo e reduz ou inibe o crescimento miceliano.

Conclusão

Os resultados indicam que a PI 567102B (RB) apresenta características fenotípicas favoráveis de resistência e alta concentração da isoflavona genistina e do flavonol rutina, quando comparados aos demais genótipos testados. Estudos adicionais de avaliações fenotípicas e sua correlação com metabólitos secundários estão sendo conduzidos. O presente trabalho é parte da etapa de avaliação realizada por HPLC, da análise de 132 genótipos do banco ativo de germoplasma da Embrapa Soja e visa associar estes compostos secundários com a descoberta de novos compostos identificados por espectrometria de massa, que possam acelerar a seleção de genótipos para o melhoramento e desenvolvimento de cultivares resistentes à ferrugem.

Referências

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.

CHENG, J.; YUAN, C.; GRAHAM, T.L. Potential defense-related prenylate disoflavones in lactofen-induced soybean. **Phytochemistry**, v. 72, n. 9, p. 875–881, 2011.

YORINORI, J.T.; LAZZAROTTO, J.J. **Situação da ferrugem asiática da soja no Brasil e na América do Sul**. Londrina: Embrapa Soja, 2004, 30 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 236).

FAPCEN: Fundação de Apoio à Pesquisa Corredor de Exportação Norte. Ferrugem asiática causa prejuízos de **US\$ 8 bilhões em MT**. Disponível em: < <http://www.fapcen.agr.br/?p=80> >. Acesso em: 13 abr. 2015.

FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames: State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special report, 80).

GODOY, C.V.; SEIXAS, C.D.S.; SOARES, R.M.; HENNING, A.A. **Histórico do vazio sanitário como medida de manejo da ferrugem asiática da soja**. Disponível em: < <http://www.cnpso.embrapa.br/download/HistoricoVazio.doc> > Acesso em: 03 abr 2015.

GODOY, C.V.; KOGA, L.J.; CANTERI, M.G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 63-68, 2006.

GRAÇA, J.P. da. **Cis-Jasmone e Tween 20 na indução de metabólitos secundários em soja e seus efeitos em insetos-praga**. 2012. 88 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, São Paulo.

GRAHAM, M.Y.; GRAHAM, T.L. Rapid accumulation of anionic peroxidases and phenolic polymers in soybean cotyledon tissues following treatment with *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* wall glucan. **Plant Physiology**, v. 97, n. 4, p. 1445–1455, 1991.

GRAHAM, T.L.; KIM, J.E.; GRAHAM, M.Y. Role of constitutive isoflavone conjugates in the accumulation of glyceollin in soybean infected with *Phytophthora megasperma*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 3, p. 157–166, 1990.

HOFFMANN-CAMPO, C.B. **Role of the flavonoids in the natural resistance of soyabean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner)**. 1995. 165 f. Dissertation (PHD) The University of Reading, Reading.

KOGAN, M.; FISCHER, D.C.; Inducible defenses in soybean against herbivorous insects. In: TALLAMY, W.D.; RAUPP, M.J. (eds.). **Phytochemical induction by herbivorous insects**. Wiley: New York, p. 347–380, 1991.

KOGAN, M.; DE BORTOLI, S.; HELM, C.G. Soybean resistance and IPM: Testing the vulnerability of improved varieties to insect pests. In CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1., 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, pp. 267–274, 1999. (Embrapa Soja. Documentos, 124).

LI, S.; SMITH, J.R.; RAY, J.D.; FREDERICK, R.D. Identification of a new soybean rust resistance gene in PI 567102B. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 125, n. 1, p. 133-142, 2012.

LO, L.C.; WEIERGANG, I.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R.L. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ester of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 49, p. 21-31, 1996.

NOGUEIRA, L. M.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; PASSIANOTTO, A. L. de L.; GRAÇA, J. P. da; ABRÃO, M. Z.; PEREIRA, S. dos S.; SILVA, D. C. G. da; NEPOMUCENO, A. L.; ABDELNOOR, R. V.; YAMANAKA, N. Estudos preliminares relacionados ao metabolismo de resistência e tolerância à ferrugem asiática da soja. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 2., 2006, Londrina. **Resumos expandidos**. Londrina: Embrapa Soja, p. 186-191. (Embrapa Soja. Documentos, 276), 2006.

PIEROZZI, P.H.B.; RIBEIRO, A.S.; MOREIRA, J.U.V.; LAPERUTA L.D.C.; RACHID, B.F.; LIMA, W.F.; ARIAS, C.A.A.; OLIVEIRA M.F.O.; TOLEDO, J.F.F. New soybean (*Glycine max* Fabales, Fabaceae) sources of qualitative genetic resistente to Asian soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* (Uredinales, Phakopsoraceae). **Genetics and Molecular Biology**, v.31, n.2, p. 505-511, 2008.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**., 5th edition. Sunderland: Sinauer Associates, Inc., 2010. 782 p.

WALKER, D.R.; HARRIS, D.K.; KING, Z.R.; LI, Z.; PHILLIPS, D.V.; BUCK, J.W.; NELSON, R.L.; BOERMA, H.R. Soybean germplasm accession seedling reactions to soybean rust isolates from Georgia. **Crop Science**, v. 54, p. 1433-1447, 2014

YAMAOKA, Y.; FUJIWARA, Y.; KAKISHIMA, M.; KATSUYA, K.; YAMADA, K.; HAGIWARA, H. Pathogenic races of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and wild host plants collected in Japan. **Journal of General Plant Pathology**. v. 68, n. 1, p. 52-56, 2002.

Tabela 1. Avaliação fenotípica dos genótipos de soja inoculados com *P. pachyrrhizi* avaliada pela percentagem ferrugem, tipo de lesão, esporulação e presença ou ausência de genes de resistência.

Genótipos	(%) Severidade	Lesão	Esporulação	Genes <i>Rpps</i>
PI 567102 B	12,5	RB	1	<i>Rpp 6</i>
PI 417 116	22,5	TAN	0,5	-----
PI 594172 A	25	TAN	0,75	-----
PI 615445	27,5	TAN	1	-----
PI 507259	30	RT	1	-----
PI 567046 A	31,25	RT	1	-----
PI 200492	32,5	TAN	1	<i>Rpp 1</i>
PI 617045	47,5	TAN	2,75	-----
PI 224270	48,75	RB	0,5	<i>Rpp 2</i>

* RB – resistente; TAN – suscetível; RT - predomínio de RB, com menos TAN; TR - predomínio de TAN, com menos RB; A esporulação foi medida de notas de 0 (sem esporulação) a 3 (maior esporulação) e a porcentagem (%) de ferrugem estimada através de escala diagramática da FAS. (GODOY et al., 2006_b).

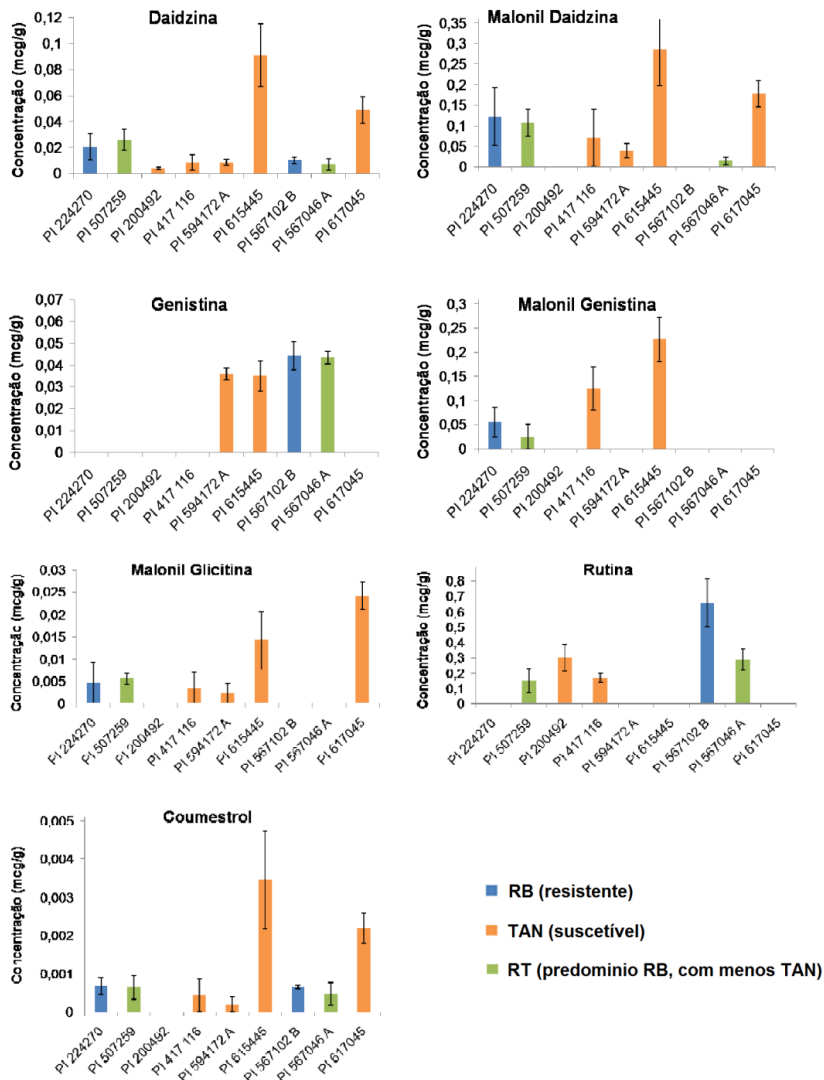


Figura 1. Concentração das isoflavonas daidzina, malonil-daidzina, genistina, malonil-genistina, malonil-glicitina, rutina e coumestrol em genótipos de soja inoculadas com ferrugem asiática. Médias e erro padrões.

Mecanismos de resposta da cultivar de soja BR 16 submetida ao déficit hídrico

SILVA, T. W. ¹; MARINHO, J. P. ²; BARBOSA, D. A. ³; PASSOS, G. P. ⁴; FERREIRA, L. C. ⁵; MORAES, L. A. C. ⁶; MERTZ-HENNING, L. M. ⁶; NEPOMUCENO, A. L. ⁶; FARIAS, J. R. B. ⁶; NEUMAIER, N. ⁶

¹Universidade Norte do Paraná - Bolsista PIBIC/CNPq - Brasil, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ²Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná. ³Universidade Estadual do Norte do Paraná - Bolsista Embrapa, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁴Universidade Norte do Paraná - Bolsista Embrapa, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁵Pós doutorando/CNPq, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁶Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. E-mail: tiagowilliam_89@hotmail.com

Introdução

De todos os fatores relacionados à produção agrícola, os estresses abióticos, como seca, temperaturas extremas (alta ou baixa) e baixa luminosidade, são os de mais difícil controle, prejudicando a obtenção de altos rendimentos. Dentre esses estresses, a disponibilidade hídrica é considerada o fator climático de maior efeito sobre a produtividade agrícola (FIOREZE et al., 2011). A soja recupera rapidamente a função estomática com a atenuação do estresse hídrico, sendo essa uma importante resposta adaptativa das plantas à seca (FERRARI et al.,

2015). Entretanto, ainda assim, quando ocorrem períodos severos de seca durante a fase vegetativa, há redução do crescimento da planta, com diminuição da área foliar e do rendimento dos grãos (FARIAS et al., 2007).

A prolina é um aminoácido que desempenha importante papel adaptativo na tolerância das plantas ao estresse. Durante situações de seca e alta salinidade, seu acúmulo resulta no aumento na osmolaridade da célula, o que leva ao influxo de água ou redução no efluxo, desta forma promovendo a manutenção do turgor necessária para a expansão celular. Ainda sob condições de estresse osmótico, a unidade das membranas deve ser mantida a fim de se evitar a desnaturação proteica. Neste sentido, a prolina interage com enzimas e outras proteínas preservando suas estruturas e atividades (SILVA, 2012).

Entender os mecanismos de resposta para a aclimação da soja quando submetida ao déficit hídrico torna-se um fator importante para estudos posteriores que visem o desenvolvimento de genótipos tolerantes a esse estresse. Assim, o presente estudo objetivou avaliar os mecanismos de aclimação da cultivar BR 16, sensível à seca (OYA et al., 2004), quando submetida ao déficit hídrico no período vegetativo.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na Embrapa Soja, sob condições de casa de vegetação. A cultivar de soja utilizada foi a BR 16. Inicialmente, realizou-se a semeadura em laboratório, em papel *Germitest*[®] umedecido por um período de quatro dias. Posteriormente, plântulas normais e de tamanho uniforme foram transferidas para vasos de 1L preenchidos com a mistura substrato: areia (1:1), com o substrato constituído de terra: areia: composto orgânico (3:2:2), de modo que cada vaso conteve uma única plântula. As plântulas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura programada a $28 \pm 2^\circ\text{C}$. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com nove repetições. Foram utilizados três tratamentos, controle (CO), déficit

hídrico (DH) e reidratação (RH). O estresse por déficit hídrico foi aplicado quando as plantas se encontravam no estádio V4, por meio de suspensão da irrigação, seguindo a metodologia descrita em Marinho (2014), enquanto a condição controle correspondeu à manutenção do substrato a 100% da capacidade de campo. O tratamento de reidratação consistiu na manutenção das plantas em estresse hídrico por 17 dias, seguida de sua reidratação por 7 dias.

No sétimo dia de déficit hídrico, medidas de trocas gasosas - taxa fotossintética (A), concentração intercelular de CO_2 (Ci) e condutância estomática (gs) - foram realizadas no folíolo central do terceiro trifólio completamente expandido - sentido ápice-base - por meio de um analisador portátil de fotossíntese (LI-6400XT, LI-COR), com uma fonte de luz 90% vermelha + 10% azul e câmara de 2 cm^2 . As medições foram realizadas no interior da casa de vegetação, entre 9 e 11h e em boas condições de luminosidade, considerando-se as seguintes condições: radiação fotossinteticamente ativa (PAR), 1000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; referência de CO_2 , 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$; referência de água, 18-20 mmol mol^{-1} ; fluxo de CO_2 , 400 $\mu\text{mol s}^{-1}$. Posteriormente, coletou-se o trifólio avaliado, o qual foi embalado em papel alumínio, imerso em nitrogênio líquido e armazenado a -80 °C para posterior quantificação do conteúdo de prolina (BATES et al., 1973).

Para avaliação do rendimento, as plantas dos tratamentos CO e DH foram transferidas para vasos de 8L contendo o mesmo substrato descrito anteriormente e mantidas sob irrigação constante até o final do ciclo para determinação da massa seca de grãos.

Tendo em vista que as pressuposições da análise de variância (ANOVA) foram atendidas, os dados foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados e discussão

A cultivar BR 16 apresentou maior concentração de prolina quando submetida ao déficit hídrico (Tabela 1). Nas alterações metabólicas ocorridas durante o estresse hídrico, o acúmulo de prolina atua no

ajustamento osmótico, na estabilização de estruturas subcelulares, na eliminação de radicais livres e na constituição de um estoque de nitrogênio e carbono utilizados em período de estresse (ALVARENGA et al., 2011).

Além disso, observou-se que, quando as plantas foram submetidas ao déficit hídrico, houve diminuição da condutância estomática (g_s) (Tabela 1), confirmando a ocorrência do estresse hídrico, o qual corresponde a valores de g_s inferiores a $0,2 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (FLEXAS et al., 2004; SALINET, 2009). A alteração na abertura dos estômatos é um dos mecanismos de adaptação à falta de água nas plantas, as quais, sob déficit hídrico, fecham os estômatos de maneira a reduzir a perda de água para o ambiente (MORANDO et al., 2014).

A fotossíntese (Tabela 1) também apresentou menores valores quando as plantas foram submetidas ao déficit hídrico. Em condições de estresse hídrico severo, ocorre o fechamento dos estômatos e consequentemente menor assimilação líquida de CO_2 , afetando o processo fotossintético. No entanto, estresses hídricos moderados não atrapalham as reações fotossintéticas no cloroplasto (FERRARI et al., 2015).

Embora as plantas tenham apresentado sintomas de déficit hídrico sob condições de estresse por seca como a redução nas medidas de trocas gasosas, após as mesmas serem submetidas à reidratação os valores retornaram próximos ao controle, inclusive com maior fotossíntese (Tabela 1), confirmando estudos prévios que indicam a rápida recuperação da soja quando submetidas a períodos curtos de déficit hídrico (FERRARI et al., 2015).

Em relação à massa seca de grãos (Tabela 2), observou-se que o estresse hídrico ocorrido durante o período vegetativo não resultou em diferenças na massa seca de grãos, indicando que dependendo do período e da intensidade com que o estresse hídrico ocorre, a soja pode se adaptar ao estresse sem prejuízos ao rendimento. De acordo com Desclaux et al. (2000), o estresse por seca pode levar à redução

no peso dos grãos de soja durante o período de enchimento, desta forma afetando sua massa seca (DESCLAUX et al., 2000), fato não observado no presente estudo.

Conclusão

A cultivar de soja BR16 apresentou aumento no conteúdo de prolina e redução na condutância estomática e na taxa fotossintética quando submetida ao estresse por déficit hídrico.

Não foram observadas diferenças no rendimento quando a cultivar foi submetida ao estresse por déficit hídrico no período vegetativo.

Referências

- ALVARENGA, I. C. A.; QUEIROZ, G. A.; HONÓRIO, I. C. G.; VALADARES, R. V.; MARTINS, E. R. Prolina livre em alecrim-pimenta sob estresse hídrico antes da colheita. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, p.539-541, 2011.
- BATES, L. S.; WALDREN R. P.; TEARE I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant Soil**, v. 39, p. 205-207, 1973.
- DESCLAUX, D.; HUYNH, T.; ROUMET, P. Identification of soybean plant characteristics that indicate the timing of drought stress. **Crop Science**, v. 40, n. 3, p. 716-722, 2000.
- FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 8 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 48).
- FIOREZE, S. L.; PIVETTA, L. G.; FANO, A.; MACHADO, F. R.; GUIMARÃES, V. F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, v. 58, p. 342-349, 2011.

FERRARI, E.; PAZ, A.; SILVA, A. C. Déficit hídrico no metabolismo da soja em semeaduras antecipadas no Mato Grosso. **Pesquisas Agrárias e Ambientais**, v. 3, p. 67-77, 2015.

FLEXAS, J.; BOTA, J.; LORETO, F.; CORNIC, G.; SHARKEY, T. D. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. **Plant Biology**, v. 6, p. 269–279, 2004.

MORANDO, R.; SILVA, A. O.; CARVALHO, L. C.; PINHEIRO, M. P. M. A. Déficit hídrico: efeito sobre a cultura da soja. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 3, p. 114-129, 2014.

OYA, T.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; TOBITA, S.; ITO, O. Drought tolerance characteristics of brazilian soybean cultivars - evaluation and characterization of drought tolerance of various Brazilian soybean cultivars in the field. **Plant Production Science**, v. 7, n. 2, p. 129-137, 2004.

SALINET, L. H. **Avaliação fisiológica e agrônômica de soja geneticamente modificada para maior tolerância à seca**. 2009. 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - USP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.

SILVA, R. de C. B. da. **Germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de melancia submetidas ao aumento do CO₂, temperatura e salinidade**. 2012. 88f. Dissertação (Mestrado em Horticultura Irrigada) - Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro.

Tabela 1. Concentração de prolina, condutância estomática (g_s) e fotossíntese (A) da cultivar BR 16 sob condições controle (CO), déficit hídrico (DH) e reidratação (RH).

Tratamentos	Prolina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
CO	15,20b	0,31a	12,43b
DH	50,74a	0,01b	1,17c
RH	16,12b	0,26a	16,49a
CV (%)	4,93	24,64	19,96

Letras que diferem na coluna apresentam diferença significativa pelo teste Tukey 5% ($p \leq 0,05$).

Tratamentos	Massa Seca Grãos (g)
Controle	6,85 ns
Déficit Hídrico	5,99
CV %	24,83

Tabela 2. Massa seca de grãos da cultivar de soja BR16 submetida ao déficit hídrico durante o período vegetativo.

Ns – Não significativo pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$).

Atributos físicos de um Latossolo Vermelho em função da escarificação e gessagem

AGASSI, V. J.¹, CHICOWSKI A. S², CECCATTO, S. E.¹, BALBINOT JUNIOR, A. A.³; FRANCHINI, J. C.³; DEBIASI, H.³; SANTOS, E. L.¹

¹Centro Universitário Filadélfia – UNIFIL, Campus Palhano, Londrina-PR, victor_agassi@hotmail.com; ²Universidade Norte do Paraná, UNOPAR, Londrina-PR; ³Embrapa Soja.

Introdução

O sistema plantio direto (SPD) constitui-se em uma das práticas de conservação de solo mais importantes para a sustentabilidade dos agroecossistemas brasileiros. No entanto, pesquisas têm indicado a existência de camadas de solo com maior grau de compactação, localizadas geralmente entre 0,1 e 0,2 m de profundidade (FRANCHINI et al., 2011). A compactação pode aumentar a resistência do solo ao crescimento das raízes e reduzir a porosidade total, a macroporosidade, a capacidade de infiltração de água, a aeração e a condutividade hidráulica do solo a valores capazes de limitar a produtividade das culturas, principalmente em anos secos (TORRES & SARAIVA, 1999).

Práticas mecânicas como a escarificação têm sido indicadas como alternativa ao rompimento de camadas compactadas de solo no SPD, embora seus efeitos geralmente persistam por um período curto, igual ou inferior a um ano (VEIGA et al., 2007). A escarificação também traz consequências como a desagregação do solo, ocasionando aumento do volume de macroporos e maior drenagem de água no perfil para fora da zona radicular, o que reduz o armazenamento de água disponível às plantas.

A aplicação de gesso agrícola tem sido indicada para aumento dos teores de enxofre e de cálcio e neutralização do alumínio tóxico em camadas subsuperficiais do solo, o que proporciona um ambiente químico favorável ao crescimento radicular das culturas. O gesso agrícola pode atuar ainda como condicionador da estrutura do solo, por ter um efeito floculante, promovendo a reagregação das argilas dispersas em água e reduzindo a resistência mecânica do solo à penetração - RP (NUERNBERG et al., 2005). Entretanto, a real magnitude dos efeitos da gessagem sobre a qualidade estrutural do solo é pouco conhecida, principalmente, quando associada à escarificação.

A hipótese desse trabalho é que a associação da escarificação com a aplicação de gesso agrícola no SPD contribui para a redução do estado de compactação do solo e, em consequência, aumenta a produtividade da soja. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os atributos físicos de um Latossolo Vermelho sob SPD em função da escarificação e gessagem.

Materiais e métodos

O experimento foi conduzido na área experimental do Curso de Agronomia da UNIFIL – Campus Palhano, em Londrina, PR, sobre um Latossolo Vermelho distroférrico muito argiloso. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com parcelas subdivididas, três repetições e esquema fatorial 2 x 2. O primeiro fator (parcelas principais) foi o sistema de manejo do solo (SPD e SPD escarificado em

maio/2014) e o segundo (subparcelas), a aplicação de gesso agrícola (com e sem gesso agrícola). A dose de gesso foi calculada conforme TECNOLOGIAS... (2014), a partir do teor de argila, sendo equivalente a $3,5 \text{ Mg ha}^{-1}$. O gesso foi distribuído a lanço e em superfície em maio/2014, antes da escarificação. As parcelas mediram 10 m de comprimento e 5,0 m de largura, totalizando 50 m^2 , e a área foi ocupada pela cultura do trigo durante o inverno.

A soja, cultivar NA 5909 RG, foi semeada em 20/11/14 em espaçamento de 0,45 m, com adubação de 350 kg ha^{-1} da fórmula 04-14-08. As sementes de soja foram tratadas com Standak (2 mL kg^{-1} de sementes) e inoculadas com inoculante líquido Gelfix 5[®] (2 mL kg^{-1} de sementes). O controle de pragas, doenças e plantas daninhas foi efetuado conforme as indicações técnicas para a cultura. A colheita da soja foi realizada em 12/03/15, de maneira que foram colhidas duas linhas de 3 m em cada parcela, totalizando $2,7 \text{ m}^2$ de área útil. Após trilha, os grãos foram pesados e a produtividade corrigida para 13% de umidade.

Em março/2015, amostras de solo com estrutura preservada foram coletadas em três camadas (0-0,1; 0,1-0,2; e 0,2-0,3 m de profundidade) de todas as parcelas, usando anéis de aço inox com volume de 100 cm^3 . Os anéis foram inseridos verticalmente no solo por meio de dispositivo amostrador acoplado a uma camionete, totalizando 108 amostras. Em laboratório, as amostras foram utilizadas para a determinação da densidade do solo, da porosidade total, macroporosidade e microporosidade, conforme metodologias descritas em EMBRAPA (1997). Após equilíbrio em mesa de tensão a -6 kPa , as amostras contidas nos anéis foram utilizadas para determinação da RP, por meio de penetrógrafo de bancada equipado com cone de $12,56 \text{ mm}^2$ de área da base e ângulo de 60° , a uma velocidade de inserção de 20 mm min^{-1} .

Os dados foram submetidos à análise de variância (Teste F, $p < 0,05$), realizada com o auxílio do programa Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2008).

Resultados e discussão

A interação entre gessagem e escarificação não foi significativa para os atributos físicos avaliados em todas as camadas amostradas (teste F, $p < 0,05$). Isto significa que a aplicação de gesso agrícola não alterou a resposta do grau de compactação do solo à escarificação no SPD.

Na camada de 0,0-0,1 m, não houve efeito da escarificação e da gessagem sobre a RP, macroporosidade, microporosidade, porosidade total e densidade do solo (Tabela 1). Portanto, o estado de compactação do solo na camada de 0,0-0,1 m não foi alterado pela gessagem e pela escarificação. Os resultados evidenciam ainda o início do processo de recompactação do solo decorridos 10 meses após a escarificação, o que pode ser atribuído principalmente às pressões aplicadas na superfície do solo pelo tráfego de máquinas agrícolas e ao impacto das gotas de chuva.

Os atributos físicos do solo na camada de 0,1-0,2 m também não foram significativamente influenciados pela gessagem (Tabela 2). Entretanto, nessa mesma camada, a escarificação reduziu significativamente o grau de compactação do solo em relação ao SPD não escarificado, o que é comprovado pelos menores valores de RP, microporosidade e densidade do solo, e maiores valores de macroporosidade. Assim, os dados obtidos neste trabalho indicam que os efeitos da escarificação sobre os atributos físicos na camada de 0,1-0,2 m persistiram por pelo menos 10 meses. MORAES (2013) também obteve menor grau de compactação no SPD escarificado em relação ao SPD não escarificado na camada de 0,01-0,2 m aos 10 meses após a escarificação, porém, esses efeitos desapareceram completamente decorridos 22 meses após a descompactação mecânica.

Na camada de 0,20-0,30 m, a gessagem novamente não influenciou significativamente os atributos físicos avaliados (Tabela 3). Nesta camada, a escarificação não alterou significativamente a RP, a porosidade total e densidade do solo (Tabela 3). Em contrapartida, a distribuição de tamanho de poros foi significativamente alterada

pela escarificação, com o aumento da macroporosidade e redução da microporosidade nos tratamentos escarificados.

Não houve efeito significativo da aplicação de gesso agrícola no SPD sobre a produtividade de grãos da soja (Tabela 4). Mesmo tendo resultado em menor grau de compactação do solo nas camadas de 0,1-0,2 m e 0,2-0,3 m, a escarificação não aumentou significativamente a produtividade de grãos de soja (Tabela 4). Isto demonstra que o grau de compactação do solo nas camadas de 0,1-0,2 m e 0,2-0,3 m não foi limitante à produtividade da soja. Tal constatação é respaldada pelos resultados obtidos por MORAES et al. (2014), que obtiveram valores críticos de RP em SPD consolidado equivalentes a 3,5 MPa, superiores aos encontrados neste trabalho (média de 1,60 MPa nas camadas de 0,1-0,2 m e 0,2-0,3 m).

Conclusão

O estado de compactação do solo no SPD não é alterado pela aplicação de gesso agrícola, independentemente da escarificação ou não do solo.

A escarificação reduz o grau de compactação do solo sob SPD, sendo esses efeitos ainda perceptíveis 10 meses após a sua realização, nas camadas de 0,1-0,2 m e 0,2-0,3 m.

Referências

EMBRAPA. **Manual de métodos e análise de solo**. 2 ed. Rio de Janeiro: EMBRAPA - CNPS, 1997. 212 p.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v. 6, p. 36-41, 2008.

FRANCHINI, J. C. COSTA, J. M.; DEBIASI, H.; TORRES, E. **Importância da rotação de culturas para a produção agrícola sustentável no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 327).

MORAES, M. T. **Qualidade física do solo sob diferentes tempos de adoção e de escarificação do sistema plantio direto e sua relação com a rotação de culturas.** 205 f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal de Santa Maria, 2013.

MORAES, M. T.; DEBIASI, H.; CARLESSO, R.; FRANCHINI, J. C.; SILVA, V. R. Critical limits of soil penetration resistance in a Rhodic Eutrudox. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 288-298, 2014

NUERNBERG, N.J.; RECH, T.D.; BASSO, C. **Usos do gesso agrícola.** 2.ed. Florianópolis: Epagri, 2005. 36 p. (Epagri. Boletim Técnico, 122).

Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2013. 265 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 16).

TORRES, E.; SARAIVA, O. F. **Camadas de impedimento mecânico do solo em sistemas agrícolas com a soja.** Londrina: Embrapa Soja, 1999. 58p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 23).

VEIGA, M.; HORN, R.; REINERT, D. J.; REICHERT, J. M. Soil compressibility and penetrability of an Oxisol from southern Brazil, as affected by long-term tillage systems. **Soil & Tillage Research** v. 92, p. 104-113, 2007.

Tabela 1. Atributos físicos de um Latossolo Vermelho na camada de 0,0-0,10 m de profundidade, em função da escarificação e gessagem.

Sistema de Manejo	Gesso		Média
	Com	Sem	
	----- RP (MPa) -----		
SPD	1,19	0,96	1,07 a
ESC	0,89	0,65	0,77 a
Média	1,04 A	0,80 A	
	----- Macroporosidade (m ³ m ⁻³) -----		
SPD	0,12	0,13	0,12 a
ESC	0,13	0,17	0,15 a
Média	0,12 A	0,15 A	
	----- Microporosidade (m ³ m ⁻³) -----		
SPD	0,42	0,41	0,42 a
ESC	0,40	0,39	0,40 a
Média	0,41 A	0,40 A	
	----- Porosidade total (m ³ m ⁻³) -----		
SPD	0,54	0,55	0,54 a
ESC	0,54	0,55	0,54 a
Média	0,54 A	0,55 A	
	----- Densidade (Mg m ⁻³) -----		
SPD	1,16	1,13	1,15 a
ESC	1,11	1,08	1,10 a
Média	1,14 A	1,11 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não se diferem significativamente (Teste F, $p < 0,05$).

Tabela 2. Atributos físicos de um Latossolo Vermelho na camada de 0,10-0,20 m de profundidade, em função da escarificação e gessagem.

Sistema de manejo	Gesso		Média
	Com	Sem	
----- RP (MPa) -----			
SPD	1,61	1,57	1,59 a
ESC	0,98	1,07	1,02 b
Média	1,30 A	1,32 A	
----- Macroporosidade (m ³ m ⁻³) -----			
--			
SPD	0,05	0,06	0,06 a
ESC	0,10	0,10	0,10 b
Média	0,07 A	0,08 A	
----- Microporosidade (m ³ m ⁻³) -----			
--			
SPD	0,45	0,44	0,45 a
ESC	0,42	0,43	0,43 b
Média	0,43 A	0,44 A	
----- Porosidade total (m ³ m ⁻³) -----			
-			
SPD	0,50	0,51	0,50 a
ESC	0,52	0,53	0,52 b
Média	0,51 A	0,52 A	
----- Densidade (Mg m ⁻³) -----			
SPD	1,31	1,27	1,29 a
ESC	1,20	1,19	1,20 b
Média	1,25 A	1,23 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não se diferem significativamente (Teste F, $p < 0,05$).

Tabela 3. Atributos físicos de um Latossolo Vermelho na camada de 0,20-0,30 m de profundidade, em função da escarificação e gessagem.

Sistema de manejo	Gesso		Média
	Com	Sem	
----- RP (MPa) -----			
SPD	1,54	1,66	1,60 a
ESC	1,32	1,52	1,42 a
Média	1,43 A	1,59 A	
----- Macroporosidade (m ³ m ⁻³) -----			
-			
SPD	0,04	0,03	0,03 b
ESC	0,06	0,05	0,06 a
Média	0,05 A	0,04 A	
----- Microporosidade (m ³ m ⁻³) -----			
-			
SPD	0,48	0,48	0,48 a
ESC	0,46	0,47	0,46 b
Média	0,47 A	0,48 A	
----- Porosidade total (m ³ m ⁻³) -----			
--			
SPD	0,52	0,51	0,52 a
ESC	0,52	0,52	0,52 a
Média	0,52 A	0,52 A	
----- Densidade (Mg m ⁻³) -----			
-			
SPD	1,28	1,29	1,28 a
ESC	1,22	1,25	1,24 a
Média	1,25 A	1,27 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não se diferem significativamente (Teste F, $p < 0,05$).

Tabela 4. Produtividade de grãos de soja (kg ha⁻¹) cultivar NA 5909 RR, submetida a diferentes condições de manejo do solo.

Gessagem	Preparo do solo		Média
	Escarificado	SPD ¹	
Com gesso	2968	2778	2873 a
Sem gesso	2837	2769	2803 a
Média	2902 A	2774 A	

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não se diferem significativamente (Teste F, $p < 0,05$).

Controle de qualidade de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) por diferentes gerações.

QUEIROZ, A. P.¹; BUENO, A. F.²; FERNANDES, A. P.³; BRAZ, E. C.⁴; SILVA, G.V.⁵; SILVA, D. M.⁶; GRANDE, M. L. M.⁷

¹Instituto Agronômico do Paraná, ²Pesquisador Embrapa Soja, ³Universidade Federal da Fronteira do Sul., ⁴Universidade Norte do Paraná, ⁵Universidade Estadual de Londrina, ⁶Instituto Agronômico do Paraná. Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina-PR, anna.paullaqueiroz@hotmail.com.

Introdução

A produção de inimigos naturais em hospedeiros alternativos com capacidade de controlar a praga-alvo semelhante aos agentes de controle biológico encontrados na natureza é uma das principais metas em laboratórios de criação, que atendem diferentes programas de controle biológico aplicado. Portanto, o controle de qualidade é um dos fatores determinantes para o sucesso desses laboratórios de criação, sendo a qualidade total do inimigo natural definida como sua

capacidade de controlar a praga após a liberação em campo (Clarke & McKenzie, 1992). Entretanto, muitas vezes, essa avaliação da capacidade do inimigo natural requer muito tempo e trabalho, o que pode inviabilizar sua realização. Por isso, testes rápidos, geralmente laboratório, que possam representar de forma satisfatória a qualidade do inseto produzido, são sempre desejáveis, pois viabiliza o controle de qualidade em criações massais de inimigos naturais (Van Lenteren, 1992). A Organização Internacional de Controle Biológico (IOBC) - Global Working Group: "Quality Control of Mass Reared Arthropods" - recomenda no controle de qualidade de parasitoides de ovos produzidos em laboratório, a avaliação das variáveis: longevidade, parasitismo e atividade de voo, como sendo suficientes para manter o padrão de qualidade necessário na criação massal desses insetos (van Lenteren, 2003).

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide exclusivo de ovos de lepidópteros, utilizado na Ásia e nas Américas para controle de pragas na cultura do milho. Esse parasitoide apresenta elevada taxa reprodutiva, o que o torna um ótimo agente de controle biológico de insetos-pragas, particularmente os do gênero *Spodoptera* (Cave, 2000). Seu desenvolvimento em ovos de *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) foi relatado por Kumar et al. (1986) e mais recentemente comprovado por Pomari et al. (2013). Esse hospedeiro alternativo pode ser facilmente criado em laboratório em larga escala com menor custo, em relação à criação do hospedeiro natural, *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae). Portanto, o controle de qualidade é uma ferramenta fundamental na produção massal desse inimigo natural em laboratório. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de parasitismo, morfometria e a atividade de voo de *T. remus*, provenientes de ovos de *C. cephalonica*, por três diferentes gerações (F₃₅, F₄₀ e F₄₅), a fim de determinar a qualidade dos parasitoides produzidos neste hospedeiro alternativo.

Material e métodos

Três experimentos independentes foram conduzidos no laboratório de entomologia/parasitoides de ovos da Embrapa Soja, Londrina – PR em condições controladas (T: $25 \pm 2^\circ\text{C}$; UR: $80 \pm 10\%$; Fotoperíodo: 14/10 h C/E).

Primeiro bioensaio: Avaliou-se a capacidade de parasitismo de *T. remus* em ovos de *S. frugiperda*, após ser criado em ovos de *C. cephalonica* por sucessivas gerações. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos (parasitoide criado em *C. cephalonica* por 35, 40 e 45 gerações) e 6 repetições ($n = 5$) com 5 fêmeas de *T. remus* individualizadas/repetição. Fêmeas de *T. remus* recém emergidas (até 24h) foram individualizadas em tubos do Tipo Duran previamente alimentadas. Aproximadamente 100 ovos de *S. frugiperda* foram colados diaramente em cartelas de papel e ofertadas as fêmeas de *T. remus* de acordo com os respectivos tratamentos, sendo o parasitismo permitido por 24 horas. Os parâmetros biológicos avaliados foram: porcentagem de emergência (viabilidade), longevidade das fêmeas parentais (dias), período ovo-adulto (dias), número de ovos parasitados e parasitismo diário e acumulado. Para determinar o período ovo-adulto foram realizadas observações diárias da emergência.

Segundo Bioensaio: Foi realizada a avaliação morfométrica de *T. remus* em ovos de *C. cephalonica* por sucessivas gerações. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (diferentes gerações F_{35} , F_{40} e F_{45}) e 20 repetições, compostas por um indivíduo adulto mensurado individualmente/repetição. Foram analisados 10 indivíduos fêmeas e 10 indivíduos machos de *T. remus* de acordo com cada tratamento. Para cada exemplar foram realizadas as avaliações morfométricas do comprimento e largura da asa anterior direita, comprimento da tíbia posterior direita e comprimento do corpo (cabeça até o final do abdômen). Para a aferição dos caracteres morfométricos, primeiramente cada exemplar foi fotografado em um microscópio estereoscópico (Leica Application

Suite – Version 1.6.0). Após este procedimento, os caracteres dos exemplares foram medidos utilizando-se o programa Image J – Version 1.47.

Terceiro Bioensaio: Foi avaliada a capacidade de voo de *T. remus* provenientes de ovos do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, por diferentes gerações através do teste de voo. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos: *T. remus* proveniente de *S. frugiperda* (controle) e parasitoides de 3 diferentes gerações provenientes de *C. cephalonica* (F₃₅, F₄₀ e F₄₅) e 10 repetições. Para a realização teste de voo foi utilizado o modelo adaptado pela ESALQ- USP (Prezotti et al., 2002). Cada repetição recebeu, em média, 300 ovos parasitados, prestes a emergência do parasitoide, sendo as unidades-testes colocadas sobre uma bancada de ferro, diretamente abaixo de fonte de luz, mantidas por três dias. Posteriormente a esse período, foi avaliada a porcentagem de insetos “voadores”, “caminhadores” e “deformados” capturados na gaiola padrão do teste (Prezotti et al., 2002).

Os resultados obtidos nos três bioensaios foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (Shapiro & Wilk 1965), homogeneidade de variância dos tratamentos (Burr & Foster 1972) para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade (SAS Institute, 2001).

Resultados e discussão

O número de ovos parasitados por *T. remus* em ovos de *C.cephalonica* nas três gerações avaliadas não diferiu, sendo obtidos índices de parasitismo semelhante para todas as gerações estudadas (F₃₅, F₄₀ e F₄₅). No entanto, para o período ovo-adulto houve diferença entre as gerações F₄₀ e F₄₅ (15 e 13 dias) respectivamente. Quanto à viabilidade dos ovos parasitados, a longevidade das fêmeas parentais e a razão sexual não diferiu entre as gerações avaliadas (Tabela 1). Valores semelhantes foram encontrados para *T. remus* em ovos de *S.*

frugiperda, hospedeiro natural, e de outras espécies do mesmo gênero (Bueno et al., 2008; Pomari et al., 2012). Com relação a redução do período de desenvolvimento do parasitoide (ovo-adulto) na geração F₄₅, isto pode indicar uma possível adaptação de *T. remus* aos ovos de *C. cephalonica*. Por se tratar de um hospedeiro nutricionalmente inferior ao hospedeiro natural, o parasitoide necessitaria, assim, de um maior período para completar o desenvolvimento (Grenier, 1994).

Para as três gerações avaliadas (F₃₅, F₄₀ e F₄₅) a maior taxa de parasitismo ocorreu nas primeiras 24 horas e o número médio de ovos parasitados foi de aproximadamente 40, 75 e 75, respectivamente (Figura 2). O parasitismo diário decresceu ao longo da vida das fêmeas de *T. remus*, em todas as gerações, mostrando que o parasitismo tende a diminuir ao longo do tempo. Em relação ao parasitismo acumulado, as fêmeas de *T. remus*, parasitando ovos de *C. cephalonica* proveniente da geração F₄₀ atingiu 80% de seu parasitismo no 2^a dia, enquanto na geração F₄₀ e F₄₅ atingiram já a partir do primeiro dia de parasitismo (Figura 2). Assim, foi possível verificar que as primeiras 24 horas correspondem ao período de maior parasitismo de fêmeas de *T. remus*, e esses dados corroboram os encontrados por Pomari et al. (2012). Porém, as fêmeas deste parasitoide têm tendência a diminuir o número de ovos colocados diariamente (parasitismo diário), podendo desta forma afirmar-se que o parasitismo tende a decrescer com o passar do tempo.

No teste morfométrico, foi observada diferença apenas no comprimento da asa para as três gerações avaliadas, sendo que, os parasitoides provenientes da geração F₄₀ e F₄₅ apresentaram o comprimento da asa maior que a geração F₃₅ com médias de 0,51; 0,48 e 0,47 mm, respectivamente (Tabela 1). Quando comparada as diferenças morfométricas entre machos e fêmeas de *T. remus*, fêmeas, em geral, apresentaram medidas superiores as dos machos para o comprimento do corpo, com médias de 0,53 e 0,49 mm, respectivamente. Os outros parâmetros morfológicos não apresentaram diferenças entre os sexos (Tabela 2). As dimensões do parasitoide estão diretamente ligadas ao

tamanho do hospedeiro de criação (Gautum, 1986). Desta forma, a redução do tamanho das asas de *T. remus* pode ser explicada pelas diferentes dimensões dos ovos de *C. cephalonica* em relação ao do hospedeiro natural.

A porcentagem média de *T. remus* “voadores” provenientes de ovos de *S. frugiperda* e *C. cephalonica*, em três gerações diferiu para hospedeiro natural, *S. frugiperda*, e apenas para *C. cephalonica* proveniente da geração F₄₅, sendo obtida uma média de 90%. Quanto aos “caminhadores”, a maior porcentagem foi para os indivíduos que desenvolveram nos ovos de *C. cephalonica* nas gerações F₄₀ e F₃₅ com valores de 19,35 e 13,54% respectivamente. A porcentagem de “deformados”, em relação aos “caminhadores”, diferiu entre os hospedeiros, sendo que, *T. remus* provenientes de *C. cephalonica* nas três gerações avaliadas apresentaram maior porcentagem de indivíduos com deformações nas asas.

Sendo assim, a utilização do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, afetou a atividade de voo de *T. remus* nas gerações analisadas, possivelmente pelo fato da redução nas dimensões da asa dos parasitoides neste hospedeiro, entretanto, é importante salientar que a porcentagem média ($\approx 78\%$) de parasitoides “voadores” é ainda considerada alta e semelhante à encontrada por outros autores utilizando a mesma unidade-teste, porém para diferentes linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (Rodrigues et al. 2009; Prezotti et al. 2002)

Conclusão

Levando-se em consideração a capacidade de parasitismo, tamanho do parasitoide e a atividade de voo de *T. remus* criado em ovos do hospedeiro alternativo, *C. cephalonica*, por várias gerações, a utilização deste hospedeiro alternativo apresenta-se eficaz em condições de laboratório, possibilitando sua utilização em criações massais do parasitoide de ovos *T. remus*.

Agradecimentos

A equipe do Laboratório de Parasitoides pela grande contribuição na realização dos trabalhos. A Capes pela bolsa de mestrado do primeiro autor.

Referências

BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDES, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, p.1-6, 2008.

BURR, I.W. & FOSTER, L.A. 1972. **A test for equality of variances**. West Lafayette. University of Purdue, 26p.

CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol**, Dordrecht, v.21, n.1, p. 21-26, 2000.

CLARKE, G.M.; MCKENZIE, L.J. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. **Journal Economy Entomology**, Laham, v. 85, p. 2045-2050, 1992.

GAUTUM, R.D. Influence of different noctuid hosts on the parasitisation by *Telenomus remus* Nixon (Scelionidae: Hymenoptera). **Journal of Entomological Research**, New Delhi, v. 10, p. 70-73, 1986.

KUMAR, D.A.; PAWAR, A.D; DIVAKAR, B.J. Mass multiplication of *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae) on *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Galleridae). **Journal of Advanced Zoology**, Gorakhpur, v. 7, p. 21-23, 1986.

PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.). **Trichogramma e o controle biológico aplicado**. Piracicaba: Fealq, p.121-150, 1997.

POMARI, A.F.; BUENO, A.F.; BUENO, R.C.O.F.; MENEZES JUNIOR, A.O. Biological characteristics and thermal requirements of the biological control agent *Telenomus remus* (Hymenoptera: Platygasteridae) reared on eggs of different species of the genus *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Annals of Entomological Society of America**, Knoxville, v. 105, n.1, p.72-81, 2012.

PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCOVSKY, R.; DIAS, C.T.; CRUZ, I.; CHAGAS, M.C.M. Teste de voo como critério de avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Adaptação de metodologia. **Neotropical Entomology**, Londrina, v.31, n.3, p.411-417, 2002.

RODRIGUES, S. M. M.; SAMPAIO, M. V.; MIRANDA, J. E. Avaliação da capacidade de voo, parasitismo e emergência de linhagens de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 749-753, 2009.

Sas Institute. 2001. **SAS user's guide: statistics**, version 8e. Cary, NC: SAS Institute.

SHAPIRO, S.S & WILK, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, London, v. 52, p. 591-611, 1965.

van LENTEREN, J.C. **Quality control and production of biological control agents: theory and testing procedures**. Wallingford: CABI, 2003. 327 p.

Tabela 1. Capacidade de parasitismo de *Telenomus remus* criado em ovos do hospedeiro alternativo, *Corcyra cephalonica*, por diferentes gerações, parasitando ovos de *Spodoptera frugiperda*.

Geração	Número de ovos parasitados ¹	Período ovo-adulto (dias) ¹	Viabilidade (%) ¹	Longevidade das fêmeas (dias) ¹	Razão sexual ¹
F ₃₅	59,6 ± 7,7 ^{ns}	*	99,13 ± 0,26 ^{ns}	5,6 ± 0,3 ^{ns}	0,61 ± 0,04 ^{ns}
F ₄₀	91,1 ± 3,3	15,06 a	99,21 ± 0,15	6,1 ± 0,4	0,62 ± 0,04
F ₄₅	77,6 ± 6,9	13,03 b	98,51 ± 0,40	6,1 ± 0,4	0,56 ± 0,05
CV (%)	14,75	0,28	0,64	12,95	16,39
P	0,0767	<0,0001	0,2005	0,5141	0,6395
F	5,22	6768.89	1,84	0,70	0,46

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Teste de Tukey, $P \leq 0,05$), "ns" indica diferença não significativa pelo teste F ao nível de 5% de significância. *Dados perdidos.

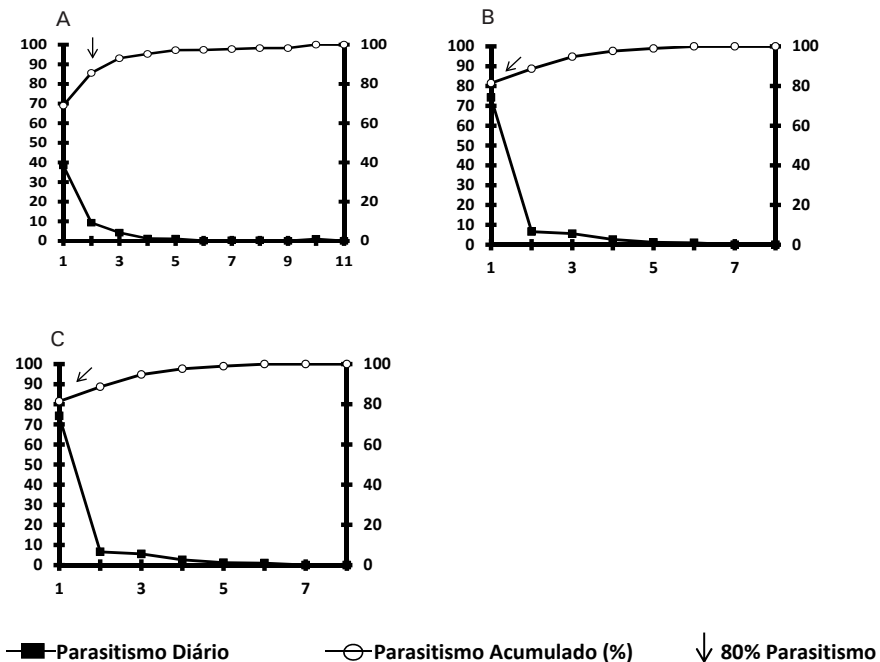


Figura 1. Parasitismo diário e acumulado de *Telenomus remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* por diferentes gerações (A) F₃₅ (B) F₄₀(C) F₄₅. T: 25 ± 2°C; UR: 70 ± 10% e fotofase de 12 h. As setas indicam 80% de parasitismo.

Tabela 2. Tamanho (mm) do parasitoide de ovos *Telenomus remus* quando criado em seu hospedeiro alternativo, *Corcyra cephalonica*, em três gerações distintas.

Geração	Caracteres morfológicos			
	Comprimento da asa ¹	Largura da asa ¹	Comprimento do corpo ¹	Comprimento da tibia ¹
F ₃₅	0,47 ± 0,01 b	1,14 ± 0,00 ^{ns}	0,49 ± 0,01 ^{ns}	0,13 ± 0,00 ^{ns}
F ₄₀	0,48 ± 0,01 ab	1,14 ± 0,00	0,52 ± 0,01	0,13 ± 0,00
F ₄₅	0,51 ± 0,01 a	1,15 ± 0,00	0,52 ± 0,01	0,13 ± 0,00
CV (%)	8,65	10,06	10,79	14,55
P	0,0049	0,3391	0,1086	0,7331
F	5,88	1,10	2,31	0,31

1Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente [Teste de Tukey, P ≤ 0,05, F(GL_{modelo}; GL_{resíduo})].

Tabela 3. Tamanho (mm) de machos/fêmeas do parasitoide de ovos *Telenomus remus* quando criado em seu hospedeiro alternativo, *Corcyra cephalonica*, em três gerações distintas.

Sexo	Caracteres morfológicos			
	Comprimento da asa ¹	Largura da asa ¹	Comprimento do corpo ¹	Comprimento da tibia ¹
Macho	0,48 ± 0,01 ^{ns}	0,15 ± 0,00 ^{ns}	0,49 ± 0,01 b	0,13 ± 0,00 ^{ns}
Fêmea	0,47 ± 0,01	0,14 ± 0,00	0,53 ± 0,01 a	0,13 ± 0,00
CV (%)	8,65	10,06	10,79	14,55
P	0,8518	0,4886	0,0017	0,3113
F	0,04	0,49	10,98	1,04

1Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente [Teste de Tukey, P ≤ 0,05, F(GL_{modelo}; GL_{resíduo})].

Tabela 4. Teste de voo de *Telenomus remus* criados em ovos de *Spodoptera frugiperda* comparado a ovos de *Corcyra cephalonica* por diferentes gerações.

Hospedeiro	Geração	Voadores (%) ¹	Caminhadores (%) ¹	Deformados (%) ¹
<i>S. frugiperda</i>	*	91,61 ± 1,25 a	7,58 ± 1,09 b	0,80 ± 0,26 b
<i>C. cephalonica</i>	F ₃₅	83,20 ± 2,53 bc	13,54 ± 2,15 ab	3,25 ± 0,45 a
<i>C. cephalonica</i>	F ₄₀	77,47 ± 1,79 c	19,35 ± 1,80 a	3,18 ± 0,68 a
<i>C. cephalonica</i>	F ₄₅	89,74 ± 1,74 ab	8,46 ± 1,51 b	1,78 ± 0,37 ab
CV (%)		6,97	23,67	29,16

1Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente (Teste de Tukey, P ≤ 0,05). * *T. remus* criado em ovos de *S. frugiperda* por aproximadamente 250 gerações.

Embrapa

Soja

Ministério da
**Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

CGPE 12141