

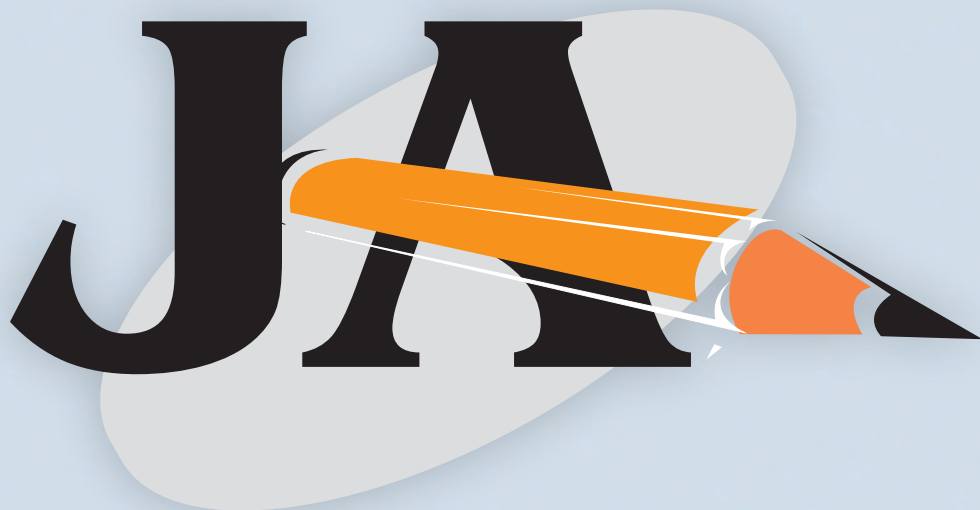
DOCUMENTOS

401

ISSN 2176-2937
Julho / 2018

XIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja

Resumos expandidos



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

DOCUMENTOS 401

XIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja Resumos expandidos

*Hugo Soares Kern
Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite*
Editores Técnicos

***Embrapa Soja
Londrina, PR
2018***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Soja
Rodovia Carlos João Strass, s/n
Acesso Orlando Amaral. Caixa Postal 231
CEP 86001-970 , Distrito de Warta, Londrina, PR
www.embrapa.br/soja
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Soja

Presidente
Ricardo Vilela Abdelnoor

Secretária-Executiva
Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite

Membros
Alvadi Antonio Balbinot Junior, Claudine Dinali Santos Seixas, Fernando Augusto Henning, José Marcos Gontijo Mandarino, Liliane Márcia Mertz-Henning, Maria Cristina Neves de Oliveira, Norman Neumaier e Osmar Conte.

Supervisão editorial
Vanessa Fuzinato Dall'Agnol

Normalização bibliográfica
Ademir Benedito Alves de Lima

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Vanessa Fuzinato Dall'Agnol | Marisa Yuri Horikawa

1ª edição
PDF Digitalizado (2018)

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 (13. : 2018: Londrina, PR).
Resumos expandidos [da] XIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. /
Hugo Soares Kern, Regina Maria Vilas Bôas de Campos Leite, editores técnicos.
Londrina: Embrapa Soja, 2018.
PDF (275 p.) : il. color. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937;
n.401)

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

Ademir Benedito Alves de Lima (CRB 9/530)

CDD 633.34072

© Embrapa, 2018

Editores

Hugo Soares Kern

Relações Públicas

Analista da Embrapa Soja

Londrina, PR

Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite

Engenheira Agrônoma, Dra.

Pesquisadora da Embrapa Soja

Londrina, PR

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 Local de Publicações (CLP) da Embrapa Soja. Além disso, interagem com seus pares e com o público interno da empresa, em um significativo processo de aprendizagem.

Em sua 13ª edição, realizada nos dias 25 e 26 de julho de 2018, a Jornada Acadêmica contou com 36 trabalhos inscritos, cujos resumos expandidos 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 XIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. Aproveitamos, ainda, para parabenizar a todos pelos resultados alcançados.

Ricardo Vilela Abdelnoor

Chefe de Pesquisa e Desenvolvimento da Embrapa Soja

Sumário

Qualidade fisiológica de sementes de soja em função da umidade e rotação de colheita	11
SOUZA, L.S.N. de; BARBOSA, C.A.C.; HENNING, A.A.; KRZYZANOWSKI, F.C.; HENNING, F.A.; CONTE, O.	
Avaliação de injúrias causadas por adultos e ninfas de terceiro ínstar de <i>Euschistus heros</i> e <i>Dichelops melacanthus</i> em milho	19
MACIEL, H.R.; BUENO, A. de F.; GOMES, E.C.; HAYASHIDA, R.	
Eficiência do <i>Baculovirus spodoptera</i> associado com herbicidas no controle de <i>Spodoptera frugiperda</i>	27
DINIZ, N. F.; LUSKI, P. G. G.; QUEIROZ, A. P.; SILVA, N. R. A.; BUENO, A. de F.; NEVES, P. M. O. J.; OLIVEIRA, M. C. N. de	
Avaliação funcional de proteínas candidatas a efetores de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> por meio da análise de espécies reativas a oxigênio (ROS) e deposição de calose.....	38
UTIYAMA, A. S.; ABE, V. Y.; DARBEN, L. M.; CARVALHO, K.; CARVALHO, M. C. C. G. de; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.	
Análise funcional do gene At4g10250 em resposta à infecção por <i>Meloidogyne javanica</i> em <i>Arabidopsis thaliana</i>	46
SILVA, A.G.; HISHINUMA-SILVA, S.M.; LOPES-CAITAR, V.S.; NOMURA, R.G.; DIAS, W.P.; LOPES, I.O.N.; CARVALHO, M.C.C.G.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.	
Métodos para quantificação do teor disponível de K no solo	53
GONÇALVES, S. M.; CORSINO, D. L. M.; KLEINERT, J. J.; GERMANO, M. G.; CASTRO, C. de; OLIVEIRA JUNIOR, A. de	
Avaliação da forma de coleta de folhas para fins de diagnose nutricional da soja	60
OLIVEIRA, S. C. A.; CORSINO, D. L. M.; KLEINERT, J. J.; GERMANO, M. G.; CASTRO, C. de; OLIVEIRA JUNIOR, A. de	

Resposta de cultivares de soja a diferentes níveis de acidez do solo	70
SOUZA, J. J.; MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.	
Crescimento da soja em função de épocas de dessecação de braquiária e adubação nitrogenada.....	75
PASSOS, J. N. N.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; WERNER, F.; FERREIRA, A. S.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.	
The social and economic context of glyphosate-tolerant weeds in Londrina, PR and surrounding municipalities	83
MITTELBERG, T.; MORAES, A. S.	
Eventos como estratégia de comunicação dirigida: uma análise sobre os diferentes eventos organizados pela Embrapa Soja	92
PINHEIRO, A. M.; VILARDO, A. F. L.; KERN, H. S.	
Flutuação populacional de percevejos e visitantes florais em cultivares de soja transgênica Bt e não Bt.....	100
PAIVA, H. C.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.	
Desafio e implementação da coleta de néctar de flores de soja em campo	108
COTRIM, G. S.; TOYAMA, K. S. F.; PARPINELLI, R. S.; TOLEDO, V.A. A.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; GAZZONI, D. L.; NUNES, E. O.	
Eficiência de fungicidas multissítios em mistura com fungicidas sítio-específicos no controle da ferrugem-asiática da soja	115
VIEIRA, L. F.; CASTELLAR, V. L.; GODOY, C.V.	
Teores de ácido oleico e linoleico de aquênios de girassol cultivados na Região Nordeste.....	123
MAZZOLA, L. F.; CARVALHO, C. G. P. de; MANDARINO, J. M. G.; CARVALHO, L. M. de; CARVALHO, H. W. L. de; SILVA, M. R. da; DRUMOND, M. A.; LEITE, R.S.	
Validação do sistema de análise de imagens Vigor-S para a determinação de fitotoxicidades em plântulas de soja.....	130
LEITE, C. A. M.; FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; GOMES JUNIOR, F. G.	
Sensibilidade de isolados de <i>Metarhizium rileyi</i> a fungicidas utilizados para o controle de ferrugem-asiática na soja	138
GONÇALVES, A.C.S.; SOSA-GÓMEZ, D.R.	

Extratos de espécies de <i>Crotalaria</i> e seu potencial no controle do nematoide de cisto	143
EXPOSITO, L.; LOIOLA, G.; POLISELI, C.; SCUPINARI, T.; VERONEZZI, G.; DIAS, W.P.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; LOPES, I. de O.N.; NUNES, E.O.	
Deterioração em pré-colheita: seleção de genótipos e efeito na qualidade de sementes	151
BARBOSA, C. A. C.; SOUZA, L. S. N. de; BRZEZINSKI, C. R.; ABATI, J.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, F. A.	
Proposição de nova escala em fita diamétrica para avaliar o crescimento de árvores de <i>Eucalyptus</i> sp. em sistema de integração	160
ILARIO, A. R.; SANTOS, E. L.; CYRINO, T. C.; VENDRAME, R.; DEBIASI, H.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; FRANCHINI, J. C.	
Infiltração de água do solo afetada pelo sentido de semeadura e compactação sob chuva simulada	166
SANTANA, P. S.; SANTOS, E. L.; VENDRAME, R.; CONTE, O.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.	
Compactação ocasionada por tráfego de trator em um Latossolo Vermelho sob Sistema Plantio Direto e escarificado	174
SORIANI, R.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; FREGONEZI, G. A. F.	
Caracterização da resistência em populações das pragas de grãos armazenados <i>Tribolium castaneum</i> , <i>Oryzaephilus surinamensis</i> e <i>Lasioderma serricorne</i> ao inseticida deltametrina	182
MONICO, N. A.; LORINI, I.; QUIRINO, J. R.; ROSA, E. S.; SOUZA, T. A.; QUEIROZ, C. A. R.	
Infiltração de água no solo em diferentes sistemas de manejo na região norte do Paraná.....	188
SILVA, R. V.; SANTOS, E. L.; PEREIRA, G. S.; HASS, I. J.; FURLANETTO, R. H.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.	
Análise da disponibilidade hídrica nas safras 2016/2017 e 2017/2018 para a cultura da soja em Londrina, Paraná.....	195
SOARES, D. A.; PINTO, G. O. A.; SIBALDELLI, R. N. R.; MERTZ-HENNING, L. M.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.	
Soma térmica na determinação do desenvolvimento fenológico de milho superprecoce.....	202
PINTO, G. O. A.; SOARES, D. A.; OLIVEIRA JUNIOR, A. de; SIBALDELLI, R. N. R.; GONÇALVES, S. L.; MERTZ-HENNING, L. M.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.	

- Distribuição espacial de *Euschistus heros* em soja no estádio R5.4 207
SCARPARO, T.P.; OLIVEIRA, M.C.N. de; ROGGIA, S.
- Hospedabilidade do nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) a populações de *Aphelenchoides besseyi*..... 216
CALANDRELLI, A.; SILVA, M. C. M. da; FRANÇA, P. P.; FAVORETO, L.; MEYER, M. C.
- Hospedabilidade de arroz e aveia branca a populações de *Aphelenchoides besseyi* 223
CALANDRELLI, A.; SILVA, M.C.M. da; FRANÇA, P.P.; FAVORETO, L.; MEYER, M.C.
- Ocorrência de *Aphelenchoides besseyi* em espécies de plantas invasoras 229
SILVA, M. C. M. da; CALANDRELLI, A.; FRANÇA, P. P.; FAVORETO, L.; MEYER, M. C.
- Reação de cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) à infecção por populações de *Aphelenchoides besseyi* 235
FRANÇA, P. P.; SILVA, M. C. M. da; CALANDRELLI, A.; FAVORETO, L.; MEYER, M. C.
- Efeito do estresse hídrico nas fases vegetativa e reprodutiva da soja sobre o rendimento de grãos..... 242
CORREIA, A. R.; MERTZ-HENNING, L. M.; FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N.
- Patogenicidade de isolados de *Glomerella/Colletotrichum* associados à soja 248
JANUARIO, N. C. G.; ALMEIDA, A. M. R.; HENNING, A. A.; SEIXAS, C. D. S.
- Biologia e morfometria de *Trissolcus urichi* (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) 257
SILVA, N. R. A.; QUEIROZ, A. P.; BUENO, A. de F.; LUSKI, P. G. G.; DINIZ, N. F.; GRANDE, M. M. G.
- Colágeno hidrolisado como aditivo para inoculação de *Bradyrhizobium* em sementes de soja 266
PINTO, D.B.B.; FERREIRA, E.; HUNGRIA, M. NOGUEIRA, M.A.
- Criopreservação de isolados de feijoeiro e caupi coletados em regiões do Mato Grosso do Sul..... 272
MOURA, F.M.; DELAMUTA, J.R.M.; CHUEIRE, L.M.O.; RIBEIRO, R.A.; NOGUEIRA, M.A., HUNGRIA, M.

Qualidade fisiológica de sementes de soja em função da umidade e rotação de colheita

SOUZA, L.S.N. de¹; BARBOSA, C.A.C.²; HENNING, A.A.³; KRZYZANOWSKI, F.C.³; HENNING, F.A.³; CONTE, O.³

¹UNOPAR - Universidade Norte do Paraná, Londrina, PR, lorena.naves@hotmail.com; ²Unifil - Centro Universitário Filadélfia; ³Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

A qualidade de semente de soja pode ser influenciada por diversos fatores, que ocorrem antes, durante ou após a colheita, dentre os quais pode-se citar a umidade de colheita, as operações de secagem e beneficiamento ou ainda as condições de armazenagem. Tais fatores podem causar deterioração na semente, ocasionando queda de sua viabilidade e vigor (França Neto et al., 2000).

A colheita é uma das operações que merece atenção, especialmente quando o campo é destinado à produção de sementes, pois a rotação do cilindro da colhedora e a umidade do campo no momento da colheita interferem diretamente na qualidade da semente (Basra, 1994). Os danos causados na semente pelo impacto do sistema de corte e debulha da colhedora, sob alta rotação, provocam aumento no número de sementes danificadas (Ukatu, 2006).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade fisiológica de sementes de soja colhidas em diferentes umidades e rotações.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido na Fazenda Mutuca, localizada no município de Arapoti, PR (latitude 24.273726 e longitude -50.103233), na PR – 239 km 40, com altitude média de 962m, em área destinada à produção de sementes. A cultivar utilizada nas avaliações foi a BS26B42 da empresa Bayer.

A colheita foi realizada de forma mecânica com colhedora New Rolland CR 8.9 e plataforma de 35 pés (Flexer MacDon GTS). Após teste de ajuste e de desempenho da colhedora, foi determinado junto com a equipe técnica de co-

lheita que seriam testadas três rotações do rotor de colheita em combinação com seis níveis de umidade de colheita de sementes. As rotações testadas foram: RN (rotação normal) – 600 rpm, RB (rotação baixa) – 450 rpm, RA (rotação alta) – 750 rpm. As umidades de colheita foram: U1 – 24%, U2 – 23%, U3 – 21%, U4 – 17%, U5 – 13% e U6 – 12%. A determinação do grau de umidade das sementes, ou seja, da umidade de colheita, foi realizada por meio de determinador de umidade da marca Geaka.

A coleta das amostras no campo foi com duas repetições, em esquema fatorial 3x6 (rotação x umidade de colheita). A área de coleta em cada parcela foi de 1.575m² (10,5 m de largura por 150 m de comprimento).

Após a colheita de cada uma das parcelas, durante a descarga da colhedora, foram coletadas duas amostras de 5 kg em intervalos de tempos de 3 minutos. A amostra final, de 10 kg, foi embalada e encaminhada para a Embrapa Soja. No Núcleo de Tecnologia de Sementes e Grãos, as amostras foram recebidas, pesadas e homogeneizadas para posterior análise. A qualidade fisiológica das sementes foi determinada por meio dos seguintes testes:

Teste de germinação: realizado com 600 sementes (12 rolos com 50 sementes). As sementes foram dispostas em papel de germinação e colocadas no germinador na temperatura de 25° C por cinco dias. A contagem ocorreu no quinto dia, seguindo as Regras para Análises de Sementes (Brasil, 2009), sendo contabilizada a porcentagem de plântulas normais.

Teste de tetrazólio: foram utilizadas 400 sementes sendo correspondente a cada repetição (composta por duas subamostras de 50 sementes). As sementes foram pré-condicionadas em papel de germinação umedecido e colocado no germinador à temperatura de 25 °C, por 16 horas. Após esse período, as sementes foram transferidas para copos plásticos de 50 mL e adicionado à solução de tetrazólio na concentração de 0,075%, colocado na estufa para colorir a uma temperatura de 35 °C por três horas. Após o processo de coloração lavou-se as amostras em água corrente, realizando as leituras de vigor (TZ 1 – 3), viabilidade (TZ 1 – 5), deterioração por umidade (TZ 1 – 5) e (6 – 8), dano mecânico (TZ 1 – 5) e (6 – 8), lesões ocasionadas por percevejos (TZ 1 – 5) e (6 – 8), de acordo com França Neto (1999).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, comparando grau de umidade x rotação do rotor de colheita, realizando a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade, por meio do programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (Ferreira, 2011).

Resultados e Discussão

Pelos resultados obtidos, observou-se efeito de umidade, rotação e da interação entre os fatores (rotação x umidade), para cada uma das variáveis avaliadas (Tabelas 1 a 6). Verificaram-se efeitos isolados (Tabelas 1, 2, 4 e 5) e de interação (Tabelas 3 e 6).

Através do teste de germinação, analisando o fator isolado da umidade de colheita, foi possível verificar que as umidades que apresentaram melhores resultados foram as de 13% e 17%, já o pior para 24%, com 97%, 94% e 86% de germinação, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados do teste de germinação de sementes de soja em função do efeito isolado do grau de umidade na colheita.

Grau de umidade (%)	Germinação (%)
12	91 B
13	97 A
17	94 A
21	87 C
23	91 B
24	86 D

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Analisando o fator isolado de rotação do rotor de colheita pode-se observar que o melhor resultado obtido foi com a rotação baixa de 450 rpm, onde a média de germinação foi de 92%, porém não diferiu estatisticamente da rotação alta, a qual não se diferiu da rotação normal (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados do teste de germinação de sementes de soja, em função do efeito isolado de rotação do rotor de colheita.

Rotação	Germinação (%)
A (alta)	90 b
N (normal)	91 ab
B (baixa)	92 a

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

Na análise de interação entre a umidade de colheita e rotação do rotor de colheita, foi possível observar que a umidade de colheita de 13% para o fator germinação, apresentou melhor resultado estatístico para as três rotações (Tabela 3). Observou-se ainda que, comparando as rotações dentro de cada um dos teores de água, de maneira geral a rotação baixa foi a que apresentou melhor desempenho, apresentando diferenças significativas entre as rotações, para os de teores de umidade 12, 17 e 21%.

Tabela 3. Dados de germinação de sementes de soja, em função da interação entre grau de umidade e rotação do rotor de colheita.

Grau de umidade (%)	Rotação		
	A	N	B
12	86 Cc	92 Bb	95 Ab
13	96 Aa	97 Aa	97 Aa
17	91 Bb	95 Aa	96 Aa
21	78 Cc	89 Bc	94 Ab
23	91 Ab	92 Ab	92 Ab
24	84 Ac	86 Ad	87 Ac

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Médias seguidas por letras maiúsculas estão comparando na linha grau de umidade (%) e médias seguidas por letras minúsculas estão comparando na coluna rotação do cilindro de colheita.

Através do dano mecânico, determinado pelo teste de tetrazólio, analisando o fator isolado de umidade de colheita, foi possível verificar que quanto maior o grau de umidade da semente maior seu nível de dano mecânico. Com isso podemos verificar que as umidades que apresentam melhores resultados para vigor, viabilidade, TZ DM (1-8) e TZ DM (6-8), foram 13% e 17% (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados do teste de Tetrazólio (TZ), em função do efeito isolado de umidade.

Grau de umidade (%)	TZ VIA	TZ VIG	TZ DM (1 – 8)	TZ DM (6 – 8)
12	93 B	89 A	28 A	7 B
13	96 A	91 A	26 A	3 A
17	95 A	90 A	26 A	4 A
21	87 CD	79 C	39 C	13 C
23	92 BC	86 B	34 B	7 B
24	84 D	74 D	43 D	15 C

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si na linha e na coluna, para o fator isolado de umidade do tetrazólio (TZ), pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Tetrazólio viabilidade (TZ VIA), tetrazólio vigor (TZ VIG), tetrazólio dano mecânico (TZ DM 1 – 8) e tetrazólio dano mecânico (6 – 8).

Considerando o fator isolado de rotação do rotor de colheita, o que apresentou melhores resultados foi o B (baixa) rotação e a N (normal) rotação, onde estatisticamente não diferem entre si pelo tetrazólio viabilidade (TZ VIA), tetrazólio vigor (TZ VIG), tetrazólio dano mecânico (TZ DM 1 – 8) e tetrazólio dano mecânico (TZ DM 6 – 8) (Tabela 5).

Tabela 5. Resultados do teste de Tetrazólio (TZ), em função do efeito isolado de rotação do cilindro do rotor de colheita.

Rotação	TZ VIA	TZ VIG	TZ DM (1 – 8)	TZ DM (6 – 8)
B	92 a	86 a	31 b	7a
N	91 a	85 a	33 b	7a
A	90 b	83 b	35 a	9 b

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si na linha e na coluna, para rotação do cilindro do rotor de colheita, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Tetrazólio viabilidade (TZ VIA), tetrazólio vigor (TZ VIG), tetrazólio dano mecânico (TZ DM 1 – 8) e tetrazólio dano mecânico (6 – 8).

A análise estatística do teste de tetrazólio (TZ), em função da interação da umidade de colheita da semente e as três rotações do rotor de colheita, mostrou que quanto maior a porcentagem de umidade em que a semente foi colhida maior o dano mecânico ocorrido, sua viabilidade reduziu e houve uma grande queda no índice de vigor.

As porcentagens de umidade que apresentaram melhores resultados para viabilidade e vigor para as três rotações do rotor de colheita foram respectivamente 13% e 17%. Os melhores resultados para todas as variáveis analisadas no teste de tetrazólio e para as três rotações do cilindro foram verificados na umidade de 13% (Tabela 6).

Tabela 6. Resultados do teste de Tetrazólio (TZ), em função da interação entre umidade e rotação do rotor de colheita.

Grau de umidade (%)	TZ VIA			TZ VIG			TZ DM (1-8)			TZ DM (6-8)		
	Rotação			Rotação			Rotação			Rotação		
	A	N	B	A	N	B	A	N	B	A	N	B
12	90 Bb	93Aa	96 Aa	83 Bc	92Ad	91 Ad	77 Ab	82 Ab	76 Ad	10 Bb	7Ab	4 Bb
13	96 Aa	97 Aa	96 Aa	91 Aa	92 Aa	90 Aa	92 Aa	94 Aa	88 Aa	4Aa	3 Aa	2 Aa
17	95 Aa	97 Aa	95 Aa	87 Aa	92 Aa	91 Ba	77 Ab	73Bc	67Bd	5 Aa	4Aa	3 Aa
21	77 Aa	90 Bb	94 Aa	67Ab	82 Cb	88 Bb	86Ab	84 Ab	83Ab	22Aa	10 Cd	6Bb
23	93 Aa	92 Aa	93 Aa	84Ab	86Abc	87 Ab	86Bb	81Ab	76Bc	8Ab	7 Ac	6 Aa
24	86 Aa	83 Aa	85 Aa	77 Ad	71 Bc	75Ac	92 Aa	89Ab	86 Aa	17Ac	14 Bc	13 Ac

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Tetrazólio viabilidade (TZ VIA), tetrazólio vigor (TZ VIG), tetrazólio dano mecânico (TZ DM 1 – 8) e tetrazólio dano mecânico (6 – 8). Médias seguidas por letras maiúsculas estão comparando na linha grau de umidade (%) e médias seguidas por letras minúsculas estão comparando na coluna rotação do rotor de colheita.

Diante disso, pode-se concluir que em sementes de soja colhidas em altos graus de umidades e em altas rotações do rotor de colheita, ocorrem perdas significativas na qualidade das sementes, relacionadas com a viabilidade e vigor, do mesmo modo que em sementes com baixos níveis de umidades também ocorrem perda da qualidade, com isso, a regulagem adequada da rotação do rotor de colheita para a operação no momento da colheita é fundamental para melhor eficiência.

Os dados encontrados corroboram com a informação que, para evitar perdas na qualidade do produto, a colheita deve ser iniciada tão logo a soja atinja o estágio R8, correspondente ao ponto de maturação fisiológica, com o grau de umidade entre 13% e 15%, onde se dá a minimização dos problemas de danos mecânicos e perdas na colheita (Tecnologias..., 2013). Sementes colhidas com grau de umidade superior a 15% estão sujeitas a maior incidência de danos mecânicos latentes, ou seja, ocultos, não perceptíveis e, quando colhidas com grau abaixo de 12%, estão suscetíveis ao dano mecânico imediato, ou seja, a quebra (Costa et al., 1979; França Neto; Henning, 1984).

Conclusão

Os dados obtidos demonstram que a colheita de sementes de soja com elevada qualidade deve ser executada com 13% de umidade e com rotação de rotor de colheita em torno de 450 rpm.

Referências

- BASRA, A.S. **Seed quality: basic mechanisms and agricultural implications**. New York: Food Products, 1994. 389 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 399 p.
- COSTA, N. P. da; MESQUITA, C. M.; HENNING, A. A. Avaliação das perdas e qualidade de semente na colheita mecânica da soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 1, n. 3, p. 59-70, 1979.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FRANÇA NETO, J. de B. Teste de tetrazólio para determinação do vigor de sementes. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. de B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.

FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. 39p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 9).

FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; COSTA, N. P. da. Tecnologia de produção de sementes. In: A CULTURA da soja no Brasil. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 1 CD-ROM.

TECNOLOGIAS de produção de soja - Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 16).

UKATU, A.C. A modified threshing unit for soybeans. **Biosystems Engineering**, v. 95, n. 3, p.371-377, 2006.

Avaliação de injúrias causadas por adultos e ninfas de terceiro ínstar de *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus* em milho

MACIEL, H.R.¹; BUENO, A. de F.²; GOMES, E.C.³; HAYASHIDA, R.⁴

¹Unifil, Bolsista Embrapa, Londrina, PR, hugor4343@gmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja; ³Mestrando, IAPAR; ⁴Doutorando, UEL.

Introdução

O milho (*Zea mays*) é um dos cultivos mais importantes da agricultura brasileira, sendo produzido em praticamente todas as grandes regiões produtoras do país. O Brasil é o terceiro maior produtor mundial da cultura, ficando atrás apenas dos Estados Unidos e da China (conab, 2016). A produção nacional da safra 2016/2017 foi de 97.842,88 milhões de toneladas, sendo cultivada uma área total de 17.591,7 milhões de hectares (Conab, 2018). Entretanto, todo esse potencial produtivo é ameaçado por diversas espécies de insetos que atacam a cultura, entre as quais os percevejos merecem destaque, principalmente na fase inicial do desenvolvimento da lavoura (Pinto et al., 2004; Valicente, 2015). Com a expansão do plantio direto e do milho segunda safra, comumente cultivada após a cultura da soja, ocorreu mudanças significativas nas dinâmicas dos insetos-praga (Panizzi, 1997; Chocorosqui; Panizzi, 2004). Os percevejos fitófagos, da família Pentatomidae (Hemiptera - Heteroptera), que aumentam sua população na fase reprodutiva da soja (Corrêa-Ferreira; Panizzi, 1999), permanecem na área após a colheita, atacando a cultura do milho que vem em sucessão (Panizzi, 1999). Estes sugam as plântulas de milho, podendo levá-las à morte dependendo da intensidade e fase de desenvolvimento da cultura em que o ataque ocorre (Chocorosqui; Panizzi, 2004).

Neste cenário o percevejo-barriga-verde, *Dichelops* spp, e o percevejo marrom, *Euschistus heros*, são associados ao sistema de cultivo soja seguido de milho (Ávila, 2012). Na região norte do Paraná *Dichelops melacanthus* é a espécie usualmente encontrada (Chocorosqui, 2001). O ataque desses percevejos pode levar as plantas à morte, reduzindo o stand e consequentemente interferindo na produtividade. Outros sintomas típicos seriam o encharutamento das folhas centrais, emissão de perfilhos improdutivo, redução no porte da planta, pontuações e orifícios com halo amarelado, dispostos em

fileira (Pinto et al., 2004; Cruz; Bianco, 2001). Em relação aos danos provocados na cultura do milho, quando comparado com outros pentatomídeos, o percevejo barriga-verde é o que provavelmente apresenta maior potencial de causar prejuízos, sugerindo-se uma possível toxicidade de sua saliva (Roza-Gomes et al., 2011). O percevejo-marrom também consegue se alimentar da planta de milho e causar injúrias, porém estudos que avaliam a intensidade de seus danos no milho são escassos, principalmente comparando-os com outras espécies potencialmente mais daninhas como *D. melacanthus*, tendo a necessidade de maiores investigações (Torres et al., 2013). Ainda, no campo é constatada a presença de insetos adultos e ninfas atacando a cultura (Cruz, 2009), logo, se faz também necessário um melhor entendimento das injúrias que percevejos de diferentes espécies e em diferentes estádios de desenvolvimento podem provocar no milho. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar comparativamente as injúrias provocadas por ninfas de terceiro ínstar e adultos de *E. heros* e *D. melacanthus* em milho visando o futuro estabelecimento e/ou readequação dos níveis de ação para essas pragas.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido em casa-de-vegetação da unidade experimental da Embrapa Soja, em Londrina-PR (23°12'15"S, 51°10'55"W), no período de abril a maio de 2018. Foram avaliados cinco tratamentos, com dez repetições, em um delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos se constituíram da infestação artificial de ninfas de 3º instar e adultos de *E. heros* e *D. melacanthus* em plantas de milho, sendo, para cada planta utilizado um adulto de *E. heros* ou um adulto de *D. melacanthus* ou uma ninfa de terceiro ínstar de *E. heros* ou uma ninfa de terceiro ínstar de *D. melacanthus* e testemunha sem infestação. Em cada vaso, com capacidade para cinco litros, foram semeadas quatro sementes. Após a germinação foi feito o desbaste das excedentes, deixando apenas uma planta por vaso. As plantas foram irrigadas por sistema de gotejamento, ligado uma vez ao dia. O híbrido utilizado foi o BM 709 PRO2. Os percevejos utilizados foram provenientes da criação da Embrapa Soja, mantidos em temperaturas de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $70 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 14:10 horas claro: escuro (C/E), alimentados com ligustro (*Ligustrum lucidum*), feijão vagem (*Phaseolus vulgaris*), grão de soja (*Glycine max*) e amendoim (*Arachis hypogaea*). Para contenção dos

insetos os vasos foram vestidos com sacos plásticos translúcidos (Polietileno liso) de 35 x 50 cm, com aberturas nas laterais de 22,5 x 23,5 cm, fechadas com tecido tule que foi fixado com fita Kraft 780. Os sacos foram fixados na base do vaso com elásticos. A parte do saco oposta a base dos vasos ficaram fechadas com clips, facilitando a abertura para manutenção e avaliação do ensaio. Uma estaca de bambu foi colocada em cada vaso para dar suporte ao revestimento. A infestação foi realizada no dia 16/04/2018, quando as plantas estavam no estágio VE (emergência), permanecendo durante dez dias. A cada dois dias as unidades foram monitoradas, fazendo a reposição dos mortos ou a substituição das ninfas que trocaram de ínstar. Após o período de infestação a estrutura de contenção e os insetos foram retirados dos vasos. As avaliações foram realizadas em duas épocas, no décimo dia, logo após a retirada dos percevejos, sendo zero dias após a retirada dos percevejos (0 DARP) e sete dias após a retirada dos percevejos (7 DARP), avaliando-se o número de folhas expandidas (NFE) a partir da contagem de todas as folhas expandidas, descontando a primeira folha cotiledonar, altura de plantas (AP), medindo do solo até o último colar visível (inserção entre o limbo e a bainha) e nota de Injúria (NI), seguindo uma escala de 0 a 4 descrita a seguir: Nota 0 (zero)= plantas isentas de injúrias; Nota 1 (um)= folhas com pontuações, sem redução de porte; Nota 2 (dois)= plantas com leve injúria no cartucho (parcialmente enrolado), com redução de porte; Nota 3 (três)= plantas com cartucho encharutado (preso) ou plantas perfilhadas; Nota 4 (quatro)= plantas com cartucho seco ou morto (Roza-Gomes et al., 2011). Após a última avaliação (7 DARP) também foi avaliada a massa seca da parte aérea (MSA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total (MST), dada pela soma das duas primeiras. As plantas foram cortadas na base do substrato, separando-se parte aérea e raiz. Para retirada e lavagem das raízes os vasos foram virados cuidadosamente sobre uma peneira fina, colocada sob um leve jato de água. Todas as partes foram acomodadas em sacos individuais de papel e levadas para estufa a 60 °C, com circulação forçada de ar, durante cinco dias, tempo que levou para atingiram massa constante, após este período foi feita a pesagem das amostras. Os resultados das avaliações foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Em 0 DARP, momento da retirada dos percevejos, todos os tratamentos com percevejos pontuaram na escala de notas de injúria diferindo significativamente da testemunha (Tabela 1), sendo a maior nota atribuída aos adultos de *D. melacanthus*, que diferiram significativamente de todos os tratamentos. Adultos de *E. heros* ocasionaram a segunda maior nota de injúria, também diferindo significativamente dos demais. Ninfas de terceiro ínstar de *D. melacanthus* e as ninfas de terceiro ínstar de *E. heros* não diferiram entre si, porém diferiram da testemunha. Após sete dias da retirada dos percevejos, 7 DARP, as notas de injúria de todos os tratamentos também diferiram da testemunha (Tabela 2), sendo a maior nota de dano atribuída ao tratamento que continha adultos de *D. melacanthus*. As injúrias causadas pelos adultos de *E. heros*, ninfas de terceiro ínstar de *D. melacanthus* e ninfas de terceiro ínstar de *E. heros* não diferiram entre si, mas diferiram da testemunha. Os tratamentos com notas mais altas na primeira avaliação apresentaram uma recuperação da planta com a redução da nota de injúria no decorrer dos sete dias. Em relação à altura, 0 DARP, todos os tratamentos foram suficientes para reduzir o porte da planta (Tabela 1), sendo a maior redução provocada pelos adultos de *D. melacanthus*, diferindo de todos os tratamentos. Adultos de *E. heros*, ninfas de terceiro ínstar de *D. melacanthus* e ninfas de terceiro ínstar de *E. heros* não diferiram entre si, mas reduziram o porte em relação à testemunha. 7 DARP, apenas adultos de *D. melacanthus* diferiu das testemunhas, mantendo a redução do porte (Tabela 2). Os demais tratamentos não diferiram entre si, igualando-se a testemunha. Isso demonstra a capacidade de recuperação das plantas a determinadas intensidades de ataque, entretanto as plantas estavam isoladas, sem competição com outras plantas, sendo necessários mais estudos para avaliar essa capacidade de recuperação das plantas em condições de campo. Na avaliação do número de folhas expandidas, 0 DARP, apenas os adultos de *D. melacanthus* causaram redução significativa, diferindo da testemunha (Tabela 1), todos os outros tratamentos não diferiram entre si. 7 DARP, os tratamentos não diferiram entre si (Tabela 2). Nas avaliações das massas secas (Tabela 3), 7 DARP, a massa seca da parte aérea da planta teve redução significativa apenas no tratamento com adultos de *D. melacanthus*. Em relação à massa seca das raízes, a infestação com adultos de *D. melacanthus* diferiu significativamente de todos os tratamentos, apresentando a maior redução. Adultos de *E. heros* e ninfas de terceiro ínstar de

D. melacanthus não diferiram entre si, porém diferiram da testemunha. O tratamento com ninfas de terceiro ínstar de *E. heros* não diferiu da testemunha. Na análise de matéria seca total, adultos de *D. melacanthus* diferiram significativamente de todos os tratamentos, apresentando a maior redução. Adultos de *E. heros* e ninfas de terceiro ínstar de *D. melacanthus* não diferiram entre si, porém diferiram da testemunha. O tratamento com ninfas de terceiro ínstar de *E. heros* não diferiu da testemunha.

Tabela 1. Resultados ocasionados pela infestação de percevejos de diferentes espécies e diferentes instares na densidade de 1/planta durante dez dias em milho.

0 DARP ²			
Tratamentos	Nota de Injúria ¹	Altura (cm)	Nº folhas expandidas
Testemunha	0,0 ± 0,00 d	10,79 ± 0,59 a	3,9 ± 0,10 a
Ninfa <i>E. heros</i>	0,8 ± 0,13 c	8,99 ± 0,39 b	3,6 ± 0,16 a
Adulto <i>E. heros</i>	1,4 ± 0,16 b	8,96 ± 0,57 b	3,5 ± 0,17 a
Ninfa <i>D.melacanthus</i>	0,9 ± 0,23 c	7,79 ± 0,77 b	3,7 ± 0,15 a
Adulto <i>D.melacanthus</i>	2,6 ± 0,31 a	4,80 ± 0,97 c	3,0 ± 0,17 b
CV (%)	19,5	26,27	13,36

¹Dados transformados pela fórmula $\sqrt{X + 0,5}$. ²DARP - Dias após a retirada dos percevejos. Médias ± erro padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Resultados ocasionados pela infestação de percevejos de diferentes espécies e diferentes instares na densidade de 1/planta durante dez dias em milho.

7 DARP ²			
Tratamentos	Nota de Injúria ¹	Altura (cm)	Nº folhas expandidas
Testemunha	0,0 ± 0,00 c	18,84 ± 1,13 a	6,1 ± 0,10 a
Ninfa <i>E. heros</i>	0,8 ± 0,13 b	18,35 ± 0,67 a	5,9 ± 0,10 a
Adulto <i>E. heros</i>	1,1 ± 0,10 b	16,31 ± 0,99 a	5,9 ± 0,10 a
Ninfa <i>D.melacanthus</i>	0,8 ± 0,20 b	16,90 ± 0,92 a	5,9 ± 0,10 a
Adulto <i>D.melacanthus</i>	1,6 ± 0,16 a	12,20 ± 1,09 b	5,8 ± 0,13 a
CV (%)	16,92	18,65	5,74

¹Dados transformados pela fórmula $\sqrt{X + 0,5}$. ²DARP – Dias após a retirada dos percevejos. Médias ± erro padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Tabela 3. Resultados nas massas secas ocasionados pela infestação de percevejos de diferentes espécies e diferentes ínstares na densidade de 1/planta durante dez dias em milho.

7 DARP ²			
Tratamentos	Massa seca (g)		
	Aérea ¹	Raízes ¹	Total ¹
Testemunha	2,620 ± 0,19 a	1,275 ± 0,14 a	3,895 ± 0,29 a
Ninfa <i>E. heros</i>	2,320 ± 0,18 a	1,147 ± 0,15 a	3,467 ± 0,27 a
Adulto <i>E. heros</i>	1,936 ± 0,24 a	0,736 ± 0,12 b	2,672 ± 0,35 b
Ninfa <i>D. melacanthus</i>	2,018 ± 0,23 a	0,777 ± 0,10 b	2,795 ± 0,32 b
Adulto <i>D. melacanthus</i>	0,862 ± 0,13 b	0,416 ± 0,08 c	1,278 ± 0,16 c
CV (%)	18,65	20,84	16,95

¹Dados transformados pela fórmula \sqrt{x} . ²DARP - Dias após a retirada dos percevejos. Médias ± erro padrão seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes já foram previamente relatados na literatura, demonstrando o maior potencial de dano de adultos de *D. melacanthus* em relação ao *E. heros* (Roza-Gomes et al., 2011; Copatti; Oliveira, 2011; Torres et al., 2013). Rodrigues (2011) avaliou, em plantas de milho, estádios iniciais, diferentes densidades de *D. melacanthus*, adultos e ninfas de terceiro ao quinto ínstar, e constatou que são necessárias quatro ninfas de terceiro ao quinto ínstar para causar injúrias em intensidade semelhante às causadas por um adulto, sendo que a partir de uma ninfa já é possível observar injúrias. Entretanto, pode haver diferenças entre os diferentes híbridos de milho, resultando a importância dos resultados aqui relatados. O comprimento do rostro dos percevejos estudados neste trabalho parece não ser o fator determinante para a diferença de intensidade de injúrias de insetos adultos, tendo em vista a similaridade de comprimento entre as espécies, conforme constatado por Depieri e Panizzi (2010), entretanto essa relação precisa ser compreendida para as ninfas, considerando a maior diferença entre o rostro de adultos e ninfas de terceiro ínstar. De acordo com Panizzi e Silva (2009), os danos aos tecidos resultam da frequência de penetração do estilete, duração do período alimentar e composição das secreções salivares, que podem ser tóxicas. A atividade alimentar pode ser um dos fatores de diferença de intensidade entre ninfas e adultos, considerando o aumento da atividade conforme o desenvol-

vimento dos insetos. Um aumento na atividade alimentar dos insetos poderia explicar a diferença entre ninfas e adultos, explicação também adotada por Rodrigues (2011), entretanto, a diferença entre espécies pode estar relacionado a propriedades químicas da saliva. Roza-Gomes et al. (2011), sugere uma possível diferença de toxicidade das salivas, porém estudos decisivos precisam ser realizados para comprovar esta hipótese. Assim, conclui-se que ninfas a partir do terceiro ínstar e adultos de *E. heros* e *D. melacanthus* devem ser contabilizadas no monitoramento de percevejos em milho, no início da cultura, pois são capazes de provocar injúrias, porém em intensidades diferentes, sendo as injúrias de *E. heros* menores. Portanto, são necessários estudos futuros que determinem as diferenças de danos em condições de campo, para que sejam determinados pesos diferentes para cada espécie.

Referências

- ÁVILA, C. J. A safrinha sob a mira dos percevejos. **A Granja**, Porto Alegre, ano 68, n. 761, p. 52-53, maio 2012.
- CHOCOROSQUI, V. R. **Bioecologia de *Dichelops (Diceraeus) melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: Pentatomidae), danos e controle em soja, milho e trigo no Norte do Paraná**. 2001. 158 F. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- CHOCOROSQUI, V. R.; PANIZZI, A. R. Impact of cultivation systems on *Dichelops melacanthus* (Dallas) (Heteroptera: Pentatomidae) population and damage, and its chemical control on wheat. **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 487-492, 2004.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos - safra 2017/18**. Brasília, v.8, 2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 20 jun. 2018.
- CONAB. **Análise dos custos de produção e rentabilidade da cultura do milho**. Brasília, v.3, 2016. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 20 jun. 2018.
- COPATTI, J. F.; OLIVEIRA, N. C. Danos iniciais causados pelos percevejos *Dichelops melacanthus* (Dallas) e *Euschistus heros* (Fabricius) (Heteroptera: Pentatomidae) em plantas de milho. **Campo Digital**, Campo Mourão, v. 6, n. 1, p. 54-60, 2011.
- CORREA-FERREIRA, B.S.; PANIZZI, A. R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1999. 45 p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 24).
- CRUZ, I. Estratégias de manejo do milho Bt em condições de safrinha. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 10., 2009, Rio Verde, GO. **Anais...** Rio Verde: Universidade de Rio Verde, 2009. p. 154-170.
- CRUZ, I.; BIANCO, R. Manejo de pragas na cultura de milho safrinha. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE MILHO SAFRINHA, 6.; CONFERÊNCIA NACIONAL DE PÓS-COLHEITA, 2.; SIMPÓSIO EM ARMAZENAGEM DE GRÃOS DO MERCOSUL, 2., 2001, Londrina.

Valorização da produção e conservação de grãos no mercosul: resumos e palestras.

Londrina: IAPAR, 2001. p. 79-112.

DEPIERI, R. A.; PANIZZI, A. R. Rostrum length, mandible serration, and food and salivary canals areas of selected species of stink bugs (Heteroptera, Pentatomidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, p. 584-587, 2010.

PANIZZI, A. R. Entomofauna changes with soybean expansion in Brazil. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 5., 1994, Chiang Mai. **Soybean feeds the world: proceedings**. Bangkok: Kasetsart University Press, 1997. p.166-169.

PANIZZI, A. R. Os percevejos no novo cenário agrícola. In: DOMIT, L. A.; CREPALDI, L. M. (Coord.). **Documentos técnicos e encaminhamentos: tarde técnica - percevejos atacando plântulas de trigo, milho e soja**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. Não paginado.

PANIZZI, A. R., SILVA F. A. C. Insetos sugadores de sementes (Heteroptera). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Ed.). **Bioecologia e nutrição de insetos: base para o manejo integrado de pragas**. Brasília: Embrapa, 2009. p. 465-522.

PINTO, A. S.; PARRA, J. R. P; OLIVEIRA, H. N. de. **Pragas e insetos benéficos do milho e sorgo**. Ribeirão Preto: S.S. PINTO, 2004. 108 p.

RODRIGUES, R. B. **Danos do percevejo-barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) na cultura do milho**. 2011. 105 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

ROZA-GOMES, M. F.; SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. S.; PANIZZI, A. R. Injúrias de quatro espécies de percevejos pentatomídeos em plântulas de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 7, p. 1115-1119, 2011.

TORRES, A. B. A.; OLIVEIRA, N. C. de; OLIVEIRA NETO, A. M. de; GUERREIRO, J. C. Injúrias causadas pelo ataque dos percevejos marrom e barriga verde durante o desenvolvimento inicial do milho. **Journal of Agronomic Sciences**, v. 2, p. 169-177, 2013.

VALICENTE, F. H. **Manejo integrado de pragas na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015. 13 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 208).

Eficiência do *Baculovirus spodoptera* associado com herbicidas no controle de *Spodoptera frugiperda*

DINIZ, N. F.¹; LUSKI, P. G. G.²; QUEIROZ, A. P.³; SILVA, N. R. A.¹; BUENO, A. de F.⁴; NEVES, P. M. O. J.⁵; OLIVEIRA, M. C. N. de⁴

¹Unifil, Londrina, PR, dinizfernandanaiaira@gmail.com; ²UEL, Pós-graduanda; ³UFPR, Pós-graduanda;

⁴Pesquisador, Embrapa Soja. ⁵Professor, UEL

Introdução

No Brasil, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma das principais pragas do milho, responsável por significativas reduções na produtividade da cultura. Em condições de altas densidades populacionais, *S. frugiperda* pode causar perdas severas de aproximadamente 60%. Essas perdas ocorrem principalmente quando as culturas são implantadas em épocas favoráveis ao aparecimento deste inseto (Pereira et al., 2002; Cruz, 2008; Valicente et al., 2010). No manejo dessa praga, a pulverização com inseticidas é a ferramenta mais utilizada pelos agricultores (Valicente, 2009) e seu uso abusivo acarreta problemas como a eliminação de inimigos naturais, seleção de populações de insetos resistentes ao inseticida utilizado, contaminação ambiental e aumento nos custos de produção (Cruz, 1995). Dessa forma, o uso de métodos mais sustentáveis de manejo de pragas que minimizem os impactos negativos do uso abusivo de produtos químicos e que mantenham a população da praga abaixo do nível de dano econômico (Fernandes; Carneiro, 2006) são fundamentais na busca por um ambiente agrícola mais saudável e equilibrado.

Assim, uma alternativa para a redução do uso de inseticidas é o controle biológico, que é a regulação da população de insetos-praga por inimigos naturais (Parra et al., 2002). *Spodoptera frugiperda multiple nucleopolyhedrovirus* (SfMNPV), ou simplesmente, *Baculovirus spodoptera* é um vírus entomopatogênico que tem recebido atenção especial como um agente de controle biológico. A infecção do inseto pelo vírus ocorre após a ingestão das formas oclusas que são dissolvidas no intestino. Com a dissolução da matriz proteica do vírus ocorre à liberação dos vírions assim fazendo a infecção das células epiteliais do intestino médio mediada por receptores específicos, auxiliando na sua multiplicação (Valicente et al, 2009). Em estudos realizados

no campo, Valicente e Costa (1995) comprovaram a virulência do *Baculovirus spodoptera* a larvas de *S. frugiperda*. O vírus apresentou resultados de eficiência equivalentes aos inseticidas químicos convencionais alcançando mortalidade de até 90%.

Apesar da eficiência comprovada do vírus, um fator limitante que inviabiliza a utilização dessa tática de manejo pelos produtores no controle de pragas é sua forma de aplicação. Entre os diferentes fatores que podem interferir em sua eficiência estão dose utilizada, impactos da temperatura e outras condições climáticas quando o vírus é aplicado isoladamente ou em mistura com outros agrotóxicos. Em muitas situações, o controle de *S. frugiperda* é necessário no mesmo momento da aplicação de herbicidas para o controle de plantas daninhas no início da formação da lavoura. Neste cenário, uma vez que se faz necessário a entrada de maquinários agrícolas na plantação para a aplicação de herbicidas, uma alternativa que vem sendo estudada é a mistura do *Baculovirus spodoptera* em conjunto com produtos utilizados no controle de plantas invasoras na cultura do milho. Segundo Gazziero (2015), estudos mostram que 97% dos produtores realizam aplicações com dois ou mais formulados diferentes para diversas finalidades, viabilizando ambos os controles (inseto, plantas indesejadas e/ou doenças). Ávila e Melhorança (1999) avaliaram a eficiência do AgNPV no controle da *Anticarsia gemmatilis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) em mistura com herbicidas onde concluíram que essa associação não reduz a atividade do vírus. Entretanto, não se conhece para *Baculovirus spodoptera* o efeito dos herbicidas quando aplicados em mistura ou mesmo separadamente.

Dessa forma, foi avaliado a eficiência do *Baculovirus spodoptera*, em laboratório e campo, associado com herbicidas pós-emergentes no controle da *S. frugiperda* na cultura do milho.

Material e Métodos

Nesse trabalho foram conduzidos dois experimentos independentes. No primeiro experimento avaliou-se o efeito do SfMNPV (*Baculovirus spodoptera*) em associação com herbicidas no controle de *S. frugiperda* em condições controladas de laboratório (temperatura de $26 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 14/10 C/E.). O delineamento foi de blocos completos ao acaso com 12 tratamentos e quatro repetições (com 10 lagartas cada repetição) (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos utilizados para avaliar a eficiência do *Baculovirus spodoptera* (SfMNPV) em *Spodoptera frugiperda* em ensaios conduzidos a campo e em laboratório, com a cultura do milho

Trat	Ingrediente ativo	Produto comercial	Dose por hectare
1	Testemunha (água)	-	-
2	Atrazina	AtrazinaNortox 500SC	2000 g i.a.
3	Tembotriona	Soberan 420 SC	100,8 g i.a.
4	Éster metílico de óleo de soja	Aureo 720CE	720 g i.a.
5	Clorantraniliprole	Premio 200SC	20 g i.a.
6	SfMNPV	CartuchoVit	6x10 ¹¹ CPI
7	SfMNPV + atrazina	CartuchoVit + AtrazinaNortox 500SC	6x10 ¹¹ CPI+2000 g i.a.
8	SfMNPV + tembotriona	CartuchoVit + Soberan 420 SC	6x10 ¹¹ CPI + 100,8 g i.a.
9	SfMNPV + éster metílico de óleo de soja	CartuchoVit + Aureo 720CE	6x10 ¹¹ CPI + 720 g i.a.
10	SfMNPV + atrazina + éster metílico de óleo de soja	CartuchoVit + AtrazinaNortox 500SC + Aureo 720CE	6x10 ¹¹ CPI + 2000 g i.a. + 720 g i.a.
11	SfMNPV + tembotriona + éster metílico de óleo de soja	CartuchoVit + Soberan 420 SC + Aureo 720CE	6x10 ¹¹ CPI + 100,8 g i.a. + 720 g i.a.
12	SfMNPV+atrazina.+tembotriona.+ éster metílico de óleo de soja	CartuchoVit + AtrazinaNortox 500SC + Soberan 420 SC + Aureo 720CE	6x10 ¹¹ CPI+2000 g i.a.+ 100,8 g i.a.+ 720 g i.a.

Aproximadamente 1,5 g de dieta (Greene et al., 1976) foi imersa em 200 ml de suspensão contendo os tratamentos, durante dois segundos e então os alimentos foram colocadas em copos de 50 ml. Após 30 min., lagartas de terceiro ínstar foram individualizadas e mantidas na dieta inoculada por 48hrs, após esse período foram realizadas reposições do alimento não contaminado conforme a necessidade e a desidratação da mesma. Avaliou-se diariamente a mortalidade até a emergência dos adultos.

O segundo experimento foi conduzido no campo e laboratório. A cultura foi implantada segundo as recomendações técnicas para região, na safra 2017/2018, utilizando sementes de milho híbrido BM 810 Biomatrix.

O delineamento utilizado foi blocos completos ao acaso com 12 tratamentos (Tabela 1) e quatro repetições compostas por parcelas de 10 metros de comprimento e 9 metros de largura. A aplicação dos tratamentos foi realizada 20 e 28 dias após emergência das plântulas, com temperatura média de 19,1°C. Utilizou-se um pulverizador pressurizado com CO₂, considerando-se um volume de aplicação de 200L ha⁻¹.

As avaliações de dano foliar, foram realizadas zero e sete dias após a primeira aplicação (A), seis e 15 dias após a segunda aplicação (B). Nessas avaliações 20 plantas por tratamento foram observadas, considerado o dano nas seis folhas centrais sendo atribuídas as notas de escala de dano de 0 a 5 proposta por Davis e Williams (1989) descrita a seguir: 0, ausência de folhas danificadas; 1, presença de raspadura nas folhas; 2, presença de furo nas folhas; 3, presença de dano nas folhas e alguma lesão no cartucho; 4, presença de cartucho destruído; e 5, plantas mortas.

Adicionalmente a avaliação de dano realizado em campo, no laboratório, 15 lagartas de terceiro ínstar de *S. frugiperda* por repetição de cada tratamento foram agrupadas em caixas de polietileno (gerbox) para a infecção por meio da ingestão de folhas de milho retiradas do campo logo após a primeira aplicação. Utilizou-se um número superior ao necessário de lagartas para suprir um possível canibalismo entre elas. Após o período de 48hrs foram individualizadas 10 lagartas em copos plásticos de 50 ml e alimentadas com dieta artificial (Greene et al, 1976), mantidas em câmaras climatizadas (26 temperatura de 26 ± 2°C e fotoperíodo de 14/10 C/E), avaliando-se diariamente a mortalidade até atingirem a fase adulta.

Foram avaliadas as pressuposições da Análise de Variância (ANOVA) e constatou-se que os dados da variável mortalidade de *S. frugiperda* (Experimento 1) não apresentou distribuição normal. Sendo assim, a análise aplicada foi a não-paramétrica pelo de Friedman (Campos, 1979) e o teste de comparações múltiplas de médias utilizando os ranks foi o de Tukey. No experimento 2 todas as pressuposições da ANOVA foram atendidas como: a normalidade dos resíduos (Shapiro; Wilk, 1965), homogeneidade de variância dos tratamentos (Burr; Foster, 1972) e não-aditividade do modelo (Tukey, 1949). As médias das variáveis mortalidade e dano de *S. frugiperda* foram comparadas pelo teste de Tukey, %, utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (SAS Institute, 2009).

Resultados e Discussão

De acordo com os resultados obtidos no primeiro ensaio (laboratório) foi possível observar alta mortalidade de *S. frugiperda* causada pelo vírus, apresentando valores próximos a 100% (Tabela 2). Observa-se que a associação com herbicidas não reduziu a eficiência do vírus, com mortalidade variando entre 82,5 e 100%.

Ainda, foi possível verificar que a mortalidade de *S. frugiperda* na presença do herbicida atrazina foi igual ao controle químico (100%), utilizado como tratamento padrão. Isso é provavelmente devido ao fato da atrazina apresentar efeito sinérgico sobre a ação de alguns inseticidas organofosforados, como oclorpirifós, entre outros (Pape-Lindstrom; Lydy, 1997; Belden; Lydy, 2000). No entanto, esse é o primeiro relato da associação desse herbicida com *Baculovirus spodoptera*.

Tabela 2. Mortalidade (%) de *Spodoptera frugiperda* causada por *Baculovirus spodoptera* em mistura com diferentes herbicidas e adjuvante conduzido em laboratório.

Tratamentos	Experimento 1 Laboratório
1- Testemunha	0±0 d
2- Atrazina	32±9,4 cd
3- Tembotriona	0±0 d
4- Éster metílico de óleo de soja	0±0 d
5- Clorantraniliprole	100±0 a
6- SfMNPV	95±2,8 ab
7- SfMNPV + atrazina	100±0 a
8- SfMNPV + tembotriona	94±3,0 ab
9- SfMNPV + éster metílico de óleo de soja	95±2,8 ab
10- SfMNPV + atrazina + éster metílico de óleo de soja	100±0 a
11- SfMNPV + tembotriona +éster metílico de óleo de soja	82,5±4,7 bc
12- SfMNPV+atrazina.+tembotriona.+éster metílico de óleo de soja	100±0 a
CV (%)	16,77
F	32,57
p	<0,0001

Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey $p \leq 0,05$)

No segundo experimento, foi possível observar que a mortalidade de *S. frugiperda* causada por SfMNPV aplicados em milho no campo atingiu 72,2 %, sendo inferior apenas quando comparada com o tratamento químico (100%) (Tabela 3). Os resultados encontrados evidenciaram a redução do efeito do controle pelo baculovírus quando associado com os produtos atrazina+tembotriona+éster metílico de óleo de soja conjuntamente (tratamento 12), apresentando mortalidade de apenas 24,8%. Entretanto, não houve diferença significativa entre as demais misturas avaliadas. Esse resultado corrobora a possibilidade de aplicação de *Baculovirus spodoptera* com os herbicidas atrazina, tembotriona, éster metílico de óleo de soja e a associação entre SfMNPV + atrazina + éster metílico de óleo de soja e SfMNPV + tembotriona +éster metílico de óleo de soja, sem redução significativas do controle da praga alvo em campo. Segundo Alves (1998), os inseticidas microbianos

podem ser aplicados juntamente com inseticidas químicos seletivos visando à ação sinérgica, o controle eficiente da praga e também diminuindo os inconvenientes de superdosagens de produtos químicos. Gallo et al. (2002) relataram que os microorganismos entomopatogênicos raramente devem ser considerados isoladamente no controle de pragas.

A redução da mortalidade observada em campo quando comparada ao laboratório pode ser explicado em parte pelos efeitos da radiação solar, que degrada a ação do vírus rapidamente. Portanto, um dos grandes desafios na aplicação do vírus em campo ainda a serem superados é o estabelecimento de formulações que tenham protetores, que inibam os efeitos danosos da radiação solar na sobrevivência e eficiência do vírus em campo. Substâncias naturais como lignina, chá verde e óxido de ferro foram testados para melhorar o efeito residual dos produtos a base de vírus (McGuire et al., 2001; Asano, 2005; Shapiro et al., 2008), mas, apesar dos resultados promissores, ainda precisam de mais estudos nessa área.

Tabela 3. Mortalidade (%) de *Spodoptera frugiperda* causada por *Baculovirus spodoptera* em mistura com diferentes herbicidas e adjuvante, aplicado em milho.

Tratamentos	Experimento 2 Campo
1- Testemunha	0,0 ± 0,0 d
2- Atrazina	0,0 ± 0,0 d
3- Tembotriona	0,0 ± 0,0 d
4- Éster metílico de óleo de soja	0,0 ± 0,0 d
5- Clorantraniliprole	100 ± 0,0 a
6- SfMNPV	72,2 ± 9,6 b
7- SfMNPV + atrazina	52,5 ± 4,7 bc
8- SfMNPV + tembotriona	48,61 ± 7,2 bc
9- SfMNPV + éster metílico de óleo de soja	50,8 ± 7,8 bc
10- SfMNPV + atrazina + éster metílico de óleo de soja	48,0 ± 10,6 bc
11- SfMNPV + tembotriona + éster metílico de óleo de soja	46,3 ± 12,1 bc
12- SfMNPV+atrazina+tembotriona+éster metílico de óleo de soja	24,8 ± 10,2 c
CV (%)	24,75
F	48,14
p	<0,0001

Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey p≤0,05); Médias originais seguidas da análise realizada com dados transformados para [arco seno()].

Na avaliação em pré-aplicação, não se observaram diferenças de dano entre os tratamentos. Nas outras avaliações, so controle químico foi o único tratamento que apresentou menor dano, diferenciando-se estatisticamente dos demais tratamentos. Esses resultados podem ser explicados devido ao fato de que as lagartas quando infectadas como vírus podem demorar de 3 a 8 dias para morrer, dependendo do ínstar no qual é infectado (Tabela 4), o que permite que as mesmas continuem se alimentando e causando dano, porém, em menor quantidade, justificando a não diferenciação dos danos causados na testemunha (Valicente et al., 2013).

Conclusão

É possível concluir que o baculovírus SfMNPV causa alta mortalidade na praga alvo, mas ainda existem muitos desafios para facilitar sua aplicação em campo. Estudos de compatibilidade da mistura do vírus com outros agrotóxicos também se mostram promissores, pois os resultados preliminares aqui mostrados indicam que o vírus possui uma boa compatibilidade de mistura com a maioria dos herbicidas avaliados.

Tabela 4. Avaliações de dano em folhas de milho causados por *S. frugiperda* em pré-aplicação A (Dano0DAA), sete dias da aplicação A, seis dias da aplicação B e quinze dias da aplicação B, de SfMNPV e mistura com diferentes herbicidas e adjuvante.

Tratamentos	Dano0DAA	Dano7DAA	Dano6DAB	Dano15DAB
1- Testemunha	1,6 ± 0,4 a	2,9 ± 0,1 a	2,7 ± 0,2 a	3,3 ± 0,3 a
2- Atrazina	1,2 ± 0,1 a	2,6 ± 0,2 a	3,0 ± 0,2 a	3,3 ± 0,2 a
3- Tembotriona	2,1 ± 0,2 a	2,7 ± 0,3 ab	2,8 ± 0,3 a	3,1 ± 0,1 a
4- Éster metílico de óleo de soja	1,6 ± 0,5 a	3,2 ± 0,0 a	2,6 ± 0,5 a	3,2 ± 0,2 a
5- Clorantraniliprole	1,7 ± 0,4 a	1,6 ± 0,1 b	1,3 ± 0,2 b	1,7 ± 0,3 b
6- SfMNPV	1,9 ± 0,4 a	2,7 ± 0,3 a	2,6 ± 0,1 a	3,4 ± 0,2 a
7- SfMNPV + atrazina	1,8 ± 0,3 a	2,9 ± 0,1 a	2,8 ± 0,3 a	3,2 ± 0,2 a
8- SfMNPV + tembotriona	1,6 ± 0,6 a	2,7 ± 0,1 ab	2,6 ± 0,1 a	3,0 ± 0,2 a
9- SfMNPV + éster metílico de óleo de soja	1,4 ± 0,6 a	3,0 ± 0,0 a	2,5 ± 0,0 ab	3,1 ± 0,0 a
10- SfMNPV + atrazina + éster metílico de óleo de soja	2,2 ± 0,4 a	2,4 ± 0,1 ab	2,8 ± 0,2 a	2,4 ± 0,3 ab
11- SfMNPV + tembotriona + éster metílico de óleo de soja	1,3 ± 0,2 a	2,2 ± 0,2 ab	2,2 ± 0,2 ab	2,9 ± 0,4 ab
12- SfMNPV+atrazina+tembotriona+éster metílico de óleo de soja	2,1 ± 0,4 a	2,6 ± 0,1 ab	2,3 ± 0,2 ab	3,0 ± 0,2 ab
CV (%)	26,16	14,93	20,10	18,19
F	0,72	3,25	2,83	3,12
p	<0,7158	<0,0057	<0,0103	<0,0055

Escala de dano de 0 a 5 proposta por Davis; Williams (1989) conforme descrita a seguir: 0, ausência de folhas danificadas; 1, presença de raspadura nas folhas; 2, presença de furo nas folhas; 3, presença de dano nas folhas e alguma lesão no cartucho; 4, presença de cartucho destruído; e 5, plantas mortas. Médias ± EP seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si (Tukey $p \leq 0,05$); Médias originais seguidas da análise realizada com dados transformados em .

Referências

- ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. 2. ed. Piracicaba: FEALQ, 1998.1163 p.
- ASANO, S. Ultraviolet protection of a granulovirus product using iron oxide. **Applied Entomology and Zoology**, v. 40, p.359-364, 2005.
- ÁVILA, C. J.; MELHORANÇA, A. L. Eficiência do vírus de poliedrose nuclear em mistura com herbicidas pós-emergentes, no controle de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera:Noctuidae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, v. 2, p. 28, 1999.
- BELDEN, J. B.; LYDY, M. J. Impact of atrazine on organophosphate insecticide toxicity. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 19, p. 2266-2274, 2000.
- BURR, I. W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: University of Purdue, 1972. 26 p. (Mimeo Series, 282).
- CAMPOS, H. de. **Estatística** experimental não-paramétrica. 3.ed. Piracicaba: USP, 1979. 332 p.
- CRUZ, I. **Manual de identificação de pragas do milho e de seus principais agentes de controle biológico**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008.192 p.
- CRUZ, I. **A lagarta-do-cartucho na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1995. 45 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular técnica, 21).
- CRUZ, I. Lagarta-do-cartucho: enfrente o principal inimigo do milho. **Cultivar**, Pelotas, v. 1, n. 1, p. 16-20, fev. 1999.
- DAVIS, F. M.; WILLIAMS, W. P. Methods used to screen maize for and to determine mechanisms of resistance to the southwestern corn borer and fall armyworm. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON METHODOLOGIES FOR DEVELOPING HOST PLAN RESISTANCE TO MAIZE INSECT, 1989, México. **Proceedings...** México [s.n], p. 101-108, 1989.
- FERNANDES, O. A.; CARNEIRO, T., R. Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* no Brasil. In: PINTO, A. S.; NAVA, D. E.; ROSSI, M. M.; MALERBO-SOUZA, D. T. (Eds.). **Controle biológico na prática**. Piracicaba: ESALQ-USP, 2006. p. 75-82.
- GAZZIERO, D. L. P. Misturas de agrotóxicos em tanque nas propriedades agrícolas do Brasil. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 33, n. 1, p. 83-92, 2015.
- GREENE, G.L.; LEPLA, N.C.; DICKERSON, W.A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium. **Journal of Economic Entomology**, v. 69, p. 488-497, 1976.
- McGUIRE, M. R.; TAMEZ-GUERRA, P.; BEHLE, R. W.; STREETT, D.A. Comparative field stability of selected entomopathogenic virus formulations. **Journal of Economic Entomology**. v. 94, p.1037-1044, 2001.
- PAPE-LINDSTROM, P. A.; LYDY, M. J. Synergistic toxicity of atrazine and organophosphate insecticides contravenes the response addition mixture model. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 16, p. 2415-2420, 1997.

PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. 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. p. 1-16.

PEREIRA, L. G. B.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; CORREA, A. G.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F.; MALASPINA, O. Biological activity of a stilbin from *Dimorphan dramollis* Bent. against *Anticarsia gemmatalis* Hubner and *Spodoptera frugiperda* Smith. **Pest Management Science**, v. 58, n. 5, p. 503-507, 2002.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide. Version 9.2. Cary: SAS Institute, 2009. 7869 p.

SHAPIRO, M.; EL-SALAMOUNY, S.; SHEPARD, B. M. Green tea extracts as ultraviolet protectants for the beet armyworm, *Spodoptera exigua*, nucleopolyhedrovirus. **Biocontrol Science and Technology**. v. 18, p. 591-603, 2008.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete sample). **Biometrika**, v. 52, n. 3, p. 591-611, 1965.

TUKEY, J. W.; Comparing individual means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 5, p. 99, 1949.

VALICENTE, F. H. Controle Biológico da Lagarta do Cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com Baculovírus. **Circular Técnico 114**. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Dezembro, 2009.

VALICENTE, F. H.; COSTA, E. F. Controle da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), com o *Baculovirus spodoptera*, aplicado via água de irrigação. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, n. 1, p. 61-67, 1995.

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. de S. Controle biológico da lagarta do cartucho, *Spodoptera frugiperda*, com baculovírus. In: ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M. C. (Ed.). **Controle biológico: pragas e doenças: exemplos práticos**. Viçosa : UFV, 2009. p. 275-310.

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. de S.; BARROS, E. C. de. **Processo de produção comercial de Baculovírus em grande escala**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 5 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 157).

VALICENTE, F. H.; TUELHER, E. de S.; PENA, R. C.; ANDREAZZA, R.; GUIMARÃES, M. R. F. Cannibalism and virus production in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae fed with two leaf substrates inoculated with *Baculovirus spodoptera*. **Neotropical Entomology**, v. 42, p. 191-199, 2013.

Avaliação funcional de proteínas candidatas a efetores de *Phakopsora pachyrhizi* por meio da análise de espécies reativas a oxigênio (ROS) e deposição de calose

UTIYAMA, A. S.¹; ABE, V. Y.²; DARBEN, L. M.²; CARVALHO, K.²; CARVALHO, M. C. C. G. de³; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.⁴

¹Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, asutiyama@hotmail.com; ²Estagiário, Embrapa Soja, Laboratório de Biotecnologia Vegetal; ³Universidade Estadual do Norte do Paraná, Bandeirantes, PR; ⁴Pesquisadora, Embrapa Soja.

Introdução

A ferrugem-asiática da soja (FAS) é uma doença causada pelo fungo biotrófico *Phakopsora pachyrhizi*. Ela destaca-se como a principal ameaça para a produção da cultura da soja no Brasil, pois em casos severos da doença, a perda da produção pode atingir até 90%. Além disso, os esporos de *P. pachyrhizi* são disseminados pelo vento, podendo atingir todas as regiões produtoras rapidamente, causando enormes prejuízos para a cultura e economia do país (Reis et al., 2006; Pioneer Sementes, 2016).

Para evitar que a ferrugem-asiática da soja atinja elevados níveis de severidade, vários métodos de controle podem ser utilizados pelo produtor, sendo o controle químico o mais utilizado. No entanto, a elevada variabilidade genética do patógeno, associada à forte pressão seletiva pelo elevado uso de fungicidas, tem proporcionado a rápida seleção de indivíduos resistentes, dificultando desta forma o manejo por parte dos agricultores. Por isso a associação de outras estratégias, como o vazio sanitário, a implantação de cultivares precoces, a semeadura no período indicado para cada região e o monitoramento frequente da lavoura são importantes para o controle. Adicionalmente, a utilização de cultivares de soja resistentes ou tolerantes à FAS, contendo os genes de resistência a *P. pachyrhizi* dominantes *Rpp* (*Rpp1*, *Rpp2*, *Rpp3*, *Rpp4*, *Rpp5*, *Rpp6* e *Rpp7*) (Bromfield; Hartwig, 1980; Hartwig, 1986; Garcia et al., 2008; Silva et al., 2008; Hyten et al., 2009; Li et al., 2012, Childs et al., 2018), constitui importante alternativa, auxiliando no manejo da cultura e redução nos custos de produção e no impacto ambiental devido ao uso indiscriminado de fungicidas (Pioneer Sementes, 2016).

Com o objetivo de encontrar soluções mais sustentáveis e duráveis para o controle da FAS, pesquisas sobre a interação planta-patógeno têm sido realizadas com o intuito de desvendar os mecanismos de ataque do patógeno e de defesa do hospedeiro a nível molecular. Dentre estes, destaca-se a predição do secretoma e proteínas efetoras de *P. pachyrhizi* (Carvalho et al., 2017). As plantas possuem um sistema de defesa baseado no sistema imune inato, ativado após reconhecimento de sinais da presença do patógeno. Esses sinais, denominados padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), são moléculas carregadas pela maioria dos microrganismos e são reconhecidos pelos receptores de reconhecimento padrão (PRRs), localizados na parede celular da planta. Deste modo, é ativada a imunidade desencadeada por PAMPs (PTI), também chamada de defesa basal. Dentre as respostas associadas a essa defesa estão a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e o acúmulo de calose. Alguns patógenos são capazes de suplantam essa defesa basal (PTI) pela produção de moléculas efetoras que contribuem para sua virulência, resultando na suscetibilidade desencadeada por efetores (ETS) (Abe, 2012; Jones; Dangl, 2006).

Os efetores podem atuar tanto nos mecanismos de virulência como de avirulência. Neste último caso, são codificados por genes dominantes de avirulência (*Avr*) e, uma vez identificado o gene candidato em bancos de dados por meio da bioinformática, por exemplo, a validação desses genes pode ser conduzida por meio de ensaios funcionais, como a expressão transiente em plantas e a consequente ativação ou supressão das respostas de defesa, como a produção de ROS e deposição de calose (Kamoun, 2006; Abe, 2012; Maia, 2013; Möller, 2014). O sistema EDV (*Effector Detector Vector*), baseado no Sistema de Secreção Tipo III (SST3) de fitobactérias, é um método de análise que se mostrou promissor para fungos biotróficos. Por meio do SST3 são translocadas proteínas codificadas por genes *hrp* (*hypersensitive response and pathogenicity genes*), sendo esses genes necessários para a patogenicidade em plantas hospedeiras e reações de hipersensibilidade em plantas não hospedeiras. Após o contato do complexo SST3 com a célula vegetal há a ativação da translocação das proteínas efetoras da bactéria para o citoplasma vegetal (Bittel; Robatzek, 2007).

Para o presente trabalho, as proteínas candidatas a efetores utilizadas foram anteriormente identificadas previamente pela equipe do projeto por meio

da combinação de métodos de microdissecção de captura a laser (LCM), sequenciamento de RNA e análises de bioinformática. Estas apresentaram características de candidato a efetor, como tamanho reduzido (<250 aminoácidos), riqueza de resíduos de cisteína (>3%) e forte expressão *in planta*, sendo então suas sequências agrupadas em famílias por comparação e similaridade (Carvalho et al., 2017).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar funcionalmente as proteínas candidatas a efetores de *P. pachyrhizi*, por meio da avaliação de sua capacidade de suprimirem as respostas de defesa basal quando expressas transientemente em folhas de *Nicotiana benthamiana* pela medição dos níveis de ROS e deposição de calose.

Material e Métodos

Nicotiana benthamiana é considerada uma planta modelo para estudos de sinalização de defesa proveniente da interação planta-patógeno devido à sua susceptibilidade a uma grande gama de variedades de agentes fitopatogênicos, como bactérias, oomicetos, fungos, etc. Além disso, pode ser geneticamente transformada e regenerada de modo eficiente, sendo passível de metodologias simples para expressão transiente de proteínas. Por isso, a *N. benthamiana* foi a planta utilizada para a presente pesquisa. Elas foram cultivadas em vasos de plástico de 500 mL preenchidos com solo tratado e peneirado, e mantidas em câmara de crescimento de plantas sob condições ideais de 50-55% de umidade, 24°C de temperatura e 12h/12h (luz/escuro) por, aproximadamente, cinco semanas.

A bactéria EtHAN (*Effector-to-Host Analyzer*) utilizada consiste em *Pseudomonas fluorescens Pf0-1*, uma bactéria de solo, não patogênica, que contém uma mutação no gene *hrp* e um SST3, permitindo a translocação do efetor para a planta. Essas colônias são armazenadas em ultrafreezer à -80°C e, cerca de 48h antes da infiltração, elas foram estriadas em placas de Petri com meio King-B (KB) e deixadas em estufa de crescimento em condições ideais de temperatura de 28°C. Após 48h, as placas contendo as bactérias foram lavadas com H₂O milliQ e suas soluções foram submetidas à centrifugação a 5000 rpm por 15 min. Após esse processo, o conteúdo líquido foi descartado e o pellet de bactérias foi ressuspenso em 2,0 mL de solução

Tampão (MgCl_2 10mM). A concentração das bactérias foi ajustada para uma $\text{OD}_{600}=0,5$.

Os tratamentos, que consistem em controle negativo (solução Tampão 10mM MgCl_2), controle positivo (EtHAn), e EtHAn contendo as diferentes proteínas candidatas a efetoras clonadas (de_novo_5849, de_novo_2238, de_novo_7164, de_novo_5381, de_novo_1784, e de_novo_3939), foram infiltrados na face abaxial das folhas de *N. benthamiana* com auxílio de uma seringa sem agulha, até formar uma circunferência de, aproximadamente, 1,5 cm. Na face adaxial, a circunferência foi demarcada com caneta permanente para, posteriormente, ter ciência da área infiltrada no momento de coleta dos discos foliares. Por fim, as plantas tratadas permaneceram na câmara climática para crescimento de plantas sob as mesmas condições já descritas.

Deteção da formação de espécies reativas à oxigênio (ROS) por meio do corante DAB

Decorrendo as 24h após a infiltração, os discos foliares foram coletados com auxílio de um perfurador de folha, buscando sempre manter a região da “picada” no centro do disco, e alocados na placa. Na capela de exaustão, fora adicionado à solução do corante DAB (seguindo as especificações do fabricante Invitrogen™), que realiza a pigmentação de ROS. Por fim, a placa foi coberta com alumínio, devido à foto sensibilidade do corante DAB, e deixada sob leve agitação por um período “overnight”.

Após esse período, os discos foliares foram lavados com água destilada e despigmentados, a fim de facilitar a visualização da pigmentação de ROS. Esse processo consiste na submissão dos discos foliares em uma solução 3:1:1 de Etanol:Glicerol:Ácido Acético à temperatura alta por 15 min, dentro da capela de exaustão. Por fim, foram preparadas lâminas com os discos foliares em glicerol 50%, e estas visualizadas em microscópio com a objetiva de 10x. A captura da imagem foi feita por meio do software Motic® Images Plus 2.0, de modo a demonstrar parte da região da “picada” em um dos quatro cantos da imagem.

Detecção do acúmulo de calose por meio do corante azul de anilina

Decorrendo as 72h após a infiltração, os discos foliares foram coletados da mesma maneira descrita anteriormente. Diferente do processo anterior, o procedimento de despigmentação da clorofila ocorre antes da pigmentação com o corante azul de anilina. A despigmentação consiste na imersão dos discos foliares em 2,0 mL de Etanol 95% sob leve agitação à 37°C por pelo menos 6h. Posteriormente, foi realizado etapas de reidratação dos discos foliares com soluções menos concentradas de Etanol (70%, 30% e água destilada) sob leve agitação. Ao final, foi adicionado aos discos foliares a solução corante azul de anilina (que cora estruturas de calose provenientes da infecção de patógenos no tecido foliar) + Tween® 20, cobriu-se a placa com alumínio e deixou-a sob leve agitação por 2h. Posteriormente, foram preparadas as lâminas com os discos foliares em glicerol 50%, e estas foram analisadas por meio de microscopia de fluorescência, utilizando o filtro DAPI, onde as partes pigmentadas com o azul de anilina são excitadas por meio da luz U.V. do microscópio. As imagens foram documentadas por meio do software Zeiss AxioVision 3.0, com visualização na objetiva de 5x.

Resultados e Discussão

A produção de ROS e a deposição de calose são consideradas respostas de defesa basal associadas à PTI. A produção de ROS é proveniente de injúrias no tecido vegetal e elicitores fúngicos e bacterianos, resultando em sucessiva adição de elétrons ao oxigênio molecular (O_2) e gerando moléculas como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que está associado à sinalização de indução de defesa na planta. Já a calose (polímero 1,3- β -glucano), juntamente com a lignina, fortificam a parede celular e atuam como uma matriz antimicrobiana (Bunchanan et al., 2015). A *Pseudomonas fluorescens Pf0-1*, quando infiltrada no tecido apoplástico de *N. benthamiana*, promove essas respostas de defesa. Já os efetores fúngicos possuem um importante efeito funcional, sendo a supressão dessas respostas associadas à PTI.

Por meio das imagens de pigmentação de ROS por DAB (Figura 1A) e de deposição de calose por azul de anilina (Figura 1B), observou-se que o controle negativo (solução Tampão 10mM $MgCl_2$), por ter ausência do patógeno, não há a indução de resposta de defesa. Consequentemente, não foram obser-

vados ROS e estruturas de calose corados. No controle positivo (EtHAn), por ocorrer o reconhecimento da bactéria, observa-se a pigmentação de ROS e estruturas de calose, evidenciando a resposta de defesa associada à PTI. Já os tratamentos de EtHAn contendo as diferentes proteínas candidatas a efetoras clonadas demonstraram mínima pigmentação de ROS e estruturas de calose.

Observa-se que a coloração das imagens dos tratamentos com as proteínas candidatas assemelha-se com as imagens do controle negativo, demonstrando que as proteínas candidatas a efetoras foram capazes de suprimir a PTI em diferentes níveis, indicando uma atividade efetora.

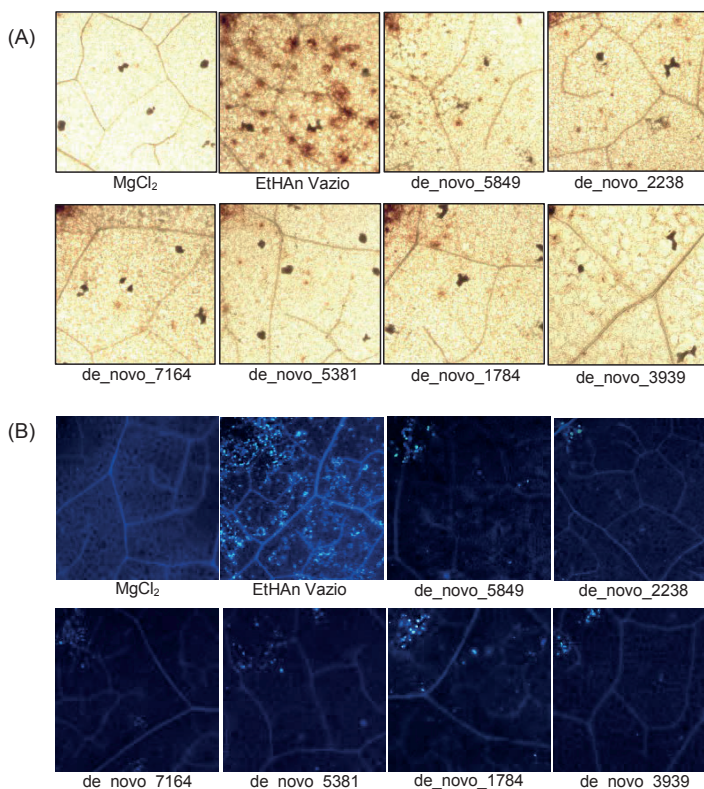


Figura 1. Folhas de *N. benthamiana* infiltradas com o controle negativo (MgCl₂), controle positivo (EtHAn Vazio) e os tratamentos de EtHAn contendo as proteínas candidatas a efetoras (de_novo_5849, de_novo_2238, de_novo_7164, de_novo_5381, de_novo_1784, e de_novo_3939); pigmentadas com corante (A) DAB para observação de ROS e (B) azul de anilina para observação de estruturas de calose para avaliação de resposta de defesa associada à PTI.

Conclusão

Com base nos resultados, foi possível validar funcionalmente pelo menos seis proteínas candidatas a efetores de *P. pachyrhizi* pela sua capacidade de suprimir as respostas basais de defesa (PTI), baseado na redução dos níveis ROS e calose, ambas respostas de PTI, quando estas foram expressas transientemente em folhas de *N. benthamiana* utilizando o sistema de secreção tipo III da bactéria *P. fluorescens*. Tais dados contribuem para a melhor compreensão do sistema de interação planta-patógeno e possibilita a continuidade de experimentos futuros para confirmação e validação das proteínas candidatas a efetoras como proteínas efetoras de *P. pachyrhizi*.

Referências

- ABE, V. Y. **Expressão transiente de genes de *Phakopsora pachyrhizi* em genótipos resistentes de soja visando a identificação de genes de avirulência**. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BITTEL, P.; ROBATZEK, S. Microbe-associated molecular patterns (MAMPS) probe plant immunity. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 10, n. 4, p. 335-341, 2007.
- BROMFIELD, K. R.; HARTWIG, E. E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. **Crop Science**, v. 20, p. 254-255, 1980.
- CARVALHO, M. C. C. G. de; NASCIMENTO, L. C.; DARBEN, L. M.; POLIZEL-PODANOSQUI, A. M.; LOPES-CAITAR, V. S.; MISHENG, Q.; ROCHA, C. S.; CARAZZOLLE, M. F.; KUWAHARA, M. K.; PEREIRA, G. A. G.; ABDELNOOR, R. V.; WHITHAM, S. A.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C. Prediction of the *in planta* *Phakopsora pachyrhizi* secretome and potential effector families. **Molecular Plant Pathology**, v. 18, n. 3, p. 366-377, 2017.
- CHILDS, S. P.; KING, Z. R.; WALKER, D. R.; HARRIS, D. K.; PEDLEY, K. F.; BUCK, J. W.; BOERMA, R.; LI, Z. Discovery of a seventh *Rpp* soybean rust resistance locus in soybean accession PI 605823. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 131, n. 1, p. 27-41, 2018.
- GARCIA, A.; CALVO, E. S.; KIIHL, R. A. S.; HARADA, A.; HIROMOTO, D.; VIEIRA, L. Molecular mapping of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi*) resistance genes: discovery of a novel locus and alleles. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 117, p. 545-553, 2008.
- HARTWIG, E. E. Identification of a fourth major gene conferring resistance to soybean rust. **Crop Science**, v. 26, p. 1135-1136, 1986.
- HYTEN, D. L.; SMITH, J. R.; FREDERICK, R. D.; TUCKER, M. L.; SONG, Q.; CREGAN, P. B. Bulk segregant analysis using the goldengate assay to locate the *Rpp3* locus that confers resistance to soybean rust in soybean. **Crop Science**, v. 49, p. 265-271, 2009.
- JONES, J. D.; DANGL J. L. The plant immune system. **Nature**, v. 444, p. 323-329, 2006

KAMOUN S. A catalogue of the effector secretome of plant pathogenic oomycetes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, p. 41-60, 2006.

LI, S.; SMITH, J. R.; RAY, J. D.; FREDERICK, R. D. Identification of a new soybean rust resistance gene in PI567102B. **Theoretical Applied Genetics**, v. 125, p. 133-142, 2012.

MAIA, T.A. **Identificação e análise funcional de efetores de *Hemileia vastatrix*, agente causal da ferrugem do cafeeiro**. 2013. 124 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

MÖLLER, P.A. **Análise funcional de genes de *Phakopsora pachyrhizi* candidatos a efetores utilizando o sistema EDV**. 2014. 61 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

PIONEER SEMENTES. **O comportamento da ferrugem asiática na soja ao longo dos anos, dificuldades de controle e seus custos**. Disponível em: <<http://www.pioneersementes.com.br/media-center/artigos/193/o-comportamento-da-ferrugem-asiatica-na-soja-ao-longo-dos-anos-dificuldades-de-controle-e-seus-custos>>. Acesso em: 28 mai. 2018.

REIS, E. M.; BRESOLIN, A. C. R.; CARMONA, M. **Doenças da soja I: ferrugem asiática**. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2006. 48p.

SILVA, D. C. G.; YAMANAKA, N.; BROGIN, R. L.; ARIAS, C. A. A.; NEPOMUCENO, A. L.; DI MAURO, A. O.; PEREIRA, S. S.; NOGUEIRA, L. M.; PASSIANOTTO, A. L. L.; ABDELNOOR, R. V. Molecular mapping of two loci that confer resistance to asian rust in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 117, n. 1, p. 57-63, 2008.

Análise funcional do gene At4g10250 em resposta à infecção por *Meloidogyne javanica* em *Arabidopsis thaliana*

SILVA, A.G.¹; HISHINUMA-SILVA, S.M.²; LOPES-CAITAR, V.S.²; NOMURA, R.G.²; DIAS, W.P.³; LOPES, I.O.N.³; CARVALHO, M.C.C.G.¹; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.³

¹UENP, Bandeirantes, PR, aline.uenp@hotmail.com; ² Universidade Estadual de Londrina;

³Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

A soja é a principal oleaginosa cultivada no mundo, sendo o cultivar brasileiro que mais cresceu nas últimas três décadas (Juhász et al., 2013). Segundo dados da Conab (2018), o Brasil aumentou sua safra de soja em 74,8% nos últimos 10 anos, com aumento de área de 40,4% e produtividade de 24,5%. Na safra 2017/2018, a produtividade média da soja brasileira chegou a 3.333 kg/ha, 2,6% superior à safra anterior.

Como consequência da ampliação nacional dessa cultura, a impulsão da monocultura e a adoção de práticas inapropriadas no manejo, como por exemplo, a sequência de sucessões entre soja e milho que é feita na região tropical do Brasil, a qual apresenta condições como umidade e temperatura favoráveis à reprodução e alimentação de nematoides, têm implicado em aumento das populações de nematoides como os de galhas *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* (Dias et al., 2017). O fitonematoide *M. javanica* merece destaque pois exibe ampla distribuição geográfica, além de apresentar hábito alimentar polífago (Santini, 2014). Segundo a Sociedade Brasileira de Nematologia (2016), os nematoides acabam comprometendo o sistema radicular da planta, podendo levar a uma perda de produtividade de 30% a 100%, ou até 10,6% da soja mundial (Silva et al., 2006). Tais perdas podem ser muito maiores, dependendo das condições edafoclimáticas e da variedade utilizada.

Por outro lado, as plantas, podem resistir a ataques de patógenos pela ativação de uma larga variedade de mecanismos de defesa. Dentre esses mecanismos, a ação de proteínas choque térmico (HSP) tem sido descrita (Castro et al., 2013). Essas proteínas (HSP60, HSP70, HSP90, HSP100 e HSP20)

são agrupadas com base em seu tamanho e homologia e tem como função principal atuar como chaperonas moleculares (Freitas et al., 2012).

A expressão das proteínas HSP20 é induzida em resposta ao estresse de calor, mas também já foi identificada a participação dessas proteínas associadas a outros estímulos abióticos, como o déficit de água, metais pesados, ozônio e radiação UV (Barcala et al., 2008) in the roots of infected plants, the differentiation of special feeding cells with high metabolic activity (syncytia and giant cells, respectively, bem como sob estímulos bióticos, como a infecção por patógenos como os nematoides (Escobar et al., 2003; Kandoth et al., 2011).

Com base neste conhecimento, Lopes-Caitar et al. (2013) identificaram *in silico* os membros da família dos genes *GmHsp20* em soja, bem como caracterizaram a de expressão *in vivo* destes membros sob diferentes estresses bióticos e abióticos. Como resultado, seis genes HSP20 induzidos apenas no genótipo de soja resistente ao *M. javanica* foram identificados, dentre os quais o gene *GmHsp22.4*, apresentou elevada indução de sua expressão, em torno de 60 vezes maior, quando inoculado com esse nematoide.

O presente trabalho teve como objetivo analisar o efeito da inserção de T-DNA nas regiões promotora e codificadora do gene ortólogo *GmHsp22.4* em *A. thaliana* (*At4g10250*), sob a infecção pelo nematoide *M. javanica*, visando caracterizar funcionalmente o efeito direto desta chaperona frente à infecção a este fitonematoide.

Material e Métodos

Material biológico

O experimento foi conduzido na Embrapa Soja, em Londrina, PR, durante os meses de janeiro a abril de 2018. Para analisar o efeito das mutações no gene *At4g10250*, foram utilizadas sementes transformadas de *A. thaliana*, obtidas do banco de dados “The Arabidopsis Information Resource” (TAIR, 2018), com duas diferentes linhas de inserção de T-DNA, sendo uma na região promotora (WiscDsLox489-492E13) e outra na codificadora (Gabi_265F12), com mutações que levam a perda de função do fragmento.

Para a instalação do experimento, as sementes foram previamente multiplicadas até a obtenção da quantidade necessária, sendo a confirmação da homozigose dos diferentes eventos confirmada por PCR.

Preparo do inóculo

A população de *M. javanica* foi multiplicada na casa de vegetação do Setor de Nematologia da Embrapa Soja, em plantas de soja do genótipo suscetível Doko RC por aproximadamente 90 dias. As raízes das plantas infectadas foram processadas de acordo com a técnica de Coolen e D'Herde (1972), lavadas, cortadas em pedaços e trituradas em liquidificador, para extração dos nematoides. Posteriormente, as amostras foram passadas em peneiras de 200 e 500 meshes e, após enxágue com água corrente, o conteúdo retido na peneira de 500 meshes foi recuperado em beakers e disposto em câmara de eclosão por 6 dias. Após esse período, os indivíduos viáveis foram recuperados e o material obtido foi quantificado em câmara de Peters, utilizando 1mL da suspensão para a projeção do número total de indivíduos. O inóculo foi ajustado para aproximadamente 400 indivíduos.mL⁻¹.

Bioensaio com nematoides

O experimento com plantas de *A. thaliana* transformadas seguiu o delineamento inteiramente casualizado, com 20 repetições para cada construção, visando a comparação entre os genótipos selvagem (WT) e 2 eventos de transformação (mutação na região codificadora-GABI e mutação na região promotora-WISC). No total, foram utilizados 60 copos plásticos de 200mL contendo areia autoclavada e enriquecida com solução nutritiva, sendo uma planta por copo.

A inoculação de cada planta foi feita através de pipetagem de 1mL de juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. javanica* junto às raízes, através de um pequeno orifício aberto ao lado da raiz da planta, totalizando aproximadamente 400 nematoides/planta.

A temperatura utilizada foi adaptada para favorecer tanto a planta como os nematoides. Desta forma, as plantas de *A. thaliana* foram cultivadas em câmara fitotron à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 8 horas de luz e 16

horas no escuro, a fim de se estender seu ciclo possibilitando a conclusão do ciclo dos nematoides.

Caracterização morfológica dos eventos de *A. thaliana*

Após 45 dias de plantio, foi realizada a coleta do tecido radicular das plantas de *A. thaliana*. Foram avaliados os parâmetros peso e comprimento da raiz, número de folhas e peso da parte aérea, a fim de se avaliar a influência das inserções na morfologia das plantas.

Avaliação dos nematoides

Foi realizada a contagem das fêmeas adultas localizadas nas raízes, após a coloração com a fucsina ácida (Taylor; Sasser, 1978), e número total de ovos e nematoides (Coolen; D'Herde, 1972), após os 45 dias de inoculação. Todos os parâmetros avaliados foram comparados entre as plantas WT e os eventos de transformação (GABI e WISC). Foi realizada análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5%.

Resultados e Discussão

Os comprimentos da raiz da mutação na região promotora e codificadora foram de aproximadamente 11,0 cm, igualmente observada na selvagem (Figura 1A). A mesma característica foi encontrada quando se avaliou o peso da raiz, sendo que, para o evento com a alteração na região promotor e na codificadora, os valores obtidos foram de 0,8353 g e 0,9382 g, respectivamente (Figura 1B). Já para o evento controle o peso da raiz foi de 0,9764 g, não apresentando diferença significativa (Figura 1B).

Em relação ao parâmetro número de folhas e peso da parte aérea, os valores também não apresentaram diferença significativa (Figura 1C e D). Desta forma, os resultados obtidos permitiram observar que, em ambas as mutações, não foi possível identificar diferenças significativas no desenvolvimento das plantas, quando comparada à planta selvagem.

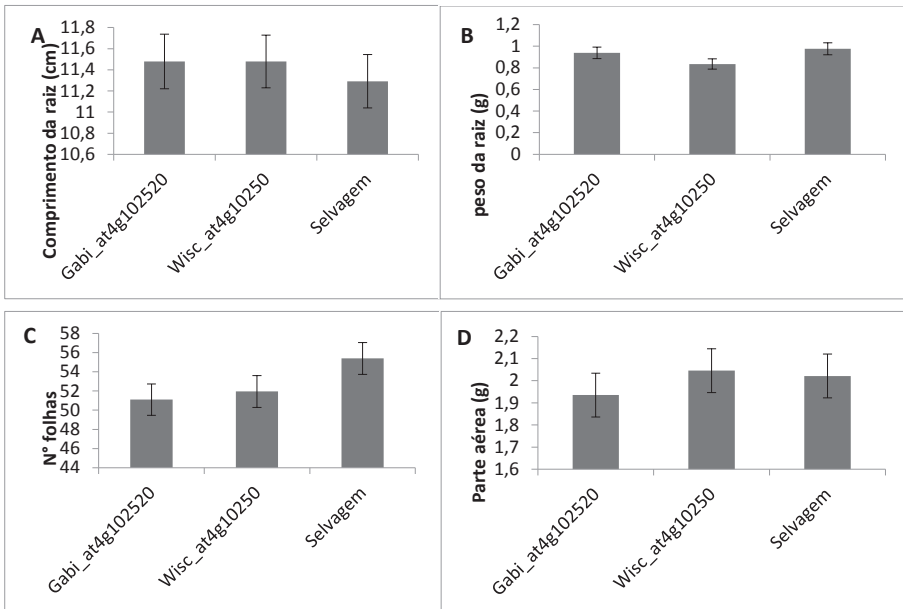


Figura 1. Caracterização morfológica da *A. thaliana* exibindo a alteração na região codificadora e promotora do gene *At4g10250* e o controle selvagem (n=20). (A) Comprimento da raiz em cm. (B) Peso da raiz em g. (C) Número de folhas. (D) Peso da parte aérea. Média de 20 repetições \pm erro padrão da média.

O efeito da inserção de T-DNA na região promotora e codificadora do gene *At4g10250*, sob a infecção do nematoide de galha, foi examinada pela contagem do número de fêmeas e número de ovos e juvenis. A média do número de fêmeas em GABI foi de 24,6155, e para o evento WISC foi de 26,5143 significativamente maiores que no controle selvagem, que foi de 10,0388 (Figura 2A). De maneira semelhante, na contagem do número de ovos e juvenis, verificou-se um aumento apenas nas plantas de *A. thaliana* mutantes, com o valor de 2.631,15 para a região codificadora e 1.636,29 para a região promotora, enquanto para o controle, o valor foi de 964,686.

Com base nos resultados, pode se concluir que a mutação na região codificadora acentuou o número de ovos/juvenis encontrados, apresentando uma significância estatística de 5%, quando comparado a selvagem. Já o efeito da mutação na região promotora pode ser observada apenas ao nível de significância de 10%, no que se refere ao número de ovos e juvenis, em comparação com as selvagens. Esses dados demonstram que ambas as

regiões, quando mutadas, têm um maior parasitismo e desenvolvimento de nematoides.

Mais estudos são necessários, a fim de se averiguar a relação desse gene com a infecção e multiplicação dos nematoides, na tentativa de confirmar assim, a condição de um estresse biótico ocasionado pelo nematoide.

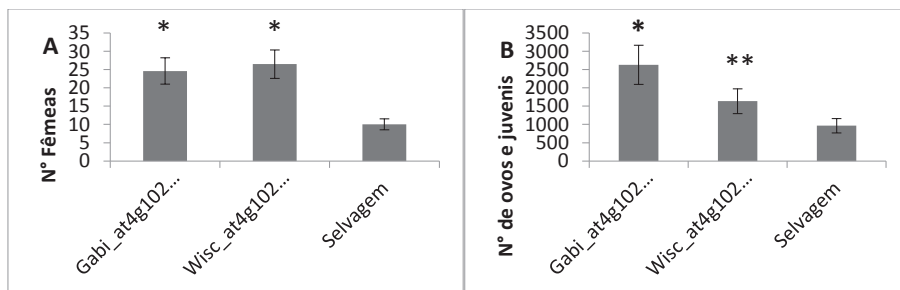


Figura 2. Caracterização fenotípica da *A. thaliana* exibindo a alteração na região codificadora e promotora do gene *At4g10250* e o controle selvagem (n=20). Os dados são expressos como a média \pm erro padrão da média. * indica significância estatística ao nível de 5% em comparação com o WT e ** indica significância estatística ao nível de 10% em comparação com o WT.

Conclusão

Não há alteração morfológica entre os mutantes e o controle selvagem sob infecção do nematoide *M. javanica*, mostrando que as mutações, tanto na região promotora quanto na região codificadora do gene *At4g10250*, não exercem influência no desenvolvimento das plantas. Entretanto, ambas as mutações têm efeito direto na infecção e multiplicação dos nematoides.

Referências

BARCALA, M.; GARCÍA, A.; CUBAS, P.; ALMOGUERA, C.; JORDANO, J.; FENOLL, C.; ESCOBAR, C. Distinct heat-shock element arrangements that mediate the heat shock, but not the late-embryogenesis induction of small heat-shock proteins, correlate with promoter activation in root-knot nematode feeding cells. **Plant Molecular Biology**, v. 66, p. 151-164, 2008.

CASTRO, S. V.; LOBO, C. H.; FIGUEIREIDO, J. R.; RODRIGUES, A. P. R. Proteínas de choque térmico hsp 70: estrutura e atuação em resposta ao estresse celular. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 4, p. 261-271, 2013.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, v. 5, safra 2017/18, n. 9, nono levantamento, jun. 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/20861_fb79e3ca2b3184543c580cd4a4aa402b>. Acesso em: 18 jun. 2018.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agriculture Research Center, 1972. 77 p.

DIAS, W. P.; MORAES, L. A. C.; CARVALHO, C. G. P.; ORSINI, I. P.; LEITE, R. M. V. B. de C. **Sucessão soja/girassol como opção de manejo em áreas infestadas com nematoides de galha e das lesões radiculares**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 7 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 135).

ESCOBAR, C.; BARCALA, M.; PORTILLO, M.; ALMOGUERA, C.; JORDANO, J.; FENOLL, C. Induction of the Hahsp17.7G4 promoter by root-knot nematodes: involvement of heat-shock elements in promoter activity in giant cells. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 16, n. 12, p. 1062-1068, 2003.

FREITAS, W. E. de S.; FERNANDES, P. L.; LEITE, G. A.; DANTAS, J. I. A.; PONTES, C. A.; CARVALHO, C. A. C. Ação das proteínas de choque térmico em frutos. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 8, n. 4, p. 1-6, 2012.

JUHÁSZ, A. C. P.; PÁDUA, G. P.; WRUCK, D. S. M.; FAVORETO, L.; RIBEIRO, N. R. Desafios fitossanitários para a produção de soja. **Informe Agropecuário**, v. 34, n. 276, p. 66-75, 2013.

KANDOTH, P. K.; ITHAL, N.; RECKNOR, J.; MAIER, T.; NETTLETON, D.; BAUM, T. J.; MITCHUM, M. G. The soybean Rh1 locus for resistance to the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* regulates expression of a large number of stress-and defense-related genes in degenerating feeding cells. **Plant Physiology**, v. 155, p. 1960-1975, 2011.

LOPES-CAITAR, V. S.; CARVALHO, M. C. C. G.; DARBEN, L. M.; KUWAHARA, M. K.; NEPOMUCENO, A. L.; DIAS, W. P.; ABDELNOOR, R. V.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C. Genome-wide analysis of the Hsp20 gene family in soybean: comprehensive sequence, genomic organization and expression profile analysis under abiotic and biotic stresses **BMC Genomics**, v. 14, n. 577, 2013. 17 p.

SANTINI, L. **Análise, via RNAseq, do transcrito do feijoeiro e identificação de genes expressos em resposta à infecção pelo nematoide das galhas**. 2014. 118 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

SILVA, J. F. V. da; DIAS, W. P.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. de S. Perdas por nematóides chegam a 10,6% da soja mundial. **Visão Agrícola**, v. 3, n. 5, p. 103-107, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA. **Fernando Baida dá o recado em Dia de Campo**. SBN, 2016. Disponível em: <<http://nematologia.com.br/tag/nematoides-em-soja>>. Acesso em: 18 jun. 2018.

TAIR. **The Arabidopsis Information Resource**. Disponível em: <<https://www.arabidopsis.org>>. Acesso em: 12 jun. de 2018.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. **Biology, identification and control of root-knot nematodes (Meloidogyne species)**. Raleigh: International Meloidogyne Project, NCSU & USAID Coop. Publ., 1978. 111p.

Métodos para quantificação do teor disponível de K no solo

GONÇALVES, M. S.¹; CORSINO, D. L. M.¹; KLEINERT, J. J.²; GERMANO, M. G.³; CASTRO, C. de⁴; OLIVEIRA JUNIOR, A. de⁴

¹UEL-Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, moh_goncalves@hotmail.com;

²Químico Industrial; ³Analista, Embrapa Soja; ⁴Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

O potássio (K) é um dos nutrientes mais importantes para o desenvolvimento das culturas. Depois do nitrogênio, constitui o mineral mais absorvido pela soja (*Glycine max*), visto que para cada 1000 kg de grãos produzidas são absorvidos 58 kg ha⁻¹ de K₂O. Os teores de nutrientes nos tecidos vegetais podem apresentar grande variabilidade em função da disponibilidade no solo e da eficiência de absorção e utilização (Marschner, 1995).

O K do solo é encontrado na solução do solo e nas formas trocável, não trocável (fixado) e estrutural. O suprimento para as plantas advém da solução e dos sítios de troca dos colóides do solo, que estão em equilíbrio com o K não trocável e com o K estrutural dos minerais (Sparks; Huang, 1985). A disponibilidade de K, assim como a capacidade de suprimento deste nutriente pelo solo, depende da presença de minerais primários e secundários, da aplicação de fertilizantes e da CTC do solo, além da ciclagem do nutriente pelas plantas. Depende também das formas de potássio presentes e da quantidade armazenada em cada uma dessas formas, aspectos que contribuem na movimentação e dinâmica do mesmo no perfil do solo (Rosolem; Nakagawa, 2001).

O teor do K na solução do solo pode variar desde 1 a 50 mg.L⁻¹ ou mais em áreas fertilizadas, dependendo das características químicas e mineralógicas do solo. O K trocável no solo constitui a reserva prontamente disponível, absorvido pelas plantas no período de cultivo. Solos com alto teor de K trocável, em equilíbrio com o K da solução do solo, mantêm o gradiente de concentração o que favorece a difusão do K para junto da superfície radicular das plantas (Meurer, 2006).

Métodos de análise espectroscópicos foram avaliados para determinação de K em amostras de solos. Na fotometria de chama, que consiste na medida de radiação emitida por átomos ou íons em que a solução da amostra é previamente nebulizada, a fonte de excitação é do tipo chama (Lajunen, 1992). Esta técnica implica em etapas e custos adicionais ao processo de extração.

Em contrapartida, o fundamento da determinação por absorção atômica é a medida da intensidade da radiação absorvida por átomos de um elemento no estado fundamental em altas temperaturas, no comprimento de onda da linha de ressonância, permitindo maior seletividade. A determinação via absorção atômica constitui metodologia simples, com potencial para acelerar o processo de análise.

A solução extratora Mehlich-1, também chamada de solução duplo-ácida ou Carolina do Norte (Mehlich, 1953), é constituída por uma mistura de HCl e H_2SO_4 . O emprego dessa solução como extratora de fósforo, potássio, sódio e micronutrientes do solo baseia-se na solubilização desses elementos pelo efeito de pH entre 2 e 3, sendo o papel do Cl⁻ o de restringir o processo de readsorção dos fosfatos recém-extraídos.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade técnica de quantificação da concentração de K por absorção atômica, em comparação à fotometria de chama, para determinação dos teores deste nutriente em amostras de solo.

Material e Métodos

Foram avaliadas 20 amostras do solo no Laboratório de Análise de Solo e Tecido Vegetal da Embrapa Soja (Londrina, PR), com grande amplitude nos teores de K, além de seis amostras (CQ) do ensaio Inter laboratorial da Comissão Estadual de Laboratórios de Análises Agronômicas (CELA-PR). Os extratos foram analisados em triplicata, totalizando 78 leituras. As médias foram utilizadas para a construção do modelo de regressão linear.

A extração de K via Mehlich-1 (H_2SO_4 0,025 mol L⁻¹ e HCl 0,1 mol L⁻¹) foi feita segundo metodologia descrita por Silva (2009). O método utiliza a razão solo:extrator de 1:10, agitação por 10 minutos a 200 rpm, seguido de decantação por 16h. Por rotina, a determinação analítica da concentração de K no extrato é realizada por fotometria de chama, utilizando o equipamento marca/

modelo Digimed/DM-62, com as seguintes condições operacionais: chama de GLP/ar, que abrange uma faixa de leitura 0-100 mg L⁻¹. A determinação da concentração de K, por espectrometria de absorção atômica (EAA), foi realizada com equipamento marca/modelo Perkin Elmer/PinAAcle 900 F.

Foram testados três parâmetros (condições) de operação do EAA descritos na Tabela 1. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados considerando-se LD = 3 s/b e LQ = 10 s/b, onde (s) é o desvio-padrão (b) é a inclinação da curva de calibração (Ribeiro et al., 2008).

Tabela 1. Parâmetros de análise avaliados na técnica de absorção atômica no presente estudo

Modo de operação	Condição 1 Absorção	Condição 2 Absorção	Condição 3 Emissão
Comprimento de onda (nm)	769,9	404,4	766,5
Slit (nm)	0,2	0,7	0,2
Corrente HCL*	12		N/A**
Fluxo Ar (L/min)	10		
Fluxo Acetileno (L/min)	2,66		

*HCL: Hollow Catode Lamp; ** não aplicável

O fluxo de gases do equipamento foi ajustado para todas as condições em 2,66L/min para obtenção de maior sensibilidade. Para o modo de absorção atômica a 769,9 nm (condição 1) foi utilizada uma curva expandida para 50 ppm com coeficiente de correlação de Pearson $r = 0,99$ (Tabela 2). O *slit* padrão de 0,7 foi ajustado para 0,2 com o objetivo de reduzir a intensidade de energia radiante que chega ao detector, modulando o sinal e aumentando a seletividade.

A metodologia estatística utilizada foi proposta por Leite e Oliveira (2002). O teste verifica se houve semelhança entre os métodos apresentados. No procedimento foram comparadas duas variáveis dependentes quantitativas, no qual foi avaliado três testes: (I) $F(H_0)$ para averiguar os estimadores do modelo de regressão linear b_0 e b_1 são iguais a 0 e 1; (II) o teste t, utilizado para o erro médio ($t_{\text{erro médio}}$), que avalia a possibilidade de variáveis que se relacionam na precisão do método em comparação e (III) análise do coeficiente de correlação linear ($r_{y_i y_j}$) em comparação do erro médio

$[(r_{y_i y_j}) \geq |1 - \text{erro médio}|]$. Com base nessas estatísticas, é proposta uma regra de decisão para o teste de hipóteses de identidade entre dois vetores quaisquer, ou seja, grupos de dados quantitativos. Dessa maneira, os métodos comparados são idênticos:

em que, y_i e y_j são as variáveis em estudo,

$$\text{a) } F(H_0) = \text{ns}; t_{\text{erro médio}} = \text{ns}; [(r_{y_i y_j}) \geq |1 - \text{erro médio}|] = \text{Sim}) F(H_0) = *; t_{\text{erro médio}} = \text{ns};$$

$$[(r_{y_i y_j}) \geq |1 - \text{erro médio}|] = \text{Sim}$$

Resultados e Discussão

O limite de detecção e o limite de quantificação foram respectivamente de 0,31 mg/L e 1,04 mg/L. Para a condição 2 (404,7 nm), e os limites de detecção e de quantificação foram respectivamente de 2,67 mg/L e 8,90 mg/L. No modo de emissão atômica em 766,5 nm, os limites de detecção e quantificação não foram calculados (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros obtidos a partir das condições testadas para o uso da técnica de absorção atômica

	EAA Condição 1	EAA Condição 2	EAA Condição 3
Linearidade da curva (máx, ppm)	50	20	não linear
r	0,99	0,99	0,59
Slope (sensibilidade)	0,05062	0,00039	296,7649
LD (mg/L)	0,31	2,67	N/C*
LQ (mg/L)	1,04	8,9	N/C*

*N/C: não calculados; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação

Com base nos parâmetros obtidos em função das duas condições testadas no EAA, foi possível selecionar a melhor opção de configuração de operação, para ser posteriormente correlacionada com o método convencional em fotômetro de chama. Assim, optou-se pela condição 1 em virtude da alta correlação entre a concentração e os valores de absorbância, bem como menores limites de detecção (LD) e detecção (LQ), quando comparados com a condição 2 e com os valores obtidos em fotômetro de chama (LD: 0,42 mg/L e LQ: 1,41 mg/L).

O método testado na condição 2 não foi escolhido para comparação em virtude da baixa sensibilidade e altos valores de LD e LQ. Simultaneamente, a condição 3 foi rejeitada em virtude da não linearidade da curva de calibração (baixa correlação entre a concentração de K e os valores de intensidade de emissão); desse modo, para esta condição, os LD e LQ não foram calculados.

Os valores médios da concentração de K nas amostras de solo obtidos via fotometria de chama e absorção atômica estão representados na figura 1.

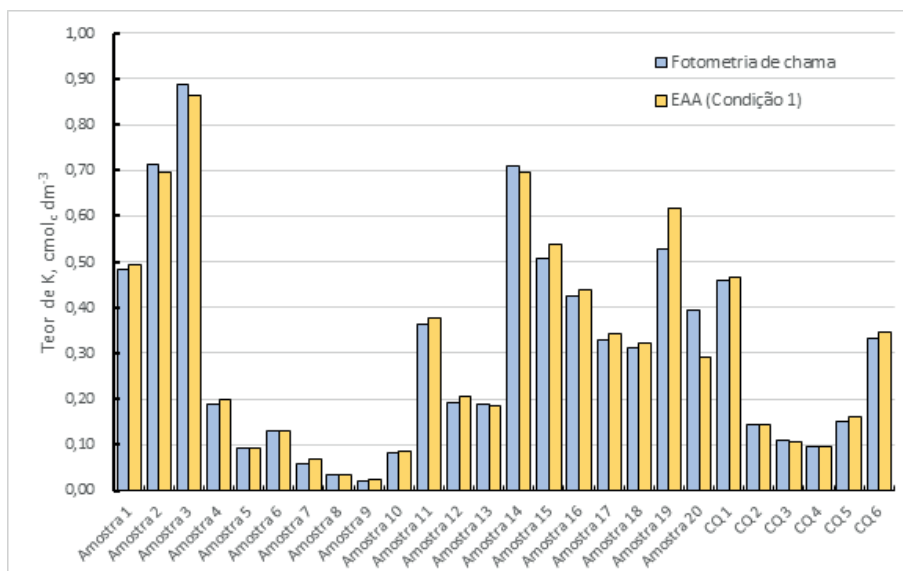


Figura 1. Teores médios de K obtidos em função das formas de quantificação dos extratos: Fotometria de chama (condição de rotina) e EAA – Espectrometria de Absorção Atômica. CQ: amostras Cela-PR

O teste proposto por Leite e Oliveira (2002) (Figura 2) demonstrou que *houve igualdade* nas concentrações de K determinadas pelo método convencional (fotometria de chama) e absorção atômica a 769,9 nm (condição 1). Em ambos os casos, a identidade foi verificada pelo atendimento das pressuposições do teste t para o erro médio, que não foi significativo.

$$F(H_0) = \frac{(\beta - \theta)(Y_1 Y_1) \beta - \theta}{\bar{e} - 0} \sim F_{\alpha}(2, n - 2 \text{ d.f.}) = 0,041 \text{ ns}$$

$$t_{\bar{e}} = \frac{\bar{e} - 0}{S_{\bar{e}}} = 1,629 \text{ ns}$$

$$r_{Y_j Y_i} \geq |1 - \bar{e}| \text{ ?} = \text{sim}$$

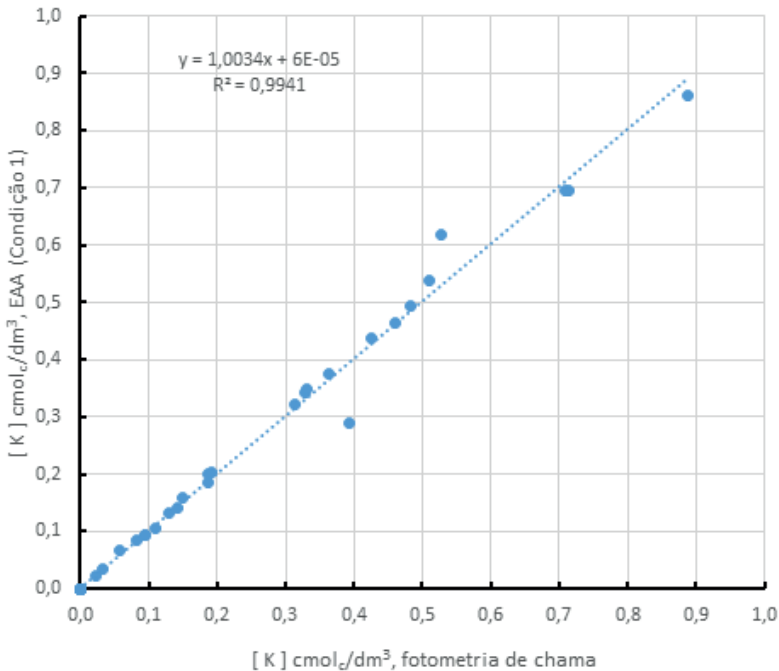


Figura 2. Modelo de regressão linear ajustado para as concentrações de K testados no método padrão (fotometria) e as concentrações por EAA.

Conclusão

Muito embora sejam necessários estudos complementares para refinar a técnica de análise via absorção atômica, o fato de haver identidade é um excelente indicativo de que o método constitui uma opção menos onerosa, com redução de etapas, uma vez que utiliza apenas um equipamento para determinação de vários elementos em amostras de solo (K e micronutrientes) a partir de um único extrator, além de se obter um ganho na sensibilidade analítica, indicando o potencial de uso da EAA para quantificação do K.

Referências

- LAJUNEN, L.H.J. **Spectrochemical analysis by atomic absorption and emission**. 2nd. ed. Cambridge: The Royal Society Chemistry, 2002.
- LEITE, H. G.; OLIVEIRA, F. H. T. Statistical procedure to test the identity of analytical methods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 33, p. 1105-1118, 2002.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889 p.
- MEHLICH, A. **Determination of P, Ca, Mg, K, Na and NH₄ by North Carolina Soil Testing Laboratories**. Raleigh: University of North Carolina, 1953.
- MEURER, E.J. Potássio. In: FERNANDES, M.S. (Ed.). **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. p.281-299.
- RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA, L. R.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: Uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos variados. **Química Nova**, v. 31, p. 164-171, 2008.
- ROSOLEM, C.A.; NAKAGAWA, J. Residual and annual potassic fertilization for soybeans. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, v. 59, p. 143-149, 2001.
- SILVA, F. C. da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2009. 627 p.
- SPARKS, D. L.; HUANG, P. M. **Physical chemistry of soil potassium**. Atlanta: Potash & Phosphate Institute, 1985. 1223 p.

Avaliação da forma de coleta de folhas para fins de diagnose nutricional da soja

OLIVEIRA, S. C. A.¹; CORSINO, D. L. M.²; KLEINERT, J. J.³; GERMANO, M. G.⁴; CASTRO, C. de⁵; OLIVEIRA JUNIOR, A. de⁵

¹Unifil-Centro Universitário Filadélfia, steelycarolliny@gmail.com; ²UEL-Universidade Estadual de Londrina; ³Químico Industrial; ⁴Analista, Embrapa Soja; ⁵Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

A análise foliar constitui o principal método utilizado para a avaliação do estado nutricional de plantas. A premissa básica da análise foliar, como ferramenta para a diagnose nutricional, é a de que a concentração de um determinado nutriente na folha é resultado da sua disponibilidade no solo e que alterações nas suas concentrações foliares estão relacionadas com alterações no desenvolvimento e na produção. A escolha da folha como referência para diagnose justifica-se por ser este o órgão que melhor reflete o estado nutricional da planta (Malavolta et al., 1997).

Vários fatores podem influenciar a concentração de nutrientes na planta, a saber: idade da planta, parte da planta amostrada, espécie e cultivar, clima (temperatura, quantidade e distribuição das chuvas, duração do dia e da noite e horário de coleta da amostra), fatores edáficos, incidência de doenças e pragas e práticas culturais (Bataglia et al., 1996). Em geral, as recomendações, para compor uma amostra, são feitas para coleta de trinta a quarenta folhas recém-maduras da haste principal, as quais correspondem à terceira ou quarta folha, do ápice para a base (Tecnologias..., 2013).

Para que não haja equívocos na interpretação da análise foliar, é fundamental que o procedimento de coleta de amostra de folhas siga o padrão estabelecido para a cultura, para o qual os valores de referência também foram definidos. Neste contexto, existem várias recomendações para a coleta das amostras de folhas de soja: Tisdale et al. (1993) recomendam a coleta antes do início do florescimento em trifólios recém amadurecidos, com ou sem o pecíolo, já Malavolta et al. (1997) recomendam que seja coletado a primeira folha amadurecida a partir da ponta do ramo, sem o pecíolo. Em Tecnologias... (2013), recomenda-se que, para cultivares de soja com crescimento deter-

minado, seja coletado o terceiro ou quarto trifólio sem o pecíolo, a partir do ápice da planta, no início do florescimento (R1); no caso de cultivares de soja com crescimento indeterminado, recomenda-se a retirada do terceiro ou quarto trifólio sem pecíolo, no pleno florescimento (R2). Para os estados de Mato Grosso do Sul e Mato Grosso, deve ser realizada a coleta da folha no terceiro ou quarto trifólio com pecíolo, a partir do ápice no estágio de florescimento pleno (R2) e, por fim, para solos argilosos derivados do basalto no estado do Paraná, as amostras devem ser coletadas no terceiro ou quarto trifólio com ou sem pecíolo, também, no estágio de florescimento pleno. Portanto, verifica-se que não há uma recomendação padrão para a amostragem de folhas na cultura da soja, em especial, no que tange se as amostras devem ser coletadas com ou sem pecíolo.

Alterações significativas nos teores de nutrientes são observadas em relação à análise de material processado com e sem pecíolo. De acordo com Maeda et al. (2004), a mais importante alteração em relação ao diagnóstico nutricional foi observada para o Nitrogênio, onde amostras sem pecíolo apresentaram teores com suficiência superior em até 100% em relação as amostras com o pecíolo. Em termos percentuais, efeitos importantes foram também observados para o enxofre e para o ferro.

Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar a concentração de Nitrogênio (N), de Fósforo (P) e de Potássio (K) em função da amostragem de trifólios (coleta sem pecíolo) e de folhas (coleta com pecíolo) e comparar estes resultados com o respectivo acúmulo desses nutrientes na planta, identificando, portanto, qual método de amostragem possui melhor sensibilidade para avaliação do estado nutricional da planta, com ênfase nos macronutrientes primários (N, P, K).

Material e Métodos

As amostras foram coletadas a partir de duas cultivares de tipo de crescimento indeterminado (Cv-1: BRS-1010 Ipro e Cv-2: BRS-1003 Ipro), na safra 2017/2018, em um experimento de longa duração com manejo da adubação (doses) com P e K, conduzido desde 1989, na Faz. Experimental da Embrapa Soja, no município de Londrina. Para a comparação da forma de amostragem, foram utilizados sete tratamentos contrastantes quanto às doses aplica-

das e, conseqüentemente, quanto à disponibilidade de P e K no solo (Tabela 1). O delineamento experimental foi de blocos completos ao acaso, com quatro repetições, sendo a área total das parcelas de 160 m². As cultivares foram semeadas nas subparcelas (área total de 80 m², 4m x 20m), sendo que a área útil de colheita utilizada foi de 25,5 m² (1,5m x 17 m). Para otimizar a avaliação, as amostras foram coletadas em sete dos 12 tratamentos e nas quatro repetições, totalizando assim, 56 amostras de folhas, de trifólio e de plantas (7 tratamentos x 2 cultivares x 4 repetições). Na Tabela 2 estão descritas as principais atividades conduzidas durante o ciclo de desenvolvimento da soja.

Determinações analíticas

A determinação de N total foi realizada a digestão em banho seco à 350°C durante aproximadamente quatro a cinco horas em presença de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado e peróxido de hidrogênio (H₂O₂); as amostras foram analisadas em sistema automático de destilação-titulação Autokjeldahl Unit K-370/371 (Büchi, Switzerland).

A determinação dos teores de P e K nas amostras de tecido vegetal foi realizada a digestão úmida em Forno de Micro-ondas Marca CEM, Modelo MarsXpress, na presença de solução aquosa de ácido nítrico (HNO₃) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 130V. As análises foram realizadas em Espectrômetro de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), marca PerkinElmer, modelo *Optima 8300* (Dual View).

Método estatístico

Foram calculados os coeficientes de correlação linear de Pearson (r) entre as variáveis dependentes (Produtividade de grãos, Produção de Massa Seca da Parte Aérea, Acúmulo de nutrientes na planta e concentração de nutrientes nas folhas e nos trifólios). Especificamente para as concentrações nas amostras coletadas com e sem pecíolo, foi realizada a comparação de médias pelo teste t de Student para amostras dependentes. Todas as análises foram realizadas utilizando o software Statistica 7.0 - Stat Soft.

Tabela 1. Tratamentos utilizados para as avaliações e os respectivos teores de P e K disponíveis no solo (0-20 cm).

Tratamento	Verão		Inverno		Teor disponível ¹⁾		
	P ₂ O ₅	K ₂ O	P ₂ O ₅	K ₂ O	P	K	
	----- kg ha ⁻¹ ano ⁻¹ -----						cm _c dm ⁻³
1	0	0	0	0	2,3	0,07	
2	0	0	50	50	5,2	0,08	
3	0	0	50	0	5,8	0,05	
4	0	0	0	50	2,5	0,19	
6	60	0	50	50	17,9	0,07	
10	0	80	50	50	8,9	0,38	
12	60	80	50	50	16,3	0,50	

¹⁾ Amostragem em Outubro de 2017.

Tabela 2. Histórico de condução do experimento com a soja – safra 2017/2018.

Data	Atividade
10 e 15/11/2017	Semeadura da Soja, Cv-1-BRS-1010 Ipro (10/11) e Cv-2-BRS-1003 Ipro (15/11), com espaçamento entre-linhas de 0,5 m, 15 sementes / metro linear e tratamento de sementes com StandakTop (Fungicida + Inseticida), CoMo e Inoculante;
16 e 21/11/2017	Emergência da Soja;
03/01/2018	Coleta de 20 trifolios por parcela (estádio R2), nas Cv-1 e Cv-2, para Análise de Rotina; Amostragem realizada em todos os tratamentos.
04/01/2018	Coleta de 20 folhas (com pecíolo) por parcela (estádio R2) e de 10 plantas (5 plantas subsequentes em 2 pontos da parcela), nas duas cultivares e nos tratamentos 1, 2, 3, 4, 6, 10 e 12;
22/01/2018	Pesagem das amostras de plantas;
15/03/2018	Colheita da Soja, Cv-1 (BRS-1010 Ipro);
19/03/2018	Colheita da Soja, Cv-2 (BRS-1003 Ipro);
26/03/2018	Pesagem para determinação da Produtividade de grãos;

Resultados e Discussão

Na Tabela 3 estão apresentados os resultados das estatísticas descritivas (média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação – CV%) para as variáveis analisadas. Observa-se, portanto, que os tratamentos selecionados proporcionaram grande amplitude em todas as variáveis (diferença entre os valores máximos e mínimos) possibilitando assim a adequada comparação entre as formas de coleta. Em relação à comparação da concentração média nas amostras de folha e de trifólio observou-se diferença estatística significativa para os três nutrientes em estudo, sendo que, para o N e para o P, a concentração no trifólio foi superior. O oposto foi verificado para o K, como observado por Maeda et al. (2004). O N foi o nutriente acumulado em maior quantidade (116 g planta⁻¹), seguido do K, com 91,3 g planta⁻¹ e do P, com somente 11,4 g planta⁻¹.

Na Tabela 4 estão apresentados os coeficientes de correlação linear calculados para o acúmulo de N, P, e de K na planta e os respectivos teores nas folhas e nos trifólios, assim como, a correlação entre essas variáveis (acúmulo e concentração), com a MSPA e a produtividade de grãos. Observa-se que, no caso do N, tanto o acúmulo quanto a concentração no trifólio apresentaram correlação significativa e positiva com a produtividade e com a MSPA, ao passo que a [N] na folha não se correlacionou com estas variáveis fitotécnicas. Para o P, somente não foi observada correlação significativa entre a concentração na folha (amostragem sem pecíolo) e a MSPA. E para o K, a MSPA não se correlacionou com a concentração de K, independentemente das formas de coletas (folhas ou trifólios), sendo as demais correlações altamente significativas por se tratar de dados originados de um experimento de doses de P e de K (Tabela 1).

Tabela 3. Estatística descritiva para as variáveis Produtividade de Grãos, Produção de Massa Seca da Parte Aérea (MSPA), Acúmulo de N, P e K pelas plantas e as respectivas concentrações nas folhas e nos trifólios

Prod. Grãos	MSPA	Nitrogênio			Fósforo			Potássio		
		Acúmulo na Planta	[] Trifólio	[] Folha	Acúmulo na Planta	[] Trifólio	[] Folha	Acúmulo na Planta	[] Trifólio	[] Folha
kg ha ⁻¹		g planta ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹	g planta ⁻¹	g kg ⁻¹	g planta ⁻¹	g planta ⁻¹	g kg ⁻¹	g kg ⁻¹
Média	1020	116,5	46,2 A	39,6 B	11,4	4,0 A	3,4 B	91,3	21,6 B	26,2 A
Mínimo	509	57,1	36,8	25,2	3,5	2,2	1,8	24,2	11,7	10,8
Máximo	1687	183,3	55,2	51,0	21,5	5,8	5,7	202,2	34,4	39,3
Desvio Padrão	1068	292	31,75	5,82	4,37	0,88	0,99	42,37	5,21	7,76
CV(%)	40,4	28,6	27,3	14,7	38,2	22,1	28,8	46,4	24,1	29,7
Teste t			7,33**			4,20**				-7,13**

** Significativo a 1% de probabilidade de erro pelo teste t, com n-1 graus de liberdade

Tabela 4. Coeficientes de correlação linear calculados para as variáveis avaliadas

Prod. Grãos	MSPA	Nitrogênio			Fósforo			Potássio		
		Acúmulo na Planta	[] Trifólio	[] Folha	Acúmulo na Planta	[] Trifólio	[] Folha	Acúmulo de K na Planta	[K] Trifólio	[K] Folha
Prod. Grãos	MSPA	[N] Trifólio	[N] Folha	[N] Trifólio	[P] Trifólio	[P] Folha	Acúmulo de K na Planta	[K] Trifólio	[K] Folha	
0,582**	0,971**	0,410**	0,065 ^{ns}	0,679**	0,489**	0,337*	0,738**	0,568**	0,651**	
0,455**	0,455**	-0,205 ^{ns}	0,835**	0,528**	-0,039 ^{ns}	0,689**	0,689**	0,198 ^{ns}	0,177 ^{ns}	
0,506**	-0,113 ^{ns}	0,685**	0,321*	0,667**	0,664**					
0,191 ^{ns}	0,432**	0,432**	0,796**							

^{ns}, *, ** Não significativo, significativo a 5% e 1% de probabilidade de erro.

A forma técnica recomendada para definir a o procedimento de amostragem de folhas é através da correlação entre a concentração do nutriente no tecido vegetal amostrado e a respectiva quantidade de nutriente acumulada (conteúdo) pela planta em estudo. Nesse sentido, para o N a amostragem somente dos trifólios apresentou correlação positiva e significativa (Tabela 4). No caso do P, ambas as formas de coleta apresentaram correlação significativa com o acúmulo de P, entretanto, a amostragem de trifólio apresentou coeficiente de correlação maior. Para o K, ambas as formas de amostragem correlacionaram com o acúmulo de forma muito similar $r = 0,667^{**}$ e $r = 0,664^{**}$ (Tabela 4). A dispersão dos pontos obtidos entre o acúmulo e a concentração foliar de N, P e K estão apresentados na Figura 1.

Já a comparação entre a concentração de cada nutriente na folha e no trifólio está apresentada na Figura 2. Nesse sentido, observa-se que para o N e para o P os valores quando determinados sem o pecíolo (trifólio) foram maiores que a determinação considerando o pecíolo. No caso do K, o inverso foi observado ($[K] \text{ folha} > [K] \text{ trifólio}$), portanto, não se deve interpretar a concentração desses nutrientes em uma única tabela, visto que os valores não apresentam identidade estatística. Esta discrepância no comportamento do acúmulo de K deve-se ao fato de que, na planta de soja, há um elevado teor deste nutriente no tecido que serve de conexão do pecíolo ao caule, denominado pulvino (Hanway; Weber, 1971). Por outro lado, nutrientes como o N e o P, que se acumulam no limbo foliar, podem estar presentes em menores concentrações caso a amostra inclua o pecíolo.

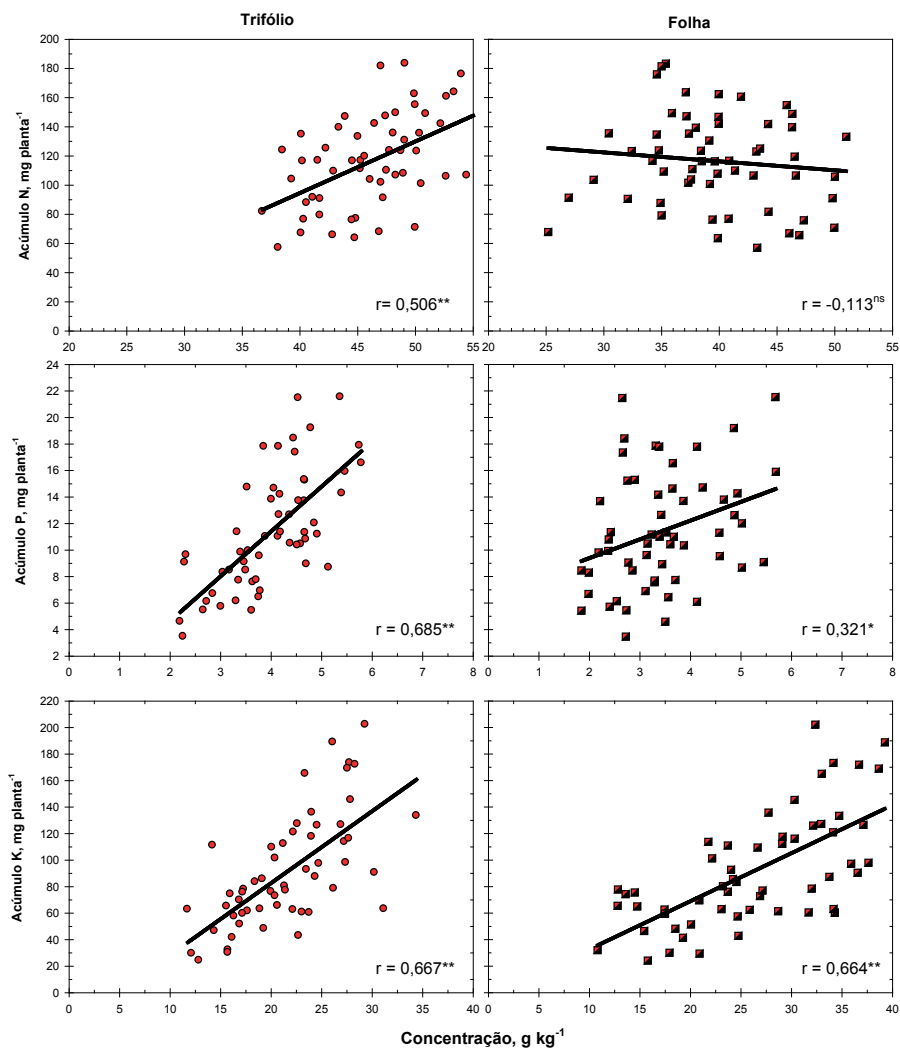


Figura 1. Relação entre o acúmulo de N, P e K pela planta (R2) e a respectiva concentração nas folhas e nos trifólios.

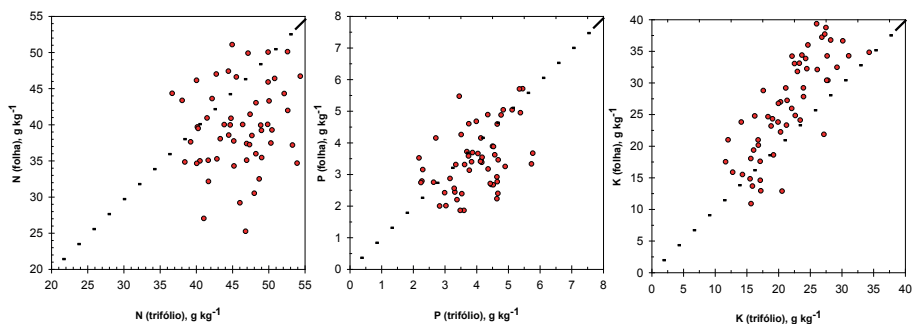


Figura 2. Relação entre a concentração de N, P e K nas folhas e nos trifólios.

Conclusão

Os resultados evidenciam diferenças significativas entre as concentrações de nutrientes em amostras de trifólios e de folhas, não havendo identidade entre a coleta com e sem pecíolo. A concentração de N foi maior nos trifólios; para o P observa-se uma pequena variação quando comparados com amostras de folhas; os teores de K apresentaram concentração inferior nos trifólios. Em função do exposto, para evitar equívocos no diagnóstico nutricional, é fundamental que a interpretação da concentração seja realizada de acordo com os respectivos valores de referência pré-estabelecidos. A amostragem somente dos trifólios é a mais indicada por apresentar maior correlação com o conteúdo dos nutrientes avaliados.

Referências

BATAGLIA, O. C.; DECHEN, A. R.; SANTOS, W. R. dos. Princípios da diagnose foliar. In: ALVAREZ V., V. H.; FONTES, L. E. F. F.; FONTES, M. P. F. (Ed.). **O solo nos grandes domínios morfológicos do Brasil e o desenvolvimento sustentável**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo: Universidade Federal de Viçosa, 1996. p. 647-660.

HANWAY, J. J.; WEBER, C. R. N, P and K percentages in soybean (*Glycine max* (L) Merrill) plant parts. **Agronomy Journal**, v. 63, p. 286-290, 1971.

MAEDA, S.; LIMA FILHO, O. F.; FABRICIO, A. C. **Análise de amostras de folhas de soja: com ou sem pecíolo?** Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 5 p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Comunicado Técnico, 96). Documento on-line.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319 p.

TECNOLOGIAS de produção de soja - Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 16).

TISDALE, S. L.; NELSON, W. L.; BEATON, J. D.; HAVLIN, J. L. **Soil fertility and fertilizers**. 5. ed. New York: MacMillan, 1993. 634 p.

Resposta de cultivares de soja a diferentes níveis de acidez do solo

SOUZA, J. J.¹; MOREIRA, A.^{2,3}; MORAES, L. A. C.²

¹Unifil, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, jefferson_juchen@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja; ³Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

Introdução

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é a leguminosa mais cultivada no mundo e o Brasil o segundo maior produtor, cuja a expansão tem ocorrido, na sua maior parte, em áreas com baixa fertilidade do solo e em pastagens degradadas com a acidez elevada e $H^+ + Al^{3+}$ predominando no complexo de troca de cátions. A baixa disponibilidade de nutrientes afeta no desenvolvimento das plantas, redução do sistema radicular e menor a absorção de nutrientes e água (Moreira; Fageria, 2010).

Dentro dos sistemas de cultivo, a acidez do solo é um dos principais fatores que influenciam a disponibilidade e absorção de nutrientes. Uma das práticas utilizadas para neutralizar a acidez trocável do solo é aplicação de calcário, que eleva o pH e aumenta a disponibilidade de nutrientes (Soratto; Crusciol, 2008; Moreira et al., 2015a). A escolha e quantidade do corretivo a ser aplicado dependem das características químicas do solo e da cultivar a ser utilizada (Moreira; Fageria, 2010).

Além dos atributos químicos e biológicos do solo, deve-se focar também no potencial de crescimento e produção das plantas em condições adversas. Isso pode ser feito fazendo uso do programa de melhoramento para incorporação de características desejáveis explorando o potencial genético (Fageria; Moraes, 1987), visto que as plantas podem ser eficientes e responsivas, não eficientes e responsivas, ineficientes e responsivas e ineficientes e não responsivas a certo nutriente M. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de cultivares de soja apresentem respostas distintas a diferentes níveis de calcário aplicado no solo.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em condições de casa de vegetação, localizada na Embrapa Soja, Londrina-PR (23°11'39" LS e 51°10'40" LW). O solo utilizado foi um Neossolo Quartzarênico distrófico, de textura arenosa (86 g kg⁻¹ de argila e 870 g kg⁻¹ de areia), coletado de uma profundidade de 0-20 cm no Município de Três Lagoas-MS (20°45'04" LS e 51°40'42" LW), com os seguintes atributos químicos (Embrapa, 1997) antes da aplicação dos tratamentos: pH (CaCl₂ 0,1 mol L⁻¹) = 3,9, MOS = 9,1 g kg⁻¹, P = 1,0 mg kg⁻¹, K = 0,02 cmol_c kg⁻¹, Al = 0,7 cmol_c kg⁻¹, H+Al = 3,4 cmol_c kg⁻¹, S-SO₄⁻ = 5,8 mg kg⁻¹, CTC = 3,5 cmol_c kg⁻¹ e V = 4,1%.

Os tratamentos foram delineados em esquema fatorial 14 × 2, com quatro repetições, sendo 15 cultivares (BRS 1001 IPRO, BRS 1003 IPRO, BRS 1007 IPRO, BRS 1010 IPRO, BRS 284, BRS 389RR, BRS 399RR, BRS 413RR, BRS 433RR, BRS 511RR, DM 5958 IPRO, NS 6006 IPRO e M 6410 IPRO) e 2 níveis de acidez do solo, que foram calculados para elevar a saturação por bases a 0 e 70% com calcário dolomítico (27,8% de CaO, 19,6% de MgO e PRNT de 90,5%) e definidos como baixa e alta quantidade de calcário aplicado. Foram utilizados vasos de barro de 3,0 dm³ de solo passado em peneira de 2,0 mm. Exceto N, que foi suprido pela inoculação das sementes com *Bradyrhizobium elkanii*, foram feitas adubações com P, K, S, B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn. Nos estádios V2 e V4 foram realizadas as adubações de cobertura parceladas duas vezes com 50 mg kg⁻¹ de K (K₂SO₄), totalizando 100 mg kg⁻¹ no ciclo. Os vasos foram irrigados diariamente com água deionizada, para compensar as perdas de evapotranspiração e para manter o solo próximo de 70% do valor total de poros (VTP). Foram semeadas dez sementes, e após o desbaste foram deixadas duas plantas uniformes por vaso.

Durante todo o ciclo vegetativo, foram coletadas as folhas senescentes para obtenção da produção de matéria seca total da parte aérea da planta (MSPA). Após o estágio de maturação fisiológica (R8), também foram quantificadas a produção de grãos (PG) e número de vagens por vaso (NVV). Foi calculado o incremento na produção (Δ) com a fórmula $\Delta\% = \{[(PG_{70} \times 100)/PG_{\text{controle}}] - 100\}$. Os resultados de componentes de produção foram submetidos aos testes de normalidade, e também à análise de variância (ANOVA), teste F e

comparação de médias pelo teste de agrupamento de Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Na produção de grãos (PG), número de vagens (NV), e produção de matéria seca da parte aérea (MSPA), as cultivares e as doses de calcário apresentaram interação significativa, indicando respostas distintas para cada nível de calcário aplicado (Tabela 1). A PG variou de 11,0 g/vaso (BRS 433 RR) a 26,9 g/vaso (BRS 1001 IPRO) na ausência de calcário, com média de 21,7 g/vaso. Para a maior dose de calcário (V=70%), a PG variou de 19,2 g/vaso (BRS 1007 IPRO) a 28,5 g/vaso (BRS 1001 IPRO), com valor médio de 24,2 g/vaso. Na média das cultivares, a quantidade de calcário aplicado teve um aumento de 12,0% na PG. O mesmo aconteceu para MSPA (36,6%), que apresentou correlação positiva e significativa com a PG ($\hat{y} = 2,561 + 0,329x$, $r = 0,92$, $p \leq 0,05$) e variou de 31,8 g/vaso (BRS 1007 IPRO) a 63,9 g/vaso (BRS 1003 IPRO) e de 50,1 g/vaso (BRS 1007 IPRO) a 75,6 g/vaso BRS 1074 IPRO e DM 5958 IPRO) na ausência e alta (V=70%) quantidade de calcário aplicado (Tabela 1). O NVV também apresentou interação significativa das cultivares \times doses (Tabela 1). Moreira et al. (2015b; 2017) observaram que cultivares de soja adaptadas para as condições tropicais e subtropicais, mesmo quando cultivada nas mesmas condições climáticas, apresentam respostas distintas de crescimento para a produção de MSPA e grãos, assim visto que a cultivar BRS 433 RR e BRS 1007 IPRO foram as mais sensíveis à acidez (99,7% e 74,7%) e a BRS 1003 IPRO, NS 6006 IPRO e BRS 1001 IPRO as menos sensíveis (2,5%, 5,5% e 5,9%) à acidez do solo. Na média dos cultivares, o valor médio foi de 36,2% (Tabela 1).

Conclusão

As cultivares apresentaram respostas distintas nos dois níveis de calcário. O incremento da saturação por bases para 70% aumentou em 30,1% a produção de grãos (PG) de soja. O mesmo foi observado para o número de vagens por vaso (NVV) e produção de matéria seca da parte aérea (MSPA). A escolha da cultivar de soja para diferentes condições edáficas é fundamental para o sucesso na produção.

Tabela 1. Produção de grãos (PG), número de grãos por vagem (NGV), material seca da parte aérea (MSPA), e produção relativa das cultivares de soja em dois níveis de calcário [V 40% (1,5 t ha⁻¹) e 70% (2,7 t ha⁻¹)]

Cultivar	PG		NVV		MSPA		Δ (%)
	(g/vaso)		(n)		(g)		
	4%	70%	4%	70%	40%	70%	
BRS 1001 IPRO	26,9a	28,5a	60b	61c	63,2a	70,3a	5,9
BRS 1003 IPRO	24,0a	24,6a	65a	80b	63,9a	72,9a	2,5
BRS 1007 IPRO	11,1c	19,2b	24d	49c	31,8b	50,1b	74,7
BRS 1010 IPRO	16,2b	20,4b	50b	54c	44,5b	54,1b	26,2
BRS 1074 IPRO	20,9a	24,3a	59b	83b	61,7a	75,6a	15,9
BRS 284	23,2a	25,0a	68a	86b	47,5b	62,5b	7,6
BRS 389 RR	15,4b	23,7a	43c	71c	39,0b	59,3b	54,2
BRS 399 RR	14,8b	23,0a	42c	66c	38,2b	67,5a	55,3
BRS 413 RR	17,4b	25,7a	59b	93a	44,4b	71,6a	47,4
BRS 433 RR	11,0c	21,9b	35c	63c	33,0b	55,8b	99,7
BRS 511	17,8b	26,8a	51c	77b	46,9b	71,2a	51,1
DM 5958 IPRO	21,0a	26,0a	74a	101a	54,3a	75,6a	24,1
M 6410 IPRO	18,1b	24,8a	53b	74b	49,7a	68,3a	37,1
NS 6006 IPRO	23,0a	24,3a	73a	85b	59,3a	70,9a	5,5
Média	18,6	24,2	54	75	48,4	66,1	36,2
Teste F							
Cultivar	*		*		*		
Doses	*		*		*		
Cultivar × Doses	*		*		*		
CV (%)							

*.NS Significativo a 5% probabilidade e não significativo, respectivamente. Médias seguidas por letras distintas minúsculas na mesma coluna e maiúscula na mesma linha dentro de cada variável diferem a 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

Referências

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1997. 212 p.

FAGERIA, N. K.; MORAIS, O. P. Evaluation of rice cultivars for utilization of calcium and magnesium in the Cerrado soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 22, p. 667-672, 1987.

MOREIRA, A.; FAGERIA, N. K. Liming influence on soil chemical properties, nutritional status and yield of alfalfa grown in acid soil. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 1231-1239, 2010.

MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.; FAGERIA, N. K. Variability on yield, nutritional status, soil fertility, and potassium-use efficiency by soybean cultivar in acidic soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 46, p. 2490-2508, 2015b.

MOREIRA, A.; MORAES, L. A. C.; LARA, I. C. V.; NOGUEIRA, T. A. R. Differential response of soybean genotypes to lime rates. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 63, p. 1281-1291, 2017.

MOREIRA, A.; SFREDO, G. J.; MORAES, L. A. C.; FAGERIA, N. K. Lime and cattle manure in soil fertility and soybean grain yield cultivated in tropical soil. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 46, p. 1157-1169, 2015a.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, v. 30, p. 507-512, 1974.

SORATTO, R. P.; CRUSCIOL C. A. C. Chemical soil attributes as affected by lime and phosphogypsum surface application in a recently established no-tillage system. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 675-688, 2008.

Crescimento da soja em função de épocas de dessecação de braquiária e adubação nitrogenada

PASSOS, J. N. N.¹; BALBINOT JUNIOR, A. A.²; WERNER, F.³; FERREIRA, A. S.³; FRANCHINI, J. C.²; DEBIASI, H.²

¹Unifil-Centro Universitário Filadélfia de Londrina, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, jhenifer-nay@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja; ³UEL-Universidade Estadual de Londrina.

Introdução

Frente ao aumento da demanda por alimentos e ao maior uso de tecnologias na produção, a atividade agropecuária passou a apresentar como características sistemas padronizados e simplificados de monocultura. Adicionalmente, a expansão da fronteira agrícola, a utilização de agroquímicos e o manejo mecanizado e de irrigação, contribuíram para dissociar a atividade agrícola da pecuária. Esse modelo atual de produção predomina em praticamente todo o mundo, no entanto, tem mostrado sinais de saturação, devido a alta demanda por energia e por recursos naturais (Balbino et al., 2011). Portanto, com a necessidade de atualização e da sustentabilidade dos sistemas de produção, a utilização de sistemas integrados tem se apresentado como uma opção interessante. Desta forma, a mesma área pode ser utilizada para o cultivo de pastagens, como espécies de braquiárias (gênero *Urochloa*), com a finalidade para a alimentação animal e de culturas com o objetivo de produzir grãos, como a soja, sendo uma opção para aumentar a diversificação das atividades agropecuárias no país (Balbinot Junior et al., 2009; Debiasi; Franchini, 2012).

Em sistemas de integração lavoura-pecuária, a época de dessecação das pastagens pode afetar a plantabilidade e, conseqüentemente o desempenho agrônomo da soja em sucessão. Ao dessecar a cultura antecessora muito próxima à sementeira da soja (Sistema Desseque-plante) há o risco de ocasionar problemas na implantação da lavoura, principalmente se a quantidade de biomassa for abundante (Ricce et al., 2011). Com a diminuição do tempo entre a dessecação e a sementeira da soja pode ocorrer atraso no crescimento inicial das plantas, liberação de aleloquímicos pela biomassa em decomposição e sombreamento ocasionado às plantas de soja pela palhada

(Souza et al., 2006). Muitos produtores optam pelo Sistema Desseque-plante para aumentar o período de uso das pastagens. Por outro lado, se a dessecação ocorrer muito tempo antes em relação à semeadura da soja, a quantidade de palha sobre o solo durante o ciclo da soja pode diminuir, possibilitando, deste modo, a emergência de plantas daninhas. Além disso, em muitos casos é necessária dessecação suplementar próxima à semeadura da soja, aumentando os custos de produção (Nascente; Crusciol, 2012).

Dispõe-se de várias formas para se estimar o crescimento das plantas, como a massa seca, área foliar, altura de plantas, índices de vegetação e porcentagem de cobertura do solo (Balbinot Junior et al. 2016). Independentemente da complexidade que envolve o crescimento das culturas, a verificação do incremento de biomassa vegetal é uma forma robusta para estimar o crescimento e mensurar a contribuição de diferentes processos fisiológicos sobre o desempenho vegetal (Benincasa, 2003).

Um outro fator importante que pode influenciar no crescimento, desenvolvimento e no rendimento da cultura da soja é o suprimento com nitrogênio (N). A cultura da soja demanda grande quantidade desse nutriente, em torno de 80 kg de N para cada tonelada de grãos (Van Roekel; Purcell, 2014). No Brasil, vários trabalhos demonstraram que a adubação nitrogenada mineral na soja não é necessária, considerando grande quantidade de ambientes de produção e expectativas de produtividade, desde que a inoculação seja realizada da forma indicada (Hungria et al., 2006). Apesar da alta demanda da soja por N, pesquisas têm verificado que a fixação biológica de N, em conjunto com o N da solução do solo, consegue suprir a exigência da cultura, sem que haja a necessidade de adubação nitrogenada mineral suplementar (Campo et al., 2009). Entretanto, a grande quantidade de palha com alta relação C/N, como a produzida por pastagens de braquiária, pode imobilizar temporariamente o N presente na solução do solo (Calonego et al., 2012). Esse fator tem levantado a hipótese de que a cultura da soja pode responder favoravelmente à aplicação de N mineral na semeadura, em função do maior crescimento inicial, até que a fixação biológica de N (FBN) e o N da solução do solo consigam suprir as necessidades das plantas. Todavia, há poucos trabalhos na literatura que apresentam informações sobre o efeito desse manejo de adubação em soja cultivada em sucessão à pastagem de *Urochloa brizantha*, manejada em diferentes épocas de dessecação.

O objetivo desse trabalho foi avaliar o índice de área foliar e a massa seca total de plantas de soja em função de épocas de dessecação de braquiária (*U. brizantha*) e da adubação nitrogenada na cultura da soja.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na safra 2017/18, na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, Londrina, PR (23°11' S, 51°11'W e altitude de 620 m). O solo foi classificado como Latossolo Vermelho distroférico, com textura muito argilosa, que vinha sendo manejado em Sistema de Plantio Direto (SPD) há quinze anos, com o cultivo de soja no verão e trigo ou aveia preta no inverno e apresentava os seguintes atributos, na camada de 0 a 20 cm, antes da implantação do experimento: 26 g dm⁻³ de matéria orgânica; 4,6 de pH em CaCl₂; 14,1 mg dm⁻³ de P; 0,43 cmolc dm⁻³ de K; 2,8 cmolc dm⁻³ de Ca; 1,3 cmolc dm⁻³ de Mg; e 44% de saturação da CTC por bases.

Em março de 2016, a *U. brizantha* cv. BRS Piatã foi implantada com linhas espaçadas em 20 cm, densidade de 5 kg ha⁻¹ de sementes puras e viáveis e adubação nitrogenada de 150 kg N ha⁻¹ em cobertura. A braquiária foi pastejada em sistema contínuo com lotação variável, por bovinos machos com 350 a 550 kg de peso vivo, durante nove meses (outubro/2016 a julho/2017), a fim de manter a pastagem com 30 cm de altura.

O delineamento experimental utilizado foi blocos completos casualizados em esquema fatorial 5x2, com cinco repetições. Os tratamentos constituíram-se de cinco épocas de dessecação da pastagem: 60, 45, 30, 15 e 1 dias antes da semeadura da soja (DAS) e 2 níveis de nitrogênio mineral na soja, com (30 kg N ha⁻¹, na forma de nitrato de amônio) e sem nitrogênio mineral, aplicados à lanço no dia da semeadura da soja. A cultivar utilizada foi a BRS 1010IPRO, que possui tipo de crescimento indeterminado e grupo de maturidade relativa 6.1. A dessecação da pastagem foi realizada com glifosato, na dose de 1.500 g e.a. ha⁻¹, aplicado com pulverizador tratorizado, equipado com pontas de pulverização tipo leque, com volume de calda de 200 L ha⁻¹. Em todas as épocas de dessecação, as condições atmosféricas e de umidade no solo foram adequadas à ação do herbicida.

A semeadura da soja foi realizada em 03/11/2017 e as sementes foram tratadas com carboxina (30 mL i.a 50 kg⁻¹ de sementes) e tiram (30 mL i.a 50 kg⁻¹ de sementes) e inoculadas com *Bradyrhizobium elkanii* na concentração de 5 x 10⁹ UFC ml⁻¹ (100 ml 50 kg⁻¹ de sementes), utilizando-se uma semeadora-adubadora equipada com mecanismos sulcadores do tipo guilhotina para posicionamento do adubo e discos duplos defasados para as sementes. A adubação de base foi de 350 kg ha⁻¹ da fórmula 0-20-20. A semeadora foi regulada para o estabelecimento de 350 mil plantas ha⁻¹, com espaçamento de 0,45 m entre linhas. Os dados de precipitação pluvial e temperaturas máximas, médias e mínimas do ar durante o período da condução dos experimentos estão apresentados na Figura 1.

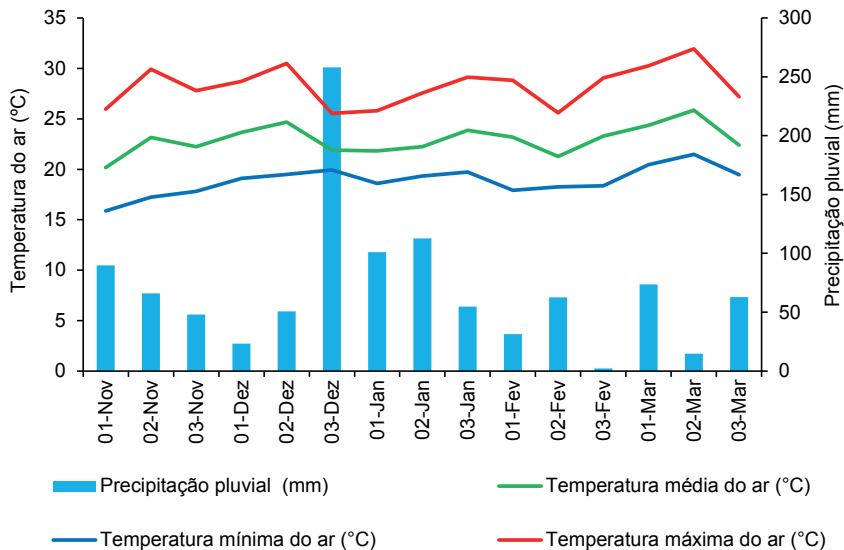


Figura 1. Precipitação pluvial e temperaturas máximas, médias e mínimas do ar durante o ciclo de desenvolvimento da cultura da soja, na safra 2017/2018.

Foram avaliados o Índice de Área Foliar (IAF), obtido com auxílio de um analisador de dossel de plantas, LI-COR® LAI-2200C, que possui um sensor do tipo olho de peixe para captação da luz. Para a massa seca, as plantas em uma área de 0,45m² por parcela foram coletadas e acondicionadas em sacos de papel e, em seguida, levadas a estufa em temperatura de 60 °C até atingir massa constante. Após a secagem, a massa de matéria seca total de plantas foi determinada em balança analítica com precisão de 0,1 g e os dados foram

expressos em kg ha^{-1} . As avaliações foram realizadas no estágio vegetativo V6 e no estágio reprodutivo R2. Os dados foram submetidos à análise de variância e teste F ($p < 0,05$) e à análise de regressão polinomial até segundo grau.

Resultados e Discussão

Não houve interação entre os fatores estudados (épocas de dessecação x adubação nitrogenada) para todas as variáveis avaliadas. O índice de área foliar e a massa seca de plantas nos dois estádios avaliados apresentaram efeito isolado de épocas de dessecação, apresentando aumento linear com o incremento do intervalo entre a dessecação e a semeadura da soja (Figura 2). Nos dois estádios avaliados, o máximo IAF e a máxima massa seca de plantas foram observados quando a dessecação foi realizada 60 dias antes da semeadura da soja. Salienta-se que o rápido fechamento do dossel, em função do rápido acúmulo de massa seca e IAF, propicia menor propagação de plantas daninhas e menor perda de água por evaporação (Heiffig et al., 2006).

A presença de palha em grande quantidade pode ocasionar estiolamento em plantas de soja (Franchini et al., 2014). Após a emergência da cultura, se a palha provocar sombreamento das plantas de soja, estas tendem a alongar o hipocótilo e epicótilo e investir menor quantidade de fotoassimilados na formação de folhas (Debiasi; Franchini, 2012). Isto pode apresentar efeitos no IAF e na massa seca de plantas, como foi observado no presente estudo, em que estas variáveis apresentaram menores valores nos tratamentos com maior quantidade de palha (Sistema Desseque-plante). Outra razão que pode explicar o menor crescimento das plantas de soja em dessecação da pastagem próxima à semeadura é a imobilização temporária de N pela palha em decomposição, reduzindo a absorção desse nutriente pelas plantas.

A massa seca de plantas e o índice de área foliar foram influenciados pela adubação nitrogenada somente no estágio V6. No entanto, no estágio R2, as variáveis analisadas não foram influenciadas pelo manejo de adubação (Tabela 1). Nesse sentido, a adubação com N mineral favoreceu o crescimento inicial das plantas, o que não foi observado para o estágio R2, em que essas diferenças foram diluídas, já que neste estágio a FBN já está estabili-

zada. Hungria et al. (2006) concluíram que a aplicação de 30 kg ha⁻¹ de N na semeadura da soja reduziu a nodulação e a contribuição da FBN no desenvolvimento da cultura da soja.

Estes resultados corroboram os que foram obtidos em vários estudos, que atestam que a cultura da soja não necessita da adubação nitrogenada, visto que todo o N demandado pela cultura pode ser suprido via FBN, em associação com o N mineralizado da matéria orgânica do solo e as reservas presentes nas sementes (Hungria et al., 2006). É importante ressaltar a ausência de interação significativa entre os fatores adubação nitrogenada e épocas de dessecação, indicando que a adubação com N mineral não proporciona benefícios agrônômicos a partir do estágio reprodutivo R2 em todos os tratamentos avaliados, mesmo em situações com elevada biomassa vegetal (Sistema Desseque-plante).

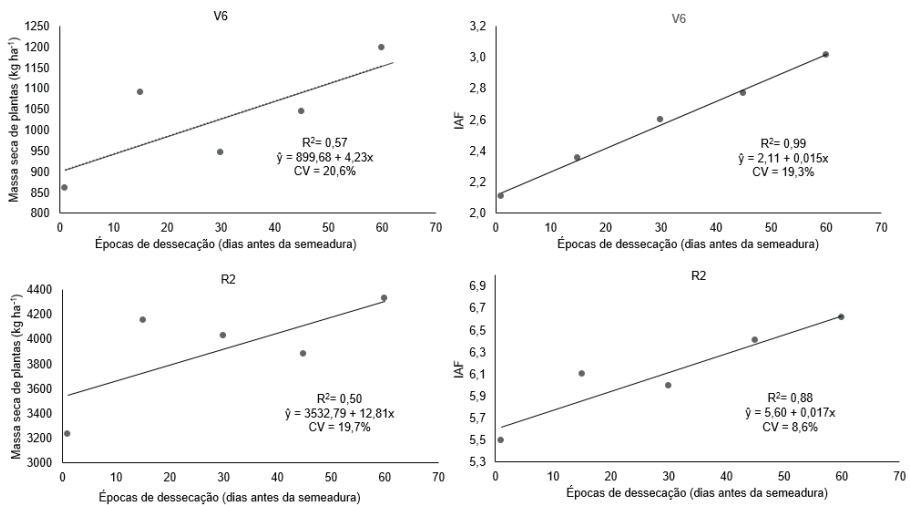


Figura 2. Índice de Área Foliar (IAF) e massa seca de plantas nos estádios V6 e R2 da soja em cinco épocas de dessecação da braquiária (*Uroclhoa brizantha* cv. BRS Piatã). Londrina, PR, safra 2017/2018.

Tabela 1. Índice de Área Foliar (IAF) e massa seca de plantas nos estádios V6 e R2 da soja com 30 kg ha⁻¹ de N na semeadura ou sem adubação nitrogenada. Londrina, PR, safra 2017/2018

Adubação nitrogenada	MS (kg ha ⁻¹) V6	IAF V6	MS (kg ha ⁻¹) R2	IAF R2
Sem N	963,9 B ¹	2,4 B	3797,8 A	5,9 A
Com N	1091,4 A	2,7 A	4041,6 A	6,2 A
CV (%)	20,6	19,3	19,7	8,6

¹Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância

Conclusão

O aumento do intervalo entre a dessecação de pastagem de braquiária BRS Piatã e a semeadura da soja propicia incremento do índice de área foliar (IAF) e da massa seca de plantas de soja nas fases vegetativa e de pleno florescimento.

A adubação nitrogenada mineral na soja aumenta o índice de área foliar e a massa seca da soja na fase vegetativa, mas na fase reprodutiva esse efeito não ocorre.

Referências

- BALBINO, L. C.; CORDEIRO, L. A. M.; PORFÍRIO-DA-SILVA, V.; MORAES, A. de; MARTÍNEZ, G. B.; ALVARENGA, R. C.; KICHEL, A. N.; FONTANELI, R. S.; SANTOS, H. P. dos; FRANCHINI, J. C.; GALERANI, P. R. Evolução tecnológica e arranjos produtivos de sistemas de integração lavoura-pecuária-floresta no Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 10, p. 1-12, 2011.
- BALBINOT JUNIOR, A. A.; MORAES, A.; VEIGA, M.; PELISSARI, A.; DIECKOW, J. Integração lavoura-pecuária: intensificação de uso de áreas agrícolas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1925-1933, 2009.
- BALBINOT JUNIOR, A. A.; PROCÓPIO, S. O.; NEUMAIER, N.; FERREIRA, A. S.; WERNER, F.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C. Semeadura cruzada, espaçamento entre fileiras e densidade de semeadura influenciando o crescimento e a produtividade de duas cultivares de soja. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 15, n. 2, p. 83-93, 2016.
- BENINCASA, M. M. P. **Análise de crescimento de plantas**: noções básicas. Jaboticabal: FUNEP, 2003. 42 p.

DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C. Atributos físicos do solo e produtividade da soja em sistema de integração lavoura-pecuária com braquiária e soja. **Ciência Rural**, v. 42, n. 7, p. 1180-1186, 2012.

CALONEGO, J. C.; GIL, F. C.; ROCCO, V. F.; SANTOS, E. A. Persistência e liberação de nutrientes da palha de milho, braquiária e labe-labe. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 5, p. 770-781, 2012.

CAMPO, R. J.; ARAUJO, R. S.; HUNGRIA, M. Molybdenum-enriched soybean seeds enhance N accumulation, seed yield, and seed protein content in Brazil. **Field Crops Research**, v. 110, n. 3, p.219-224, 2009.

FRANCHINI, J.C.; BALBINOT JUNIOR, A.A.; DEBIASI, H.; CONTE, O. Soybean performance as affected by desiccation time of *Urochloa ruziziensis* and grazing pressures. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 5, p. 999-1005, 2014.

HEIFFIG, L.S.; CÂMARA, G.M. de S.; MARQUES, L.A.; PEDROSO, D.B.; PIEDADE, S.M. de S. Fechamento e índice de área foliar da cultura da soja em diferentes arranjos espaciais. **Bragantia**, v. 65, n. 2, p. 285-295, 2006.

HUNGRIA, M.; FRANCHINI, J.C.; CAMPO, R.J.; CRISPINO, C.C.; MORAES, J.Z.; SIBALDELLI, R.N.R.; MENDES, I.C.; ARIHARA, J. Nitrogen nutrition of soybean in Brazil: contributions of biological N₂ fixation and N fertilizer to grain yield. **Canadian Journal of Plant Science**, v. 86, n. 4, p. 927-939, 2006.

NASCENTE, A.S.; CRUSCIOL, C.A.C. Cover crops and herbicide timing management on soybean yield under no-tillage system. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 2, p.187-192, 2012.

RICCE, W. S.; ALVES, S. J.; PRETE, C. E. C. Época de dessecação de pastagem de inverno e produtividade de grãos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 10, p. 1220-1225, 2011.

SOUZA, L. S.; VELINI, E. D.; MARTINS, D.; ROSOLEM, C. A. Efeito alelopático de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) sobre o crescimento inicial de sete espécies de plantas cultivadas. **Planta Daninha**, v. 24, n. 4, p. 657-658, 2006.

VAN ROEKEL, R.J.; PURCELL, L. C. Soybean biomass and nitrogen accumulation rates and radiation use efficiency in a maximum yield environment. **Field Crops Research**, v. 54, n. 3, p. 1189-1196, 2014.

The social and economic context of glyphosate-tolerant weeds in Londrina, PR and surrounding municipalities

MITTELBERG, T.¹; MORAES, A. S.²

¹UEL, Comissão Fulbright Brasil, tmittelberg1@gmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR

Resumo

Embora as plantas daninhas resistentes aos herbicidas possam aparecer em qualquer sistema de cultivo, aqueles com cultivares transgênicas resistentes ao glifosato (RR) são especialmente suscetíveis às plantas daninhas resistentes porque a simplicidade de aplicação desestimula os produtores a fazerem rotação de herbicidas (Bennett, 2007). No Brasil, existem oito espécies de plantas daninhas resistentes ao glifosato e o custo de seu controle é de R\$4.9 bilhões por ano (Adegas et al., 2017; Heap, 2018). A medida que as plantas daninhas desenvolvem resistência mais rapidamente do que os cientistas conseguem desenvolver novos pesticidas, pesquisadores exigem um melhor entendimento das barreiras aos métodos de controle sustentáveis nas fazendas (Borel, 2018). Com questionários e entrevistas semiestruturadas, este estudo caracterizará como os produtores em Londrina, PR e nos municípios próximos decidem quais métodos de controle de plantas daninhas implementar, com foco em como são analisadas as recomendações das várias fontes de assistência técnica. Este estudo também pretende ilustrar como os produtores conceituam as consequências, de longo e de curto prazos, da prevenção da evolução da resistência aos herbicidas. Este estudo mostrará as oportunidades e desafios de como os produtores usam os transgênicos, contribuindo para a discussão sobre a melhor forma de usar biotecnologia agrícola no Brasil e no mundo.

Introduction

As the Green Revolution of the mid-20th century dramatically improved agricultural productivity and reduced rural poverty in Asia and Latin America, many wondered what it would take to spark a similar transformation in Africa.

In the 1980s and 90s, breakthroughs in biotechnology presented an intriguing possibility: genetically engineering a crop to improve its yield, resistance to disease, or nutritional value. Because the technology was contained in the DNA of the seed, these new genetically engineered (GE) crops would require no special inputs or technical knowledge to cultivate. The Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) speculated that a “Gene Revolution” could uplift those farmers whom the Green Revolution had ignored (Paarlberg, 2005).

GE crops soon became ubiquitous in such high- and middle-income countries as the United States, Brazil and Argentina, increasing yields and decreasing production costs of primarily commodity crops such as maize, soybean, and cotton. In the developing world, scientists have developed numerous GE crops to alleviate food insecurity and rural poverty (for example, beta-carotene-enriched rice in the Philippines, disease-resistant banana in Uganda, insect-resistant cowpea in Ghana); however, few crops engineered specifically for resource-poor farmers have left the greenhouse in part due to political and economic barriers to the commercialization of agricultural biotechnology. First, establishing proper biosafety laws can take years and requires cross-sector cooperation, government and public support of transgenic crops, and significant human resources (Cohen, 2001). Once established, the risk assessments and research permits mandated by these regulations help avert risks to human and environmental health; however, the time and cost required to comply with them can hinder trait developers working for resource-poor institutions such as universities, government research institutions, small seed companies, and NGOs (Spielman, 2007). Multinational private companies can afford to undertake these regulatory procedures for such profitable traits as insect resistance, drought resistance and herbicide resistance, and for such cash crops as maize, cotton and soybean. However, they are unlikely to invest in the development of traits that only benefit smallholders because these projects are less profitable.

To confront these institutional barriers, scientists and lawmakers in developing countries often look abroad to successful biotechnology programs as models for establishing their own technical and regulatory capacities. And in both popular and academic literature, experts often cite Brazil as one such model, largely due to its effective biosafety regulatory system and consis-

tent investment in public agricultural innovation at both the state and national levels (Cornish, 2018; Gray; Dayananda, 2014; Pray; Naseem, 2003). The Brazilian Agricultural Research Corporation (Embrapa) in particular has become a global leader in public biotechnology research, leading the development of such GE crops as golden mosaic-resistant bean, approved in 2011, and cane-borer-resistant sugarcane, approved by CNTBio in 2017 with expected commercialization within five years (Aragão, 2014; Mano, 2017). In addition to a robust public sector, Brazil also has significant private-sector investment and collaboration in R&D by such companies as Monsanto, Bayer, BASF, and Syngenta. These international agribusinesses (many of which have recently merged or acquired by other companies) are particularly dominant in soybean production (Rhodes, 2014). Economist Carl Pray argues that this incentivization of private and public R&D sets Brazil apart from other middle-income biotechnology giants like India and China, making it a particularly strong model for other countries establishing R&D infrastructure (Pray, 2001).

As a whole, the literature suggests that Brazilian policymakers have mitigated common high-level economic and institutional barriers to biotechnology through generous public funding of R&D, partnerships with private companies, and an effective biosafety regulatory system. However, fewer studies characterize the structural challenges of the Brazilian biotechnology innovation system at the level of the farmers, seed vendors, and technical assistants. The experiences of these end-users can explain the ultimate effectiveness of a technology and point to systemic problems that are not necessarily obvious from a policy or macroeconomic lens.

One of the primary challenges of farmers around the world is weed control, particularly controlling those that have evolved tolerance to herbicides. While herbicide-resistant weeds are not unique to cropping systems with GE glyphosate-resistant (GR) crops, these cropping systems are particularly prone to herbicide-tolerant weeds because the ease of application discourages producers from rotating pest-control practices (Bennett, 2007). In fact, 90% of infested areas and economic losses due to herbicide-tolerant weeds are a result of glyphosate-tolerant weeds in GR cropping systems (Heap; Duke, 2017). In Brazil, there are eight species of glyphosate-tolerant weeds, and controlling herbicide-resistant weeds costs Brazil up to an estimated R \$4.9 billion (USD \$1.3 billion) per year (Adegas et al., 2017; Heap, 2018). Basic

agronomy and ecology assert that the most effective way to slow the evolution of tolerance is by seasonally rotating weed management practices (Edwards et al., 2014); however, many farmers fail to implement these preventative measures, suggesting that there are systemic, economic and/or educational barriers that limit the responsible use of technology. It is important to understand the sociopolitical systems under which herbicide resistance evolves in order to implement solutions at the farm, community, and national levels, yet to date, few such studies have been conducted (Ervin; Jussaume, 2014).

In Londrina, Paraná and its surrounding municipalities, there is consensus among trait developers and technical assistants that the misuse of Roundup-Ready crops is not inherent to the technology itself. Rather, farmers over apply herbicides because of much of the technical advice that they receive comes from assistants incentivized to sell herbicides, a result of agrochemical companies having more resources to deploy field staff than such agencies as agricultural cooperatives, private consultants and research foundations. The first goal of this study is to characterize producer-vendor relationships to support, qualify, or deny the assumption that vendors play an outsized role in the implementation of biotechnology in northern Paraná.

As weeds evolve resistance more quickly than scientists can develop new pesticides, researchers are urging for a greater understanding of the farm-level barriers to sustainable weed management practices (BOREL, 2018). The second goal of this study is to understand how producers in the Londrina area conceptualize short-term and long-term costs and benefits of herbicides to aid in the development of educational outreach promoting sustainable pest control.

Methodology

Data will be collected through surveys and semi-structured interviews with producers and other actors. In the first stage of the study, surveys will be conducted with 50 producers to establish the basic “if,” “who,” “what,” “where,” and “when” of their interactions with herbicide vendors. For example, the survey contains questions about whether they interact with door-to-door vendors and if so, who initiates the sale, what types of technical advice they receive, whether the sale takes place on-farm or at agrodealer shops (“revendas”),

and how often producers purchase vendors' products. The surveys ask similar questions about each producer's interactions with non-vendor technical assistants to allow for comparison. The results from this portion of the project will suggest whether or not economic bias in the technical assistance system discourages the use of agricultural best practices. These surveys also contain general questions about which practices the producer uses to prevent the evolution of resistance, for how long s/he has used that practice, and whether his/her neighbor uses similar practices.

After the survey stage of the study, semi-structured interviews will be conducted with producers to understand why and how they decide which pest control practices to implement. Producers will be asked about their decision-making processes, urging them to go into greater depth about how they decide which sources of technical assistance are trustworthy and how they choose what to do if they receive conflicting recommendations from different sources. The interviews will also be an opportunity to ask farmers about how they view the short-term and long-term consequences of various pest-control practices.

Finally, semi-structured interviews will be conducted with other actors involved in the development and commercialization of Roundup-Ready soybean to understand their perceived roles in the evolution of herbicide-resistant weeds. The exact nature of these interviews will depend on the results of the producer interviews and surveys.

Development

At the time of submission of this abstract, there has not been a sufficient quantity of surveys or interviews conducted to report significant results. However, from initial surveys and conversations with producers, a few trends appear to be emerging:

As producers decide whether or not to implement a pest control practice, they weigh a variety of factors including the cost of implementation, past experience with that practice, their trust in the technical assistant that recommended it, and advice from neighbors, relatives, and other technical assistants. Many of the producers surveyed so far have indicated that their trust in the source of technical advice is the most important factor when deciding whether to im-

plement a practice - but only when that source is the cooperative. Producers who also receive technical advice from agrochemical vendors report that their trust in the source plays a less important role in their decision-making process. Additionally, producers reported nearly universally that cooperative agronomists gave feedback after the implementation of the recommended practice, whereas few producers received feedback from vendors.

Most producers (>95%) surveyed implement at least one strategy for preventing the evolution of herbicide-tolerant weeds, and many employ multiple. The most commonly employed strategies have been removing weeds by hand, herbicide rotation, and crop rotation.

Most producers have reported that vendors visit their property selling herbicides, and most have purchased their products in the past five harvests. As they answered the survey questions about the vendors, several producers expressed that they found these visits annoying (interestingly, some of these producers reported purchasing from the vendors within the past five years anyways). A majority of producers who purchased from vendors said that they would do so again.

Considerations

The outcomes of the use of a biotechnology vary by locality, trait, and cropping system. However, individual and community-level case studies can reveal universal lessons for managing herbicide resistance and other environmental externalities of biotechnology. In the Londrina area, researchers and technical assistants blame agrochemical vendors for pressuring producers to adopt herbicide-heavy pest control systems instead of an integrated approach. The prominent role of the private sector in the biotechnology industry is irrefutable even in Brazil, which is internationally lauded for its public agricultural research system. Transgenic crops are inherently more expensive to commercialize due to high costs of intellectual property, trait development and deregulation (Spielman, 2007). As a result of these expenses, only a limited number of crops and traits are financially viable to develop, and those that reach commercialization must be aggressively marketed in order to be profitable. Should herbicide vendors in Paraná play an outsized role in farmer decision-making processes (as local agronomists suggest), this case study will provide an

example of an environmental consequence of such marketing. Extension agents and policymakers should be aware of this economic context as they develop outreach programs to promote sustainable pest control practices.

If one imagines every technology present in a GR cropping system - from the seed, to the sprayer, to the herbicide itself - one realizes that a single soybean field represents the contributions of countless individuals including trait developers, breeders, lab assistants, chemists, mechanical engineers, regulators, patent writers, corporate strategists, market analysts, advertisers, distributors, agronomists, vendors, and ultimately, farmers. According to the psychological theory of the diffusion of responsibility, individuals are more likely to take risks when they perceive that negative consequences of the risk will be distributed across a group of people (Wallach; Kogan; BEM, 1964). This theory is useful for explaining why it is so challenging to address herbicide-tolerant weeds: with so many actors responsible for the design and implementation of GR cropping systems, there is little individual accountability for such negative outcomes. Furthermore, individual actors are less likely to urgently address their own role in perpetuating a negative outcome when they perceive that they are not the only ones responsible.

As scientists and extension agents develop new solutions to weed control, it will be important to understand how underlying social systems prevent or promote the responsible use of biotechnology. This study will illustrate the strengths and limitations of how farmers implement GM crops, contributing to larger conversations on how to best use agricultural technology in Brazil and around the world.

Acknowledgements

Thank you to the anonymous reviewers for providing valuable feedback for this abstract. Thank you to Fernando Storniolo Adegas, Divânia de Lima, Arnold Barbosa de Oliveira, André Mateus Prando, Fernando Augusto Henning, and Elemar Voll for your valuable technical insight and assistance with survey design. Many thanks to the managers, technical assistants, and agronomists of the Integrada and Cocamar agricultural cooperatives for hosting me as I conducted surveys. Finally, thank you to the producers who provided their time and knowledge to participate in this study.

References

- ADEGAS, F. S.; VARGAS, L.; GAZZIERO, D. L. P.; KARAM, D.; SILVA, A. F. da; AGOSTINETTO, D. **Impacto econômico da resistência de plantas daninhas a herbicidas no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 11 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 132).
- ARAGÃO, F. J. L. GM plants with RNAi: golden mosaic resistant bean. **BMC Proceedings**, v.8, suppl, p. 24-25, 2014. (Open access) Edição do Congress of the Brazilian Biotechnology Society, Florianópolis, 2013.
- BENNETT, D. Ian Heap helps keep tabs on global weed resistance. **Delta Farm Press**, Irving, TX, jan. 2007. Disponível em: <<http://www.deltafarmpress.com/ian-heap-helps-keep-tabs-global-weed-resistance>>. Acesso em: 2 jul. 2018.
- BOREL, B. Weeds are winning in the war against herbicide resistance. **Scientific American**, New York, jun. 2018. Disponível em: <<https://www.scientificamerican.com/article/weeds-are-winning-in-the-war-against-herbicide-resistance/>>. Acesso em: 19 jun. 2018.
- COHEN, J. I. Harnessing biotechnology for the poor: challenges ahead for capacity, safety and public investment. **Journal of Human Development**, v. 2, n. 2, p. 239-262, 2001.
- CORNISH, L. What are the political drivers for GMOs in developing countries? **Devex**, Washington, D.C., mai. 2018. Disponível em: <<https://www.devex.com/news/sponsored/what-are-the-political-drivers-for-gmos-in-developing-countries-92091>>. Acesso em: 4 jun. 2018.
- EDWARDS, C. B.; JORDAN, D. L.; OWEN, M. D. K.; DIXON, P. M.; YOUNG, B. G.; WILSON, R. G.; WELLER, S. C.; SHAW, D. R. Benchmark study on glyphosate-resistant crop systems in the United States: economics of herbicide resistance management practices in a 5 year field-scale study. **Pest Management Science**, v. 70, n. 12, p. 1924-1929, 2014.
- ERVIN, D.; JUSSAUME, R. Integrating social science into managing herbicide-resistant weeds and associated environmental impacts. **Weed Science**, v. 62, n. 2, p. 403-414, 2014.
- GRAY, R.; DAYANANDA, B. Structure of public research. In: SMYTH, S. J.; PHILLIPS, P. W. B.; CASTLE, D. (Eds.). **Handbook on Agriculture, Biotechnology and Development**. Cheltenham, UK: Edward Elgar Publishing, 2014. p. 36-55.
- HEAP, I. **The international survey of herbicide resistant weeds**. Disponível em: <<http://www.weedscience.org>>. Acesso em: 5 jun. 2018.
- HEAP, I.; DUKE, S. O. Overview of glyphosate-resistant weeds worldwide. **Pest Management Science**, v. 74, n. 5, p. 1040-1049, 2017.
- MANO, A. Brazil approves world's first commercial GM sugarcane: developer CTC. **Reuters**, São Paulo, 8 jun. 2017. Disponível em: <<https://www.reuters.com/article/us-brazil-sugar-gmo/brazil-approves-worlds-first-commercial-gm-sugarcane-developer-ctc-idUSKBN18Z2Q6>>. Acesso em: 2 jul. 2018.
- PAARLBERG, R. From the green revolution to the gene revolution. **Environment**, v. 47, n. 1, p. 38-40, 2005.
- PRAY, C. E. Public-private sector linkages in research and development: biotechnology and the seed industry in Brazil, China and India. **American Journal of Agricultural Economics**, v. 83, n. 3, p. 742-747, 2001.

PRAY, C. E.; NASEEM, A. **Biotechnology R&D: policy options to ensure access and benefits for the poor**. Rome: FAO, 2003. 37 p. (ESA Working Paper, 03-08).

RHODES, S. D. South American adopters: Argentina and Brazil. In: SMYTH, S. J.; PHILLIPS, P. W. B.; CASTLE, D. (Eds.). **Handbook on Agriculture, Biotechnology and Development**. Cheltenham, UK: Edward Elgar Publishing, 2014. p. 86-98.

SPIELMAN, D. J. Pro-poor agricultural biotechnology: can the international research system deliver the goods? **Food Policy**, v. 32, n. 2, p. 189-204, 2007.

WALLACH, M. A.; KOGAN, N.; BEM, D. J. Diffusion of responsibility and level of risk taking in groups. **The Journal of Abnormal and Social Psychology**, v. 68, n. 3, p. 263-274, 1964.

Eventos como estratégia de comunicação dirigida: uma análise sobre os diferentes eventos organizados pela Embrapa Soja

PINHEIRO, A. M.¹; VILARDO, A. F. L.²; KERN, H. S.²

¹Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina, PR, ana.pinheiro@colaborador.embrapa.br, ²Analista, Embrapa Soja, Núcleo de Comunicação Organizacional.

Atualmente, observa-se o crescimento da ocorrência de eventos em diversos segmentos, nas esferas pública e privada. Dentro do ambiente organizacional não é diferente. Segundo Fortes e Silva (2011), as organizações que se utilizam dos eventos como atividade, desenvolvem a construção de relacionamentos, aumentam os contatos efetivos, promovem a aproximação de seus públicos e fortalecem sua imagem e posicionamento. Ainda, “por meio do evento, que consiste em um acontecimento, tem-se a oportunidade de atrair a atenção do público de interesse para a organização que o realiza” (Cesca, 2008, p. 13).

O Manual de Eventos que rege a Embrapa, proposto por Santos (2006, p. 19), define evento como: “(...) um conjunto de atividades, previamente planejadas, com o objetivo de projetar técnica e institucionalmente a Empresa, promover capacitação, aproximação, integração com seus públicos, e informar à sociedade quanto à utilização dos recursos nela aplicados”.

Além disso, os eventos são considerados importantes veículos comunicativos e são excelentes ferramentas estratégicas de comunicação dirigida. Silva (2003, p. 1) afirma que, “o evento é uma forma de comunicação dirigida que a empresa pode utilizar na otimização de resultados no relacionamento com seus públicos”. Diretamente ligado ao planejamento estratégico, são instrumentos de expansão que colaboram na conquista de novos mercados e de uma opinião pública favorável, com o propósito de alcançar os objetivos, sejam eles em curto, médio ou longo prazo. Giacaglia, traz outra grande vantagem da realização de eventos, como “o ganho de novos clientes, por meio da venda (...), além da geração de um mailing de prospecção para a equipe de vendas” (Silva, 2003, p.3).

Para que um evento ocorra da forma esperada, é necessário que se tenha uma organização adequada. Uma das etapas fundamentais, como afir-

ma Fortes e Silva (2011, p. 41) é o planejamento, na qual é recomendado avaliar questões como: Quais são os objetivos do evento? Quais públicos quer-se atingir? Quais métodos são necessários desenvolver para obter os resultados esperados? Silva (2003), diz: “Em outras palavras, o processo de planejamento se interessa pelos fins e pelos meios para atingi-los”.

Para cada organização, recomenda-se um modelo de planejamento e organização de eventos. Fortes e Silva (2011), separam o planejamento e a organização de eventos em quatro estágios necessários para o acontecimento.

- Estágio 1 - Levantamento de informações: refere-se ao estágio onde são tomadas as decisões que irão nortear o evento. É elaborado um plano inicial, esboçando as estratégias, orçamentos e cronogramas.
- Estágio 2 - Planejamento e Organização: detalha as fases do planejamento, elabora as atividades a serem desenvolvidas. Nesse estágio se define, a tipologia, o local, a data e duração, o formato e programação, o cerimonial e protocolo, os recursos materiais, a contratação de serviços, a infraestrutura, os mecanismos de divulgação, as promoções e atrações. Além de determinar as responsabilidades e estabelecer os instrumentos de avaliação.
- Estágio 3 - Execução: estágio em que todas as ações são implementadas, acompanhadas e monitoradas.
- Estágio 4 - Avaliação e providências finais: implica no recolhimento e na compilação e dos instrumentos utilizados para a avaliação e na finalização do evento, desmontagem da infraestrutura, conclusão de custos, elaboração de relatório final.

As organizações planejam e executam seus eventos de acordo com os seus objetivos e perfis institucionais. Existem duas formas de classificar os eventos, a primeira é a classificação por categoria, que entende-se como divisões em grupos de acordo com as características comuns e a segunda forma de classificar é pela tipologia, compreendido como uma subdivisão dentro da categoria.

O Manual de Eventos da Embrapa categoriza os eventos em:

- Político-institucional: campanhas, semana, concurso, dia de campo, torneio esportivo, entrevista coletiva, fórum, exposição, inauguração, lançamento de produtos, visita e reunião.
- Capacitação e treinamento: curso, palestra, *workshop*, seminário e convenção.
- Técnico-científico: congresso, conferência, painel, encontro, debate, mesa-redonda e simpósio.
- Aproximativo: comemoração, café da manhã, almoço e jantar, coquetel, *happy hour* e *brunch*.
- Promocional: feira, roda de negócios, leilão, cerimônias públicas, assinaturas de atos, convênios e contratos, transmissão de cargos e descerramento de retratos e bustos.

De acordo com a referida categorização, entre janeiro a junho de 2018, a Embrapa Soja realizou e participou de 26 eventos, direcionados tanto ao público externo quanto interno. A Figura 1 demonstra a quantidade de eventos realizados no período, de acordo com suas categorias. A Figura 2 demonstra a divisão de eventos realizados para os públicos externos e internos.

Para melhor compreensão do papel do evento como estratégia de comunicação dirigida, a seguir será elucidado um evento de cada categoria promovido pela Embrapa Soja no período analisado.

Dentro da categoria Político-institucional, um dos eventos realizado anualmente pela Unidade é o Dia de Campo de Soja. Em 2018, o evento foi realizado no dia 16 de fevereiro e atendeu 303 participantes, entre estudantes, produtores, técnicos e consultores.

As ações que propiciaram a realização do Dia de Campo contaram com a articulação entre as áreas de Transferência de Tecnologia, Pesquisa e Desenvolvimento e Comunicação. A programação técnica foi planejada levando-se em consideração as tecnologias disponíveis para as atuais demandas envolvidas no sistema de produção de soja.

Após a programação técnica definida, o NCO (Núcleo de Comunicação Organizacional) planejou e organizou o evento. Inicialmente, foi formatado

um anúncio e banner eletrônico para divulgação do Dia de Campo de Soja, para tanto, foi necessário criar uma comunicação visual. Além da divulgação para imprensa, pelo site e *Facebook* da Embrapa Soja, o convite para participação no evento também ocorreu de forma dirigida, via e-mail marketing segmentado para técnicos, produtores, consultores e estudantes do Paraná, Santa Catarina, São Paulo e Mato Grosso do Sul. Paralelamente à divulgação, a organização do evento contou com a contratação e montagem do *coffee break*, a triagem dos materiais a serem distribuídos, sinalização das estações técnicas, cultivares e tecnologias apresentadas, engajamento de empregados para atuarem como guias no Dia de Campo, recepção e alocação dos participantes em grupos e a elaboração e aplicação do questionário de avaliação.

Como parte do processo de registro e ampliação do *mailing*, foram realizadas as inscrições dos participantes no início do evento, de modo que os mesmos informaram o nome, e-mail e telefone. Tais informações posteriormente foram cadastradas no sistema de clientes da Unidade.

Após a tabulação do questionário que contou com questões objetivas e subjetivas, foi consolidado o relatório final do evento, onde constatou-se que o público foi constituído por 44% de Técnicos e Consultores; 41% de Estudantes e 15% de Produtores. Dos 303 participantes, 164 responderam os questionários de avaliação, correspondendo a aproximadamente 54,3% do público. Numa escala de 1 a 5, os participantes atribuíram nota 4,6 ao evento. Além das questões objetivas, 27,43% dos participantes expressaram opiniões sobre “pontos a serem melhorados”, “críticas e sugestões”. As críticas e sugestões apresentadas foram criteriosamente avaliadas e na medida do possível serão incorporadas pela equipe organizadora nas próximas edições do evento, pois através destas identificou-se alguns pontos passíveis de serem aprimorados.

Dentro da categoria Capacitação e Treinamento, foi realizado o Curso de Produção de Soja - Módulo de Manejo do Solo e da Cultura, entre os dias 23 e 27 de abril de 2018. O evento contou com 35 participantes, dentre eles, técnicos e produtores agrícolas, da região do Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Goiás, Rio Grande do Sul e Minas Gerais.

A realização do curso partiu da articulação das áreas de Transferência de Tecnologia, Pesquisa e Desenvolvimento e Comunicação. As vagas fo-

ram preenchidas dando prioridade aos participantes do módulo de Manejo Fitossanitário, realizado no final de 2017, com convite dirigido para este público. Para preenchimento das vagas disponíveis, a divulgação do curso foi realizada por meio do site da Embrapa Soja, no seu perfil no *Facebook* e também via *WhatsApp*.

As inscrições foram encerradas e o público participante ficou dividido em 88,7% de Técnicos Agrícolas e 11,43% de Produtores Rurais. O planejamento e execução do evento, por parte do NCO, incluiu a criação de identidade visual para produção de peças de comunicação, desenvolvimento de hotsite para divulgação e explicação sobre o evento, gerenciamento das inscrições dos participantes e captação financeira, contratação e formatação de materiais (bolsa, caderno, pen drive, caneta), formatação da programação, contratação de *coffee break* e *happy hour* para confraternização dos participantes, definição e organização de material técnico, lista de presença e aplicação de questionário de avaliação.

Como resultado da avaliação do evento, dos 35 participantes, 29 responderam ao questionário aplicado, correspondendo a 83% dos participantes. A média da nota que os participantes atribuíram ao evento em geral foi de 4,7. Dentre as perguntas discursivas, como “pontos a serem melhorados” e “críticas e sugestões”, 62% dos participantes expressaram suas opiniões. Com a tabulação analisada, pode-se constatar quais pontos são necessários dar continuidade e quais devem ser aprimorados para a próxima edição do curso.

Dentro da categoria Técnico-científica, podemos citar como exemplo de evento o “Painel de Construção do Perfil do Solo”, realizado no dia 11 de abril, no Pavilhão *Smartagro*, durante a Exposição Agropecuária de Londrina - ExpoLondrina 2018. O painel contou com 270 participantes, dentre eles técnicos e estudantes, de Londrina e região. O evento partiu da articulação das áreas de Transferência de Tecnologia, Pesquisa e Desenvolvimento e Comunicação. As inscrições foram disponibilizadas de forma online, por meio de formulário do *Google*.

O NCO, dentro do planejamento e execução, articulou o evento com a Sociedade Rural do Paraná, promotora da ExpoLondrina, para definição de data e do local de realização do painel. Ainda nesta etapa, a execução do

evento contou com a criação da sua identidade visual, com a divulgação para imprensa, anúncio divulgado por e-mail marketing, no site da Embrapa Soja e no seu perfil no *Facebook*. Para organização da logística do painel foi necessário o gerenciamento de inscrições, montagem da sala, organização de material para participantes, confecção de certificados, lista de presença, contratação de *coffee break* e elaboração de cerimonial do evento. O questionário de avaliação foi aplicado de forma online, também através do “*Google Docs*”.

A avaliação do evento contou com os seguintes resultados: dos 270 participantes, 72 responderam ao questionário aplicado, correspondendo a 26,6% dos participantes. A média da nota que os participantes atribuíram ao evento em geral foi de 4,4. A pergunta discursiva, “Em um próximo evento da Embrapa, qual o tema que você gostaria que fosse abordado?” foi respondida por 82% dos participantes que responderam ao questionamento. Com a tabulação analisada, pode-se perceber quais temas são de interesse desse público, o que pode vir a influenciar na seleção de temas para eventos posteriores.

Dentro da categoria Aproximativo, pode-se exemplificar com a realização da comemoração do Dia das Mães na Embrapa Soja, evento voltado para o público interno e realizado no dia 11 de maio de 2018. O intuito do evento foi promover a confraternização e homenagear as mães da Unidade. Das 60 mães presentes na empresa, entre elas funcionárias, estagiárias, bolsistas e terceirizadas, 35 mães participaram do evento, totalizando 58,3%.

O evento foi articulado entre as áreas de Comunicação e Gestão de Pessoas, e promovido pela Embrapa Soja, Associação dos Empregados da Embrapa Soja (AEE-Soja) e Sinpaf (Sindicato dos Empregados da Embrapa, Seção Londrina). A comemoração convidou as mães a participarem de um piquenique seguido de uma oficina de cuidados para as plantas, no Espaço de Educação Ambiental (EEA). Após a confraternização, foi entregue um vaso com uma planta ornamental para cada participante. As mães que não puderam participar receberam o presente em frente ao restaurante da empresa ou retiraram diretamente no NCO. Os eventos internos não contam com aplicação de questionário de avaliação para os participantes. Os feedbacks são realizados diretamente pelos participantes para o NCO e/ou SGP e fazem parte do processo de melhoria e aprimoramento do planejamento e execução dos eventos.

Dentro da categoria Promocional, um dos eventos que a Embrapa Soja participa anualmente é a ExpoLondrina, caracterizada como uma feira agrícola. A participação no evento tem o objetivo de estreitar o relacionamento da Embrapa Soja com os diversos públicos da sociedade, divulgar suas tecnologias e demonstrar a importância da pesquisa agropecuária. Em 2018 a ExpoLondrina foi realizada entre os dias 5 a 15 de abril. Nesse evento a Embrapa Soja estruturou estande para promoção institucional e focou a importância do solo para a agricultura, o método de Diagnóstico Rápido da Estrutura do Solo (DRES), a importância de produtos à base de soja para alimentação humana, o reconhecimento das principais pragas da soja por meio de uma ferramenta interativa e a comercialização de publicações técnicas. Além do estande, a Embrapa Soja também atuou em parceria com a Emater – PR e Iapar no espaço Via Rural, popularmente designado como Fazendinha, onde foram apresentados os resultados obtidos nas Unidades de Referência Tecnológicas do Projeto Grãos. Nos dois espaços, foi possível captar mailing dos visitantes que serão utilizados posteriormente em estratégias de comunicação dirigida.

Na etapa de planejamento e execução, o NCO contratou montadora para estruturação dos espaços, definiu projeto do estande, criou conteúdo e identidade visual tanto para o estande, como para os painéis apresentados na Via Rural, engajou empregados para atuar no atendimento ao público, definiu escala de trabalho, contratou alimentação para equipe de trabalho, organizou visita do público interno à ExpoLondrina e definiu a forma de apresentação das tecnologias expostas.

Segundo o site oficial da ExpoLondrina 2018, durante os 10 dias de visitação, o número de visitantes no referido ano foi de 557.372, sendo 16.850 produtores rurais. Os espaços onde a Embrapa atuou tiveram bastante aderência e visitação, o que permitiu promover o relacionamento com os visitantes e difundir as tecnologias apresentadas. Neste tipo de evento não é aplicado questionário de avaliação, a análise é feita por meio de observações e *feedback* dos empregados da Embrapa Soja que atuaram na linha de frente do atendimento aos visitantes.

Durante o primeiro semestre de 2018, constata-se que eventos das categorias Político-Institucional, Promocional, de Capacitação e Treinamento fo-

ram os realizados em maior número pela Embrapa Soja. Os participantes são foram em sua maioria técnicos, produtores e estudantes. Os quais são considerados públicos importantes para Unidade. A abrangência de públicos demonstra a necessidade de utilizar técnicas de comunicação dirigida na organização destes eventos que possam resultar em aprendizado das tecnologias, produtos e serviços, além de melhorar cada vez mais a imagem da empresa diante da sociedade e estreitar o relacionamento com os públicos envolvidos. A elevada participação de diferentes públicos nos eventos promovidos pela Embrapa Soja, reforçam a relevância de eventos como uma estratégia de comunicação dirigida de fundamental importância no contexto organizacional, que permite estabelecer vínculos positivos e efetivos nas relações empresa-público.

Referências

CESCA, C. G. G. **Organização de eventos**: manual para planejamento e execução. 9. ed. São Paulo: Summus, 2008. 200 p.

FORTES, W. G.; SILVA, M. B. R. **Eventos**: estratégias de planejamento e execução. São Paulo: Summus, 2011. 232 p.

SANTOS, L. de S. **Manual de eventos**. Brasília, DF: Embrapa, Assessoria de Comunicação Social, 2006. 146 p.

SILVA, M. B. R. **O evento como estratégia na comunicação das organizações**: modelo de planejamento e organização. 2003. 12 p. Disponível em: <http://ead2.iff.edu.br/pluginfile.php/26430/mod_resource/content/2/Modelo%20de%20planejamento%20de%20eventos.pdf>. Acesso em: 06 mai. 2018.

Flutuação populacional de percevejos e visitantes florais em cultivares de soja transgênica Bt e não Bt

PAIVA, H. C.¹; CORRÊA-FERREIRA, B. S.²

¹Unifil - Centro Universitário Filadélfia, Bolsista Fundação Eliseu Alves-Embrapa-Bayer, Londrina, PR, helencristinapaiva98@gmail.com; ²Pesquisadora aposentada, Embrapa Soja.

Introdução

Durante o desenvolvimento da cultura da soja vários insetos estão presentes e dentre esses, insetos que são pragas, insetos benéficos e aqueles que são polinizadores, que flutuam de acordo com a região, estágio de desenvolvimentos das plantas, cultivares utilizadas e manejo da cultura, entre outros fatores. Os percevejos sugadores de sementes são considerados no Brasil, uma praga chave da soja, causando prejuízos e preocupações em diferentes regiões produtoras (Panizzi et al., 2012; Corrêa-Ferreira; Sosa-Gómez, 2017), onde o impacto da sua alimentação pode causar perdas significativas no rendimento, na qualidade e no potencial germinativo de seus grãos e/ou sementes (Gazzoni, 1998).

Embora a soja sendo uma planta de autofecundação (Ahrent; Caviness, 1994) com órgãos masculinos e femininos na mesma planta e com flores perfeitas (Sediyama et al., 1985), estudos têm demonstrado um aumento na produtividade quando polinizadores bióticos visitam as flores dessa planta (Toledo et al., 2011). A polinização é um fator de produção fundamental na condução de muitas culturas agrícolas em todo mundo, que além do aumento no número de vagens ou frutos vingados, a polinização pode aumentar o número de grãos por vagem, melhorar a qualidade dos frutos, diminuir os índices de má formação, aumentar o teor de óleos e outras substâncias extraídas dos frutos, encurtar o ciclo de certas culturas agrícolas e, ainda, uniformizar o amadurecimento dos frutos, diminuindo as perdas na colheita (Williams et al., 1991). Dentre os insetos, o grupo das abelhas são os mais eficientes polinizadores (Beer, 2016), destacando-se a *Apis mellifera* L., como responsável por 80% da polinização entomófila (D'Avila; Marchini, 2005). Muitos são os fatores que agem direta ou indiretamente no processo de polinização por abelhas (Silva et al., 2002) sendo um deles a atratividade pela coloração das

flores (Martins et al., 2005). Segundo a literatura, as abelhas são atraídas por flores que possuem cores vivas, como azul, lilás e amarelo, guias nectários, área de pouso, odor agradável e que produzem e oferecem algum tipo de recurso floral (Sigrist, 1995).

Levantamentos das espécies de abelhas têm sido realizados em diferentes culturas e ambientes, utilizando diversos métodos de coleta. O estudo pioneiro no Brasil foi realizado por Sakagami et al. (1967) com a rede entomológica, sendo esta ferramenta utilizada até os dias atuais, como referência de método de amostragem na coleta de abelhas. A literatura registra também outros métodos que são utilizados na coleta de polinizadores, entre eles o uso de armadilhas coloridas como as armadilhas do tipo “Pan Traps” que utilizam pratos coloridos para coleta de abelhas. Esse método foi utilizado com eficiência em monitoramentos realizados em sistemas agroflorestais no Pará (Maués et al., 2011) e, na soja, resultados preliminares foram obtidos por Rompató et al. (2017), com o uso de armadilha multicor constatando viabilidade de utilização desse método para a coleta de insetos visitantes florais nesta cultura. Considerando as mudanças que ocorreram no sistema de produção agrícola da soja no Brasil com predomínio hoje de cultivares de ciclo curto, de tipo de crescimento indeterminado, o uso de soja intacta que a cada safra tem sido intensificado, aliado à redução substancial na adoção do MIP-Soja e conseqüente aumento do número de aplicações de agrotóxicos nas lavouras, procurou-se avaliar a flutuação populacional de percevejos e a ocorrência dos visitantes florais em cultivares de soja Bt e não Bt.

Material e Métodos

O ensaio foi conduzido na área experimental da Embrapa Soja, em Londrina-PR (23° 28'44,72" S, 50° 59'03,24" O), na safra 2017/18 em soja semeada no dia 18/10/2017 com quatro cultivares transgênicas, sendo duas Bt (DM 6563IPRO e BRS 1001IPRO) e duas não Bt (BRS 388RR e BRS 399RR). Os genótipos tinham grupo de maturidade semelhante (6.0 a 6.4), sendo duas cultivares de flor branca e duas de flor roxa. Utilizou-se parcelas de 20 m x 20 m, segundo um delineamento de blocos casualizados, com quatro tratamentos e quatro repetições, avaliando-se a população dos percevejos e dos visitantes florais.

A flutuação populacional de percevejos foi acompanhada durante todo o ciclo de desenvolvimento da soja através de amostragens realizadas, semanalmente, com o pano-de-batida em duas amostras/parcela, considerando-se percevejos adultos e ninfas de 3^o ao 5^o instar das diferentes espécies encontradas. O levantamento de visitantes florais foi realizado no período em que as plantas de soja tinham flores utilizando-se dois métodos: a rede entomológica e a armadilha multicor. A rede foi utilizada sobre duas fileiras de soja em 10 m/parcela, sendo os insetos capturados armazenados em sacos plásticos e levados ao laboratório para registro das abelhas que foram classificadas em *Apis* e não *Apis*.

As armadilhas multicores foram instaladas quatro por parcela, sendo cada uma composta por dois conjuntos de potes de 500 ml nas cores branco, amarelo, azul e roxo que ficaram posicionados no meio das plantas e acima do dossel das plantas de soja (Figura 1). Os potes foram, semanalmente, preparados com água+detergente e gotas de formol, e após 48 horas de exposição, foi feita a retirada dos insetos. No laboratório, os insetos foram processados e registrados como *Apis* e não *Apis*, sendo aquelas espécies desconhecidas conservadas em álcool 70% ou feita a montagem em alfinete entomológico para envio aos especialistas para a correta identificação das espécies. Paralelamente a cada amostragem foi registrado o estágio de desenvolvimento da soja segundo a escala de Fehr e Caviness (1977).



Figura 1. Armadilha multicor utilizada na soja para a coleta de abelhas, na safra 2017/18.

Os dados foram analisados utilizando-se técnicas de modelos lineares generalizados mistos na ANOVA, no qual se considera a utilização de distribuições não-normais dos dados e a alteração da matriz de covariância dos resíduos. Neste estudo, as alterações consistiram em acrescentar o efeito de amostra dentro de bloco, além de tratar os casos em que ocorreram heterogeneidade de variância.

Resultados e Discussão

Na safra 2017/18, em áreas de soja sem uso de inseticidas, verificou-se que a ocorrência e o crescimento da população de percevejos, no início do ciclo da cultura, foi semelhante nas cultivares intacta (DM 6563IPRO e BRS 1001IPRO) e nas não Bt (BRS 388RR e BRS 399RR), mantendo-se numa densidade baixa e inferior a 1 percevejo/m até 24/01, com soja em início de enchimento de grãos (Figura 2). A partir desse período, a população de percevejos apresentou crescimento em todas as cultivares, entretanto, apenas na BRS 399RR o nível de controle (2 percevejos/m) foi atingido na semana seguinte, decrescendo posteriormente e se mantendo inferior a 2/m até o final do ciclo da soja. A cultivar BRS 388RR apresentou os menores índices de percevejos, ultrapassando o nível de controle com soja já em maturação. As maiores densidades populacionais de percevejos foram constatadas na cultivar intacta DM 6563IPRO, ocorrendo por 21 dias em níveis superiores ao nível de controle, chegando a atingir a densidade máxima de 4,62 percevejos/m com soja ainda em estágio de desenvolvimento crítico ao ataque dos percevejos. Na comparação das cultivares Bt e não Bt, a densidade populacional dos percevejos flutuou ao longo do ciclo, entretanto, diferença significativa foi constatada na avaliação de 31/01/18 para os materiais de flor roxa (BRS 1001IPRO e BRS 399RR) e em 22/02/2018 para aqueles de flor branca (DM 6563IPRO e BRS 388RR).

Os resultados obtidos nessa safra indicaram que, independente da tecnologia utilizada, o nível de controle para percevejos só foi atingido no período de enchimento de grãos reforçando, portanto, a necessidade do monitoramento das lavouras de soja para que a tomada de decisão seja mais assertiva e eficaz, evitando-se aplicações de inseticidas preventivas ou abusivas que levam a ambientes mais desequilibrados e com maiores problemas de pragas.

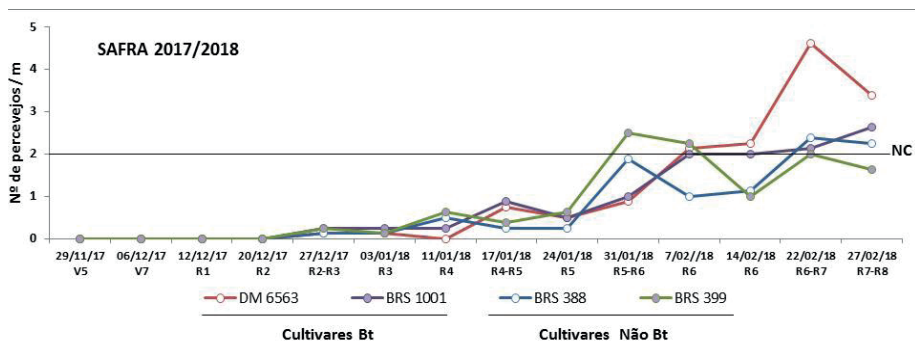


Figura 2. Flutuação populacional de percevejos em diferentes cultivares de soja, em áreas sem aplicação de inseticida, na safra 2017/18 (NC = nível de controle)

O número de visitantes florais coletados com a rede de varredura no período da presença de flores (20/12/17 a 11/01/18) nas diferentes cultivares de soja foi muito reduzido, independente de cultivares Bt ou não Bt, com flores brancas ou roxas. Essa baixa ocorrência de abelhas constatada nessa safra pode estar relacionada ao período de floração das cultivares e a elevadas e contínuas precipitações ocorridas nesse período em Londrina. O valor máximo médio verificado foi de 2,25 abelhas/10m na soja Bt DM 6563IPRO em 20/12/17, em pleno florescimento. Nas demais avaliações e cultivares a presença de abelhas foi reduzida (0 a 0,5 abelhas/10m), não sendo possível detectar nenhuma relação da maior ou menor presença das abelhas na soja com a cultivar Bt ou não Bt ou com a cor das flores.

O efeito das condições climáticas no período do florescimento da soja nessa última safra também afetou negativamente os resultados obtidos quando as armadilhas multicor foram utilizadas, sendo possível analisar com rigor estatístico o efeito da cultivar ou da cor da flor na captura das abelhas apenas para a primeira data de avaliação (14/12). Nesta ocasião, do total de abelhas coletadas nas armadilhas cerca de 47% eram *A. mellifera* e 53% correspondia a outras espécies de abelhas em cultivares Bt ou não Bt, não se constatando efeito significativo ($P=0,7391$) das cultivares e da cor de flor tanto para abelhas do gênero *Apis* como para as outras abelhas presentes na soja.

Numa análise geral, considerando o período total das avaliações verificou-se preliminarmente, que o maior número de abelhas, foram capturadas nos potes amarelos, com percentuais que variaram de 38 a 54% do total coletado.

Potes azuis e brancos apresentaram atração e captura mediana e aparentemente sem diferença entre eles, especialmente nas cultivares Bt, enquanto os roxos apresentaram sempre o menor número de abelhas independente da cultivar ser Bt ou não com flor branca ou roxa (Figura 3). Em valores absolutos, o maior número total médio de abelhas capturado por armadilha foi constatado na cultivar BRS 388RR, não Bt e de flor branca (8,15 abelhas) e o menor na cultivar DM 6563IPRO, material Bt e com flor branca (5,66).

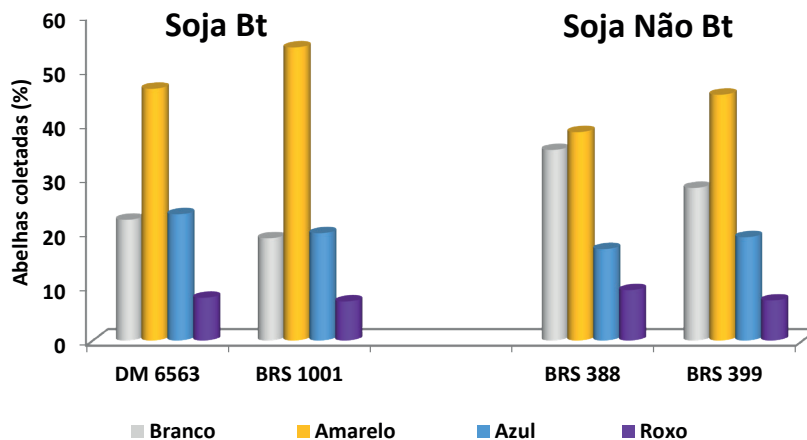


Figura 3. Percentual total médio de abelhas coletadas pela armadilha multicolor em cultivares de soja Bt e não Bt, no período de 14/12/17 a 18/01/18 em Londrina, PR na safra 2017/18.

Conclusão

Nas condições da realização do ensaio conclui-se que quanto aos níveis populacionais de percevejos presentes no período do R3 ao R7, embora flutue ao longo do ciclo da soja, não há diferença quanto à cor da flor, mas pode ocorrer entre cultivares com tecnologia Intacta RR2 PRO (Bt) e RR (não Bt). Quanto à densidade de abelhas *Apis* e não *Apis* presentes na soja em relação às cultivares Bt ou não Bt e de cor de flor branca ou roxa há necessidade de estudos complementares em diferentes safras e com maior número de genótipos com essas tecnologias e características.

Referências

- AHRENT, D.K.; CAVINESS, C.E. Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. **Crop Science**, v. 34, n.2, p. 376-378, 1994.
- BEER, R. Porque salvar as abelhas. **Revista Veja**, v. 49, n. 8, p. 84-87, 2016.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; SOSA-GÓMEZ, D. R. **Percevejos e o sistema soja-milho**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 70 p. (Embrapa Soja. Documentos 397).
- D'AVILA, M.; MARCHINI, L.C. Polinização realizada por abelhas em culturas de importância econômica no Brasil. **Boletim de Indústria Animal**, v.62, n.1, p.79-90, 2005.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stage of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report, 80).
- GAZZONI, D. L. Efeito de populações de percevejos na produtividade, qualidade da semente e características agronômicas da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 1229-1237, 1998.
- MARTINS, E. A. C.; MACHADO, R. J. P.; LOPES, J. Atrativo para abelhas em campos de produção de sementes de girassol colorido híbrido. **Revista Ciências Agrárias**, v. 26, n. 4, p. 489-494, 2005.
- MAUÉS, M. M.; SOUSA, J. T. A. de; MOURA, T. do S. A. de; SANTOS, A. C. S. dos. Biomonitoramento de abelhas com Pan Traps em um sistema agroflorestal em Tomé-Açu, Pará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS AGROFLORESTAIS, 8, 2011, Belém, PA. **Anais...** Belém, PA: CBSAF, 2011.
- PANIZZI, A. R.; BUENO, A. de F.; SILVA, F. A. C. da. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.) **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-pragas**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 335-420.
- ROMPATO, M. S.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; GAZZONI, D. L. Uso da armadilha multicor na captura de visitantes florais na cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 12., 2017, Londrina. **Resumos expandidos...** Londrina: Embrapa Soja, 2017. p. 128-136.
- SAKAGAMI, S. F.; LAROCA, S.; MOURE, J. S. Wild bees biocenotics in São José dos Pinhais (PR), South Brazil - preliminary report. **Journal of the Faculty of Science Hokkaido University Ser. 6, Zoology**, v.16, p. 253-291, 1967.
- SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M.G.; SEDIYAMA, C.S.; GOMES, J.L. **Cultura da soja**. Viçosa: UFV, 1985. 96 p.
- SIGRIST, M.R. A polinização pelas abelhas. In: MORELLATO, P.C.; LEITÃO FILHO, H.F. (Ed.). **Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: Reserva de Santa Genebra**. Campinas: UNICAMP, 1995. p. 46-49.
- SILVA, S. R.; MALERBO-SOUZA, D. T.; TOLEDO, V. A. A. Métodos para atrair a abelha *Apis mellifera* L. em culturas de abacate (*Persea americana* Mill.). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 24, n. 4, p.8, 2002.

TOLEDO, V. A. A de; MALERBO-SOUZA, D. T.; FILHO, J. C. S.; PINTO, A. S. P.; RUVULO-TAKASUSUK, M. C. C.; CHAMBÓ, E. D. Biodiversidade de agentes polinizadores e seu efeito na produção de grãos em soja var. monsoy 3329. **Revista Varia Scientia - Agrárias**, v.2, n. 1, p. 123-130, 2011.

WILLIAMS, I. H.; CORBET, S. A.; OSBORNE, J. L. Beekeeping, wild bees and pollination in the European Community. **Bee World**, v. 72, n. 4, p. 170-180, 1991.

Desafio e implementação da coleta de néctar de flores de soja em campo

COTRIM, G. S.¹; TOYAMA, K. S. F.²; PARPINELLI, R. S.³; TOLEDO, V.A. A.³; HOFFMANN-CAMPO, C. B.⁴; GAZZONI, D. L.⁴; NUNES, E. O.⁴

¹Unifil-Centro Universitário Filadélfia, Bolsista Embrapa-Bayer, gustavodscotrim@outlook.com ;

²UTFPR-Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Bolsista Embrapa; ³UEM-Universidade Estadual de Maringá; ⁴Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

A soja (*Glycine max* L. Merrill) é a principal *commodity* agrícola do Brasil. Na safra de 2017/2018, estima-se o crescimento de área plantada de soja em 3,5% em relação aos outros anos, atingindo 35,1 milhões de hectares, com uma produtividade média de 3.333 Kg/ha (Conab, 2018); destacando Mato Grosso como o maior estado produtor de soja, seguido do Paraná e Rio Grande do Sul. Várias culturas agrícolas importantes para o Brasil, em nível de exportação como também da dieta dos brasileiros, dependem da polinização entomófila, principalmente realizadas por abelhas, para alcançarem níveis de produtividade adequados (Giannini et al. 2015).

A flor da soja caracteriza-se como racemo, o rendimento de grãos de soja pode ser determinado pelo número de flores que cada planta pode produzir, bem como a quantidade destas que geram vagens férteis. Observa-se que um número grande de flores não produz sementes, uma vez que o índice de abortos pode ser superior a 75% em algumas variedades (Free, 1993; Navarro Junior, 2002). Dentre os vários agentes polinizadores, os insetos se destacam por serem abundantes na natureza e ajustarem-se perfeitamente às diferentes estruturas florais (Free, 1993), e as abelhas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) apresentam-se como um dos mais eficientes agentes polinizadores, sendo responsáveis por 80% da polinização entomófila (McGregor, 1976).

A soja é uma planta autogâmica, sendo considerada como parcialmente dependente de polinização por insetos (Klein et al., 2007; Gallai et al., 2009; Gazzoni, 2017). A Polinização é um fenômeno natural que ocorre quando as anteras deiscidas liberam o pólen e o estigma está receptivo até mesmo antes da abertura do conjunto floral (Erickson et al., 1978). Esta pode ocorrer

por meio da transferência dos grãos de pólen da antera de uma flor para o estigma de outra flor da mesma espécie, porém em pés diferentes com intervenção de agentes polinizadores como o vento (anemofilia) ou as abelhas (entomofilia). Isto pode ocorrer na própria planta, em que o grão de pólen é transportado para o estigma da flor (Freitas, 1995).

Nessa interação planta-inseto há uma troca entre os dois organismos, sendo o néctar uma recompensa floral importante para a visitação de abelhas nas flores. Algumas flores apresentam um guia definido de néctar, que consiste em linhas convergentes ao nectário. Esses guias são visíveis nas flores da soja, principalmente nas variedades que apresentam flores com diferentes tons de roxo, e ausentes em variedades brancas (Erickson e Garment, 1979). A quantificação dos açúcares a partir do nectarífero floral, nos permite o desenvolvimento de estudos associados com a visitação nas flores por abelhas que coletam néctar, e que polinizam várias espécies de plantas cultivadas.

Estudando a polinização de abelhas africanizadas em flores de soja (*G. max*) var. BRS 133, Chiari et al. (2005) observaram que a quantidade média de açúcar total e de glicose medidas do néctar das flores não apresentaram diferenças entre os tratamentos com e sem abelhas; os valores médios de açúcares totais e de glicose aferidos no néctar das flores foram $14,33 \pm 0,96$ mg.flor⁻¹ e $3,61 \pm 0,36$ mg.flor⁻¹, respectivamente. Já, as concentrações dos sólidos totais apresentaram diferenças no tratamento coberto com abelhas $22,33 \pm 0,38\%$ e $21,33 \pm 0,22\%$ no tratamento livre. Portanto, concluíram que os dados apresentaram uma uniformidade, diferindo dos resultados obtidos por Sheppard et al. (1979) que observaram grandes variações nas concentrações de néctar, e atribuíram essas diferenças às variações a condições edafoclimáticas.

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi desenvolver uma técnica de coleta de néctar em flores de soja, para posterior determinação de açúcares, através da adaptação de um protótipo que permitisse, de forma concomitante, manter a integridade da estrutura floral na planta e a ejeção do néctar coletado de uma forma mais rápida e eficiente.

Material e Métodos

Para obtenção do néctar de flores de soja foram testadas técnicas de coleta com o auxílio de microcapilares com capacidade de 0,5 μL e 1,0 μL . Para a ejeção do néctar de dentro do capilar foram testados três diferentes técnicas. A primeira delas consistiu no uso de uma microseringa para cromatografia, conforme descrito por Erickson (1979); a segunda, no uso de um êmbolo desenvolvido para os microcapilares e a terceira foi com o auxílio de um pipetador de sucção de borracha “conta gotas” para microcapilar.

Os possíveis meios de retirada desse néctar foram avaliados para a realização dos ensaios laboratoriais quanto a determinação e quantificação do perfil de carboidratos presentes no néctar por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As cultivares analisadas foram a BRS 317 e DM 6563. As amostras do néctar de flores de soja foram coletadas a campo e em casa-de-vegetação, acondicionadas em freezer -20°C para posteriores análises laboratoriais.

Resultados e Discussão

O microcapilar com o volume de 0,5 μL foi o mais viável dentre os métodos utilizados, pois possibilitou a coleta do néctar em flores de forma eficaz, ou seja, sem danificar as flores e/ou a estrutura do nectário floral (Figura 1). O volume médio de néctar obtido por flor foi de 0,25 μL , sendo necessário a coleta do néctar de 10 flores para a obtenção de uma amostra.

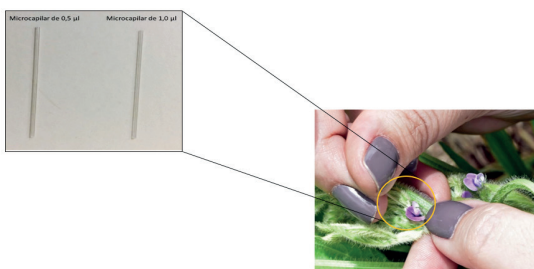


Figura 1. Microcapilares de 0,5 μL e 1,0 μL utilizados no teste de coleta do néctar em flores de soja.

Informações relevantes quanto à forma, tamanho, localização dos nectários nas diferentes peças florais da planta, sua estrutura anatômica, época de florescimento, produção de néctar e concentração de açúcares no néctar de determinada espécie são de extrema importância para uma correta avaliação (Santos, 1956; Horner et al., 2003; Gazzoni, 2017). Portanto, a Figura 2 apresenta a descrição das estruturas florais observadas no presente estudo:



Figura 2. Morfologia da flor da soja, (1) pétala, (2) pólen; (3) cálice; (4) óvulo e (5) ovário.

Ensaio para ejeção do néctar do microcapilar

Microseringa de Erickson (1979): consistiu na inserção do capilar no lúmen de uma microseringa de cromatografia (25 μL) e adicionar determinado volume conhecido da fase móvel (Figura 3). Verificou-se com este método, que o capilar permanece preso à parede da microseringa. Do qual, sua remoção só é possível após secagem completa em uma corrente de azoto, o qual exige uma determinada estrutura laboratorial específica. Portanto, o uso dessa técnica, demonstrou-se inviável do ponto de vista **técnico para aplicação** a campo, pois exigiria uma infraestrutura laboratorial e pelo menos 10 seringas (Figura 3) para cada amostra composta.

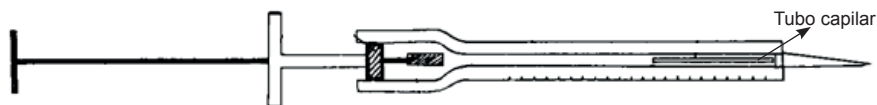


Figura 3. Sistema para remoção de néctar por microseringa de cromatografia (Adaptado de Erickson, 1979).

Êmbolo para microcapilar: Foi confeccionado um **êmbolo** especialmente para esta finalidade, no qual consistiu em adentrar o capilar de modo a expulsar o conteúdo interno de néctar (Figura 4). O êmbolo apresentou-se eficiente somente ao microcapilar de 1,0 μ L. No entanto, verificou-se que o mesmo no momento da coleta, provocou danos ao nectário da flor da soja devido a sua grande área de contato, sendo esta técnica descartada, uma vez que se buscou a integridade do nectário.

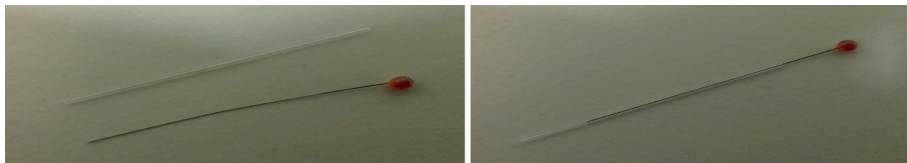


Figura 4. Êmbolo confeccionado para a retirada do néctar de dentro do capilar.

Pipetador de sucção de borracha para microcapilar: o aplicador apesar de eficaz, apresentou baixa eficiência na coleta do néctar, pois o processo de retirada do néctar tornou-se muito moroso, aumentando assim o risco de concentração das amostras em função da elevada volatilidade do néctar (Figura 5).

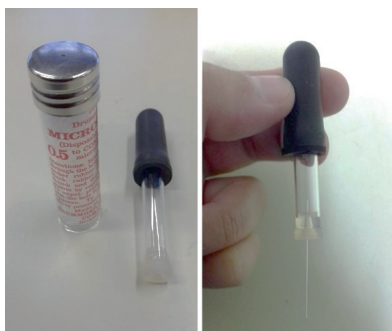


Figura 5. Pipetador de sucção de borracha para microcapilar.

Protótipo adaptado para ejeção de néctar coletado

Finalmente, através das experiências obtidas com os métodos supracitados, foi possível desenvolver um protótipo (Figura 6). A aplicação do mesmo, permitiu o desenvolvimento de uma técnica que se demonstrou viável para a realização de coletas a campo, sem comprometimento do material coletado e de preservação da estrutura floral, o que é extremamente útil, principalmente quando se pretende avaliar a capacidade de reposição do néctar pela planta.



Figura 6. Fração da pêra de borracha e microcapilar adaptados à seringa de insulina.

Conclusão

Através desse estudo foi possível estabelecer uma técnica adequada para a coleta de néctar em flores de soja. No qual não trouxesse danos as estruturas florais em condições de campo, e que para maior agilidade de ejeção um protótipo foi adaptado. O volume médio de néctar produzido por flor foi determinado, bem como a quantidade mínima de flores necessárias para a obtenção de uma unidade amostral, para a realização da determinação e quantificação de açúcares pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência. Portanto, conclui-se aqui uma das etapas necessárias para a possível compreensão da relação inseto-planta, com vistas a colaborar para o incremento da produção agrícola da soja por meio da polinização realizada pelas abelhas.

Agradecimento

A Bayer Crop Science® pelo financiamento deste projeto.

Referências

CHIARI, W. C.; TOLEDO, V. A. A.; RUVOLO-TAKAKSUSUKI, M. C. C.; ATTENCIA, V. M.; COSTA, F. M.; KOTAKA, C. S.; SAKAGUTI, E. S.; MAGALHAES, H. R. Floral biology and behavior of Africanized honeybees *Apis mellifera* in soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.48, p.367-378, 2005.

- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, nono levantamento, jun.2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos>>. Acesso em: 19 jun. 2018.
- ERICKSON, E. H. Characterization of floral nectars by high-performance liquid chromatography. **Journal of Apicultural Research**, v. 18, p. 148-152, 1979.
- ERICKSON, E. H.; BERGER, G. A.; SHANNON, J. G.; ROBINS, J. M. Honeybee pollination increases soybean yields in the Mississippi Delta region of Arkansas and Missouri. **Journal of Economic Entomology**, v. 71, p. 601-603, 1978.
- ERICKSON, E. H.; GARMENT, M. B. Soya-bean flowers: nectary ultra-structure, nectar guides, and orientation on the flower by foraging honeybees. **Journal of Apicultural Research**, v.18, p.1-11, 1979.
- FREE, J. B. **Insect pollination of crops**. New York: Academic Press, 1993. 684 p.
- FREITAS, B. M. **The pollination efficiency of foraging bees on apple (*Malus domestica* Borkh) and cashew (*Anacardium occidentale*)**. 1995. 197 f. Tese - University of Wales, Cardiff, UK.
- GALLAI, N.; SALLES, J. M.; SETTELE, J.; VAISSIÈRE, B. E. Economic valuation of the vulnerability of the world agriculture confronted with pollination decline. **Ecological Economy**, v. 68, p. 810-821, 2009.
- GAZZONI, D. L. **Soja e abelhas**. Brasília, DF: Embrapa, 2017. 151 p.
- GIANNINI, T. C.; CORDEIRO, G. D.; FREITAS, B. M.; SARAIVA, A. M.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. The dependence of crops for pollinators and the economic value of pollination in Brazil. **Journal of Economical Entomology**, v. 108, p. 849-57, 2015.
- HORNER, H. T.; HEALY, R. A.; CERVANTES-MARTINEZ, C.; PALMERT, R. G. Floral nectary fine structure and development in *Glycine max* L. (Fabaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v.164, n. 5 , p. 675-690, 2003.
- KLEIN, A. M.; VAISSIERE, B. E.; CANE, J. H.; STEFFAN-DEWENTER, I.; CUNNINGHAM, S. A.; KREMEN, C.; TSCHARNTKE, T. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. **Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences**, v. 274, p. 303-313, 2007.
- MCGREGOR, S. R. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington: USDA, 1976. 411 p. (Agriculture Handbook).
- NAVARRO JUNIOR, H. M.; COSTA, J. A. Contribuição relativa dos componentes do rendimento para produção de grãos em soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 269-274, 2002.
- SANTOS, C. F. Morfologia dos nectários e concentração dos néctares de algumas plantas apícola. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 12-13, p. 57-67, 1956.
- SHEPPARD, W. S.; JAYCOX, E. R.; PARISE, S. G. Selection and management of honeybees for pollination of soybeans. In: **Proceedings of the 4th International Symposium on Pollination: increasing production of agricultural crops through increased insect pollination**, 1979. 541 p.

Eficiência de fungicidas multissítios em mistura com fungicidas sítio-específicos no controle da ferrugem-asiática da soja

VIEIRA, L. F.¹; CASTELLAR, V. L.²; GODOY, C.V.³

¹Unifil, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, laaari_18@hotmail.com; ²Unifil; ³Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

O Brasil conta com alta produção no campo agrícola, tanto em qualidade, quanto em diversidade e quantidade de produtos. Em sua balança comercial, na exportação de commodities, conforme dados da Secretaria de Comércio Exterior – SECEX, a soja é o produto que mais tem se destacado, com crescimento significativo nos últimos anos. Na safra 2016/17, a área semeada com soja no Brasil foi de 35,1 milhões de ha, com produtividade estimada de 118.048,1 mil toneladas (Conab, 2018).

Nas últimas safras, a cultura da soja tem exigido um nível maior de conhecimento técnico e acompanhamento das lavouras. O sucesso no controle das doenças está ligado ao período da interferência realizada, seja ela por meio de medidas legislativas e tratos culturais que tendem a prevenir ou retardar a ocorrência de doenças para a safra seguinte ou por meio do controle químico de forma preventiva ou curativa. Para o controle químico é necessário o conhecimento do histórico da região e da lavoura, a realização do monitoramento da lavoura e o acompanhamento das condições climáticas da safra (Sediyama et al., 2015).

Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematoides já foram identificadas no Brasil. As perdas anuais por doenças são estimadas entre 15% a 20% (Tecnologias..., 2013). A utilização de fungicidas para o controle de doenças na cultura iniciou com o surto epidêmico de oídio (*Microspheera diffusa*), na safra 1996/97. Posteriormente, o aumento da incidência das doenças de final de ciclo (*Septoria glycines* e *Cercospora kikuchii*), principalmente em função do cultivo intensivo e da ausência de rotação de culturas, também demandaram o registro de fungicidas. Com o surgimento da ferrugem-asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), no Brasil, em 2001

novos produtos foram registrados. O uso de fungicidas foi intensificado por ser a única ferramenta que evita reduções de produtividade na presença da ferrugem. Entre outras doenças também controladas por fungicidas pode-se citar a mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*), a antracnose (*Colletotrichum truncatum*), o mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*) e a mela (*Rhizoctonia solani* AG1) (Tecnologias..., 2013).

Dentre os principais modos de ação utilizados no controle de doenças na cultura da soja destacam-se os metil benzimidazol carbamato (MBC), os inibidores da desmetilação (IDM), os inibidores de quinona externa (IQe) e os inibidores da succinato desidrogenase (ISDH). Apesar da grande contribuição que os fungicidas sítio-específicos proporcionam no controle de doenças, seu uso intensivo pode ter como consequência a seleção de isolados de fungos menos sensíveis ou resistentes.

Populações do fungo *C. cassiicola* resistentes a MBC e IQe têm sido relatadas (Xavier et al., 2013). Aumento da concentração efetiva para obter 50% de controle (CE50) foi relatado para isolados de *P. pachyrhizi* que apresentaram as mutações de ponto Y131F/H; K142R; F120L; I145F e I475T e superexpressão do gene *CYP51* (Schmitz et al., 2014), sendo associada a menor eficiência de fungicidas IDM observada no campo. Análises moleculares do citocromo b de populações de *P. pachyrhizi*, coletadas em 2013/14, mostraram a presença da mutação F129L que confere menor sensibilidade a fungicidas IQe (Klosowski et al., 2016). Na safra 2015/16, populações de *P. pachyrhizi* com a mutação I86F na subunidade *sdhC* foram relatadas pela primeira vez em monitoramento realizados no campo no Brasil (Simões et al., 2017).

Em razão do aumento de populações de fungos menos sensíveis a fungicidas sítio-específicos já observadas em lavouras comerciais de soja, a avaliação da eficiência de produtos com diferentes modos de ação e a associação a fungicidas multissítios é essencial para aumentar as opções de controle de doenças. Esse trabalho faz parte dos ensaios cooperativos para avaliação da combinação dos principais fungicidas multissítios (mancozebe, clortalonil e oxicloreto de cobre) em combinação à fungicidas sítio-específicos, no controle da ferrugem-asiática da soja.

Material e Métodos

A cultivar de soja 68I70RSF IPRO (Brasmax Ícone IPRO), tipo de crescimento indeterminado, grupo de maturação 6.6, ciclo médio, foi semeada em 30 de novembro de 2017, em Londrina, PR, na fazenda experimental da Embrapa Soja em área com sistema de plantio direto. As sementes foram tratadas com o fungicida/inseticida Standak® Top na dose de 100 ml p.c. por 100 kg semente⁻¹ (piraclostrobina + tiofanato metílico + fipronil). As primeiras aplicações dos tratamentos (Tabela 1) foram realizadas no fechamento do dossel da lavoura, aos 50 dias após a semeadura (R1/ R2) (Fehr; Caviness, 1977), na ausência de sintomas de ferrugem e repetidas em intervalos de 14 dias após a primeira aplicação (R3 e R5.3).

Para a aplicação dos produtos foi utilizado pulverizador costal pressurizado com CO₂, pontas de pulverização XR11002, pressão de 30 libras e volume de calda equivalente a 200 L ha⁻¹. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com 20 tratamentos (Tabela 1) e quatro repetições, sendo cada repetição constituída por parcelas com seis linhas de soja com cinco metros de comprimento, espaçadas em 0,5 m, considerando-se as quatro linhas centrais como área útil para a aplicação dos tratamentos e para as avaliações. Foram realizadas avaliações periódicas da severidade da ferrugem no ensaio a partir de R5.2 (Fehr; Caviness, 1977).

As avaliações foram realizadas estimando a severidade nos terços inferior, médio e superior do dossel das plantas, em quatro pontos ao acaso na área útil das parcelas, sendo a média utilizada como a média de severidade da parcela. Quando foi observada desfolha causada pela ferrugem, a severidade foi estimada em 100% para o terço desfolhado para compor a média. A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi estimada a partir da integral da curva de progresso da severidade. Ao final do ciclo, as duas linhas centrais das parcelas foram colhidas com a colhedora de parcelas Winterstaiger®, para estimativa da produtividade. A produtividade foi estimada em kg ha⁻¹, a 13% de umidade.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo teste estatístico de Scott-Knott, com o programa SASM-Agri (Canteri et al., 2001).

Tabela 1. Produto comercial (p.c.), ingrediente ativo (i.a.) e doses dos fungicidas utilizados isolados e em misturas no controle da ferrugem-asiática da soja, safra 2017/18.

TRATAMENTO COMERCIAL (ingrediente ativo)	Doses	
	g i.a. ha ⁻¹	L-kg p.c. ha ⁻¹
1. Testemunha		
2. S-2399T 260 SC ^{1,5} (S2399 + tebuconazol)	30+100	0,5
3. ATIVUM ² (piraclostrobina + epoxiconazol + fluxapiroxade)	65+40+40	0,8
4. CYPRESS ³ (ciproconazole + difenoconazole)	45+75	0,3
5. FOLICUR (tebuconazole)	100	0,5
6. UNIZEB GOLD ⁴ (mancozebe)	1125	1,5
7. PREVINIL (clorotalonil)	1080	1,5
8. DIFERE (oxicloreto de cobre)	294	0,5
9. S-2399T 260 SC ^{1,5} e UNIZEB GOLD	30+100 e 1125	0,5 + 1,5
10. S-2399T 260 SC ^{1,5} e PREVINIL	30+100 e 1080	0,5 + 1,5
11. S-2399T 260 SC ^{1,5} e DIFERE	30+100 e 294	0,5 + 0,5
12. ATIVUM ² e UNIZEB GOLD	65+40+40 e 1125	0,8 + 1,5
13. ATIVUM ² e PREVINIL	65+40+40 e 1080	0,8 + 1,5
14. ATIVUM ² e DIFERE	65+40+40 e 294	0,8 + 0,5
15. CYPRESS ³ e UNIZEB GOLD	45+75 e 1125	0,3 + 1,5
16. CYPRESS ³ e PREVINIL	45+75 e 1080	0,3 + 1,5
17. CYPRESS ³ e DIFERE	45+75 e 294	0,3 + 0,5
18. FOLICUR e UNIZEB GOLD ⁴	100 e 1125	0,5 + 1,5
19. FOLICUR e PREVINIL	100 e 1080	0,5 + 1,5
20. FOLICUR e DIFERE	100 e 294	0,5 + 0,5

¹Adicionado Nimbus 0,5% v/v; ² Adicionado Assist 0,5 l ha⁻¹ ; ³Adicionado Nimbus 0,6 l ha⁻¹; ⁴Adicionado Áureo 0,25%v/v; ⁵produto RET II.

Resultados e Discussão

Foi observado sintomas de mancha-alvo, principalmente nos tratamentos que melhor controlaram a ferrugem, já nos tratamentos que tiveram o menor controle da ferrugem, essa predominou sobre a mancha-alvo dificultando a

avaliação da eficiência dos fungicidas para a mancha-alvo nesse ensaio. De qualquer forma, a mancha-alvo só ocorreu nas folhas baixas das plantas. A ferrugem foi a doença que predominou na testemunha, sendo observados os primeiros sintomas na fase de formação de vagens (R3). Apesar das chuvas bem distribuídas a doença só evoluiu após R5. A severidade máxima da ferrugem foi de 99% em R6, aos 24 dias após a terceira aplicação (Tabela 2).

Todos os tratamentos apresentaram severidade menor do que a testemunha sem fungicida em todas as avaliações (Tabela 2). Em R5.4, a severidade na testemunha foi 28,8%. As menores severidades foram observadas para os fungicidas sítio-específicos S-2399T 260 SC (T2), Ativum (T3) e Cypress (T4) independente da adição do multissítios, com controle acima de 90%. Folicur isolado (T5) apresentou 51% de controle e em mistura com multissítios o controle aumentou para acima de 80%, sendo as misturas com Unizeb Gold (T18) e Previnil (T19) as mais eficientes nessa avaliação. Entre os multissítios isolados, a maior eficiência em R5.4 foi para o fungicida Previnil (83%), sendo Unizeb Gold semelhante a Dife nessa avaliação (dados não apresentados). A avaliação em R5.5 foi semelhante a R5.4, com os fungicidas sítio-específicos S-2399T 260 SC (T2), Ativum (T3) e Cypress (T4) apresentando alta eficiência de controle (maior que 88%), independente da adição do multissítio e Folicur (T5) com baixa eficiência de controle (43%) (Tabela 2). Em R6, com a evolução da ferrugem, somente S-2399T 260 SC (T2) e Ativum (T3) apresentaram as menores severidades, se diferenciando de Cypress (T4 - 54% de controle). A adição do multissítios não mostrou benefício para os fungicidas sítio-específicos com maior eficiência de controle. Para Cypress, o maior controle foi observado com a adição de Previnil (T16). Para Folicur, mesmo a adição dos multissítios não foi suficiente para elevar a porcentagem de controle, sendo o máximo observado com a adição de Previnil (T19 - 46%). Previnil isolado apresentou 33% de controle (T7). Na avaliação da AACPD foi observado um padrão semelhante à avaliação em R6, onde a adição do multissítios não mostrou benefício na redução da AACPD para os sítio-específicos com maior eficiência de controle - S-2399T 260 SC (T2) e Ativum (T3) (Tabela 2). Para Cypress, o maior controle foi observado com a adição de Previnil (T16 - 84%). Para Folicur, o maior controle foi observado com a adição de Previnil (T19 - 62%), sendo que Previnil (T7) isolado apresentou 52% de controle.

Tabela 2. Severidade da ferrugem (SEV%) e porcentagem de controle relativa a testemunha (%C) para os diferentes tratamentos em R5.5 e R6; área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), produtividade (PROD) e redução de produtividade (RP%) em relação ao melhor tratamento.

PRODUTO COMERCIAL	L-kg p.c. ha ⁻¹	SEV% R5.5 12DAA3	%C	SEV% R6 24DAA3	%C	AACPD	%C	PROD kg ha ⁻¹
1. TESTEMUNHA		40,8 a	0	99,0 a	0	1223 a	0	2890 d
2. S-2399T 260 SC ^{1,5}	0,5	2,2 g	95	19,3 f	81	155 g	87	4274 a
3. ATIVUM ²	0,8	4,8 g	88	28,0 f	72	235 g	81	3791 b
4. CYPRESS ³	0,3	4,0 g	90	45,8 e	54	350 f	71	3644 c
5. FOLICUR	0,5	23,4 b	43	82,5 b	17	845 b	31	3143 d
6. UNIZEB GOLD ⁴	1,5	15,8 d	61	58,5 d	41	579 d	53	3278 d
7. PREVINIL	1,5	13,8 d	66	66,0 c	33	589 d	52	3212 d
8. DIFERE	0,5	18,6 c	55	77,5 b	22	734 c	40	3364 d
9. S-2399T 260 SC ^{1,5} e UNIZEB GOLD	0,5 + 1,5	1,7 g	96	23,3 f	77	176 g	86	4395 a
10. S-2399T 260 SC ^{1,5} e PREVINIL	0,5 + 1,5	1,6 g	96	15,5 f	84	123 g	90	4268 a
11. S-2399T 260 SC ^{1,5} e DIFERE	0,5 + 0,5	1,4 g	97	15,5 f	84	121 g	90	4623 a
12. ATIVUM ² e UNIZEB GOLD	0,8 + 1,5	2,9 g	93	25,0 f	75	195 g	84	4152 a
13. ATIVUM ² e PREVINIL	0,8 + 1,5	3,2 g	92	22,8 f	77	186 g	85	4136 a
14. ATIVUM ² e DIFERE	0,8 + 0,5	2,8 g	93	25,0 f	75	197 g	84	4179 a
15. CYPRESS ³ e UNIZEB GOLD	0,3 + 1,5	3,0 g	93	38,0 e	62	286 f	77	4046 b
16. CYPRESS ³ e PREVINIL	0,3 + 1,5	3,3 g	92	23,3 f	77	195 g	84	3812 b
17. CYPRESS ³ e DIFERE	0,3 + 0,5	6,5 f	84	50,8 d	49	400 e	67	3917 b
18. FOLICUR e UNIZEB GOLD ⁴	0,5 + 1,5	10,0 e	76	66,8 c	33	551 d	55	3641 c
19. FOLICUR e PREVINIL	0,5 + 1,5	9,4 e	77	53,3 d	46	461 e	62	3928 b
20. FOLICUR e DIFERE	0,5 + 0,5	14,4 d	65	69,5 c	30	618 d	49	3643 c
C.V.		22,9%		16,9%		12,8%		8%

¹Adicionado Nimbus 0,5% v/v; ²Adicionado Assist 0,5 L ha⁻¹; ³Adicionado Nimbus 0,6 L ha⁻¹; ⁴Adicionado Áureo 0,25%v/v; ⁵produto RET II. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p≤0,05).

Conclusão

Ao analisar a combinação aos fungicidas sítio-específicos, com três aplicações, na avaliação da AACPD, a adição dos multissítios não reduziu a AACPD para os fungicidas sítio-específicos com maior eficiência de controle (S-2399T 260 SC e Ativum). Para Cypress e Folicur, os maiores controles foram observados com a adição de Previnil, sendo que Cypress apresentou controle superior a Folicur.

Para a variável produtividade, os maiores valores foram observados para os fungicidas S-2399T 260 SC, isolado ou em mistura com multissítios e para o fungicida Ativum em mistura com multissítios. Para Cypress, todas as misturas com multissítios mostraram maior produtividade. Para Folicur a maior produtividade foi observada com a adição de Previnil. Folicur isolado e os multissítios isolados apresentaram produtividade semelhante à testemunha sem tratamento.

Referências

- 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 Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, p. 18-24, 2001.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, v. 5, safra 2017/18, n. 9, nono levantamento., jun.2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/20861_fb79e3ca2b3184543c580cd4a4a402b>. Acesso em: 27 jun. 2018.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stage of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1981. 12 p. (Iowa Cooperative Extensive Service. Special Report, 80).
- KLOSOWSKI, A. C.; MAY DE MIO, L. L.; MIESSNER, S.; RODRIGUES, R.; STAMMLER, G. Detection of the F129L mutation in the cytochrome b gene in *Phakopsora pachyrhizi*. **Pest Management Science**, v. 72, p. 1211-1215, 2016.
- 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, p. 378-388, 2014.
- SEDIYAMA, T.; SILVA, F.; BORÉM, A. **Soja: do plantio a colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2015, 333 p.
- SIMÕES, K.; HAWLIK, A.; REHFUS, A.; GAVA, F.; STAMMLER, G. First detection of a SDH variant with reduced SDHI sensitivity in *Phakopsora pachyrhizi*. **Journal Plant Disease Protection**, v.125, p. 1-6, 2017.

TECNOLOGIAS de produção de soja – Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 268 p.

XAVIER, S. A.; CANTERI, M. G.; BARROS, D. C. M.; GODOY, C. V. Sensitivity of *Corynespora cassiicola* from soybean to carbendazim and prothioconazole. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, p. 431-435, 2013.

Teores de ácido oleico e linoleico de aquênios de girassol cultivados na Região Nordeste

MAZZOLA, L. F.¹; CARVALHO, C. G. P. de²; MANDARINO, J. M. G.²; CARVALHO, L. M. de³; CARVALHO, H. W. L. de³; SILVA, M. R. da⁴; DRUMOND, M. A.⁵; LEITE, R.S.²
¹Universidade Norte do Paraná - UNOPAR, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, luuaninhaa_fernanda@hotmail.com; ²Embrapa Soja; ³Embrapa Tabuleiros Costeiros; ⁴Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ⁵Embrapa Semiárido

Introdução

O déficit hídrico é a principal restrição à produção agrícola no Nordeste brasileiro (Lacerda et al., 2015). Alternativas de cultivo são fundamentais para o desenvolvimento econômico dessa região. O girassol (*Helianthus annuus* L.) pode ser uma boa alternativa, pois apresenta maior tolerância à seca quando comparado com o milho, cultura economicamente relevante para a região (Carvalho et al., 2016). Quanto ao aspecto econômico, pode-se extrair, de seus aquênios, óleo de ótima qualidade, destinado, principalmente, ao consumo humano na forma de óleo refinado.

A qualidade de um óleo está associada ao seu perfil de ácidos graxos. Os ácidos graxos linoleico e oleico constituem, aproximadamente, 90% do total de ácidos graxos presentes no óleo dos aquênios de girassol (Van der Merwe et al., 2013). O consumo de óleos vegetais com altos teores dos ácidos linoleico e oleico pode auxiliar na redução das lipoproteínas de baixa densidade (LDL colesterol), com a conseqüente redução dos riscos das doenças cardiovasculares (Farvid et al., 2014). O ácido oleico confere, também, maior grau de estabilidade oxidativa aos óleos utilizados em frituras (Miller et al., 1987; Perdomo et al., 2015).

No Brasil, os tipos mais comuns de óleo de girassol refinado disponíveis no mercado são aqueles com teor de ácido oleico não alterado (girassol tradicional, com maior teor de ácido linoleico) e os óleos com alto teor de ácido oleico (girassol alto oleico). Os teores dos ácidos linoleico e oleico são influenciados pelo genótipo e, principalmente, pela temperatura mínima durante a formação do óleo no aquênio (Harris et al., 1978; Lajara et al., 1990; Grunvald et al., 2013; Regitano Neto et al., 2016; Carvalho et al., 2018). Em genótipos tradicionais semeados em regiões mais quentes, há a tendência em favorecer

a formação de óleo com maior teor de ácido oleico, em detrimento do ácido linoleico. Por outro lado, a relação entre os ácidos linoleico e oleico em genótipos alto oleicos é pouco ou menos influenciada pelas condições ambientais (Salera; Baldini, 1998; Flagella et al., 2002).

Apesar da relevância, há poucas pesquisas analisando o perfil de ácidos graxos dos óleos de girassol produzidos a partir de aquênios de plantas cultivadas no Nordeste do Brasil (Grunvald et al., 2013), de modo a otimizar seu uso pelas indústrias processadoras e pelas indústrias de alimento. Nesse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade do óleo extraído de aquênios de girassol cultivados na Região Nordeste do Brasil.

Material e Métodos

Foram avaliados os teores dos ácidos oleico e linoleico do óleo extraído de aquênios de híbridos de girassol, convencional e alto oleico, produzidos em ensaios conduzidos em Araripina (PE), Cruz das Almas (BA) e Umbaúba (SE). As coordenadas geográficas e as temperaturas mínimas (média das mínimas diárias) dos locais durante a fase de maturação dos aquênios estão descritas na Tabela 1.

Os ensaios foram realizados em delineamento experimental de blocos completamente casualizados, com quatro repetições. Cada parcela (repetição) foi constituída por quatro linhas de 6 m, com espaçamento de 0,8 m. As duas linhas externas de cada parcela (bordaduras) foram descartadas, assim como 0,5 m de cada extremidade das duas linhas centrais, o que delimitou uma área útil de 8 m². Todos os tratamentos culturais recomendados foram realizados para possibilitar o melhor desenvolvimento das plantas, conforme Leite et al. (2005).

Os híbridos avaliados foram BRS G43, BRS G44, BRS G45, BRS G46, HLA 2013, HLA 2014, HLA 2015, HLA 2016, HLA 2017, M734, NTC 90, SYN 045 e SYN 065. Todos os híbridos são tradicionais (teor de ácido oleico não alterado), exceto HLA 2013, que é alto oleico (teor de ácido oleico acima de 75%).

Os teores dos ácidos oleico e linoleico foram determinados por cromatografia gasosa (Firestone, 2013). Para a extração dos ácidos graxos, as amostras de aquênios foram trituradas em micro moinho. Duzentos mg de amostra moída

foram transferidos para tubos de plástico de fundo cônico e tampa rosqueável do tipo “Falcon” de 50 mL de capacidade. Em seguida, foram adicionados 5,0 mL de solução de metóxido de sódio (NaCH_3OH) a 1% recém-preparada. Os tubos foram homogeneizados em agitador de tubos do tipo “Vortex” e deixados em repouso por uma hora à temperatura ambiente, para que a reação de esterificação ocorresse. Durante esse período de uma hora, os tubos foram agitados a cada intervalo de 15 minutos em agitador de tubos. Em seguida, foi adicionado 1,0 mL de solução aquosa a 10% de ácido acético glacial, para acidificar o meio e, conseqüentemente, tornar os ésteres dos ácidos graxos solúveis em heptano e os tubos foram homogeneizados em agitador de tubos. 5,0 mL de heptano grau HPLC foram adicionados para extrair os ésteres dos ácidos graxos e os tubos foram novamente homogeneizados. Transferiu-se 2,0 mL da camada de heptano para recipientes (vials) próprios para injeção no cromatógrafo gasoso.

As análises para determinação do perfil e quantificação dos ácidos graxos foram realizadas em cromatógrafo a gás da marca Hewlett-Packard, modelo 6890, equipado com injetor automático de amostras. Foram feitas duas injeções de 1,0 μL de cada amostra, com taxas de split variando 5:1 a 40:1, dependendo da concentração da amostra. A temperatura do injetor foi ajustada em 250°C e a temperatura do detector de ionização de chama (FID), em 300°C. Para a separação dos ácidos graxos foi utilizada uma coluna capilar de sílica com 30 metros de comprimento, 0,3 mm de diâmetro interno e filme com 0,2 μm de espessura, da marca Supelco, modelo SP 2340. A temperatura da coluna foi ajustada em 190°C e a separação ocorreu de forma isotérmica. O perfil e o teor dos ácidos graxos foi determinado por padronização externa usando para tal padrões de ácidos graxos na forma de metil ésteres, da marca Sigma.

Para cada ácido graxo foram calculados a média, o desvio padrão, o valor máximo e o valor mínimo dos híbridos.

Resultados e Discussão

A temperatura em Araripina (21,0°C) foi ligeiramente superior à ocorrida em Cruz das Almas (19,9°C) e em Umbaúba (19,7°C), ocasionando um teor médio de ácido oleico (48,0%) ligeiramente superior às demais localidades

(45,6% em Cruz das Almas e 44,9% em Umbaúba) (Tabelas 1 e 2). O inverso ocorreu com o ácido linoleico.

Tabela 1. Coordenadas geográficas e temperatura mínima dos locais onde os ensaios foram conduzidos em 2013 na Região Nordeste do Brasil.

Estado	Cidade	Coordenadas Geográficas		Temperatura Mínima do ar (°C) ^{1/}
		Latitude	Longitude	
Pernambuco	Araripina	07° 34' 34" S	40° 29' 54" W	21,0
Bahia	Cruz das Almas	12° 40' 12" S	39° 06' 07" W	19,9
Sergipe	Umbaúba	11° 23' 00" S	37° 39' 28" W	19,7

^{1/} Média da temperatura mínima observada no período de maturação dos aquênios de girassol.

Tabela 2. Teor médio, desvio padrão e teores mínimo e máximo de ácido graxos do óleo de aquênios de girassol tradicional produzidos na região Nordeste do Brasil.

Ácido graxo		Local		
		Araripina (PE)	Cruz das Almas (BA)	Umbaúba (SE)
Ácido Oleico (%)	Média	48,0 ± 7,6	45,6 ± 7,0	44,9 ± 8,1
	Valor mínimo	35,9	34,0	29,7
	Valor máximo	65,0	60,0	60,3
Ácido Linoleico (%)	Média	43,5 ± 7,1	46,0 ± 6,7	47,1 ± 7,7
	Valor mínimo	27,7	32,1	32,0
	Valor máximo	55,2	56,7	60,8

Houve grande variação entre os teores do ácido oleico e entre os teores do ácido linoleico do óleo de aquênios de híbridos tradicionais de girassol obtidos nas diferentes localidades do Nordeste. O teor médio do ácido oleico variou entre 29,7% e 65,0% e o teor médio do ácido linoleico, entre 27,7% e 60,8% (Tabela 2).

De acordo com a norma CODEX STAN 210-1999, o óleo do girassol tradicional apresenta teor de ácido oleico (C18:1) entre 14,0 e 39,4% e de ácido linoleico (C18:2) entre 48,3 e 74,0% (CODEX, 2018). Com base nesse intervalo, 12 dos 13 híbridos avaliados em Araripina (Pernambuco) apresentaram teores de ácido oleico superior a 39,4%. O mesmo ocorreu em Cruz das Almas, BA (10 híbridos) e Umbaúba, SE (9 híbridos). Assim, o óleo de girassol pro-

duzido nessas localidades tendeu a apresentar teor de ácido oleico superior ao limite máximo estabelecido pelo CODEX. Isto confere a esse óleo maior estabilidade, quando utilizado em frituras (Miller et al., 1987; Perdomo et al., 2015). Contudo, a não adequação do CODEX para as condições da Região Nordeste do Brasil pode dificultar a comercialização do óleo de girassol tradicional obtido nessa região, mesmo que seja autêntico, já que está fora da especificação. Esse teor de ácido oleico maior do que aquele estabelecido pelo CODEX ocorre por razões climáticas, como temperaturas mais elevadas durante a formação do óleo nos aquênios de plantas de girassol cultivadas na Região Nordeste do Brasil.

O híbrido alto oleico HLA 2013 apresentou teores de ácido oleico entre 83,5% (Umbaúba, SE) e 87,4% (Cruz das Almas, BA) e teores de ácido linoleico entre 7,0% (Cruz das Almas, BA) e 11,2% (Umbaúba, SE). Estes valores estão dentro do intervalo estabelecido pelo CODEX STAN 210-1999 para o girassol alto oleico, que é de 75,0 a 90,7% para o ácido oleico e de 2,1 e 17% para o ácido linoleico (CODEX, 2018).

Conclusão

O óleo de girassol produzido na Região Nordeste do Brasil tende a apresentar teor de ácido oleico superior ao limite máximo estabelecido pelo CODEX STAN 210-1999.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo ao primeiro autor do trabalho.

Referências

CARVALHO, C. G. P. de; SILVA, M. F. da; MANDARINO, J. M. G.; GRUNVALD, A. K.; RAMOS, N. P.; RIBEIRO, J. L.; GODINHO, V. de P. C. Fatty acid profiles in sunflower grains during storage in different environments. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 95, p. 61-67, 2018.

CARVALHO, H. W. L. de; CARVALHO, L. M. de; CARVALHO, C. G. P.; MARQUES, M.G.; PORTO, E. S. **Avaliação do comportamento de genótipos de girassol em Sergipe no**

ano agrícola 2013. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. 2016. 25 p. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 110).

CODEX Alimentarius: standard for named vegetable oils (CODEX STAN 210-1999). [Rome]: FAO: WHO, [2015?]. Amendment 2015. Disponível em: <http://www.fao.org/input/download/standards/336/CXS_210e_2015.pdf>. Acesso em 2 mai. 2018.

FARVID, M. S.; DING, M.; PAN, A.; SUN, Q.; CHIUVE, S. E.; STEFFEN, L. M.; WILLETT, W. C.; HU, F. B. Dietary linoleic acid and risk of coronary heart disease: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. **Circulation**, v. 130, p. 1568-78, 2014.

FIRESTONE, D. **Official methods and recommended practices of the AOCS.** 6th ed. Urbana: AOCS International, 2013.

FLAGELLA, Z.; ROTUNNO, T.; TARANTINO, E.; CATERINA, R. D.; CARO, A. D. Changes in seed yield and oil fatty acid composition of high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids in relation to the sowing date and the water regime. **European Journal of Agronomy**, v. 17, p. 221-230, 2002.

GRUNVALD, A. K.; CARVALHO, C. G. P. de; LEITE, R. S.; MANDARINO, J. M. G.; ANDRADE, C. A. B.; AMABILE, R. F.; GODINHO, V. P. C. Influence of temperature on the fatty acid composition of the oil from sunflower genotypes grown in tropical regions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 90, p. 545-553, 2013.

HARRIS, H. C.; McWILLIAM, J. R.; MASON, W. K. Influence of temperature on oil content and composition of sunflower seed. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 29, p. 1203-1212, 1978.

LACERDA, F. F.; NOBRE, P.; SOBRAL, M. C.; LOPES, G. M. B.; CHOU, S. C.; ASSAD, E. D.; BRITO, E. Long-term temperature and rainfall trends over northeast Brazil and Cape Verde. **Journal of Earth Science and Climatic Change**, v. 6, p. 2-8, 2015.

LAJARA, J.; DÍAZ, U.; QUIDIELLO, R. D. Definite influence of location and climatic conditions on the fatty acid composition of sunflower seed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 67, p. 618-623, 1990.

LEITE, R. M. V. B. C.; BRIGHENTI, A. M.; CASTRO, C. de. **Girassol no Brasil.** Londrina: Embrapa Soja, 2005. 613p.

MILLER, J. F.; ZIMMERMAN, D. C.; VICK, B. A. Genetic control of high oleic acid content in sunflower oil. **Crop Science**, v. 27, p. 923-926, 1987.

PERDOMO, L.; OTERO, N. B. Y. F.; ESCRIBANO, Ó.; DÍAZ-CASTROVERDE, S.; GÓMEZ-HERNÁNDEZ, A.; BENITO, M. Protective role of oleic acid against cardiovascular insulin

resistance and in the early and late cellular atherosclerotic process. **Cardiovascular Diabetology**, v. 14, p. 75, 2015.

REGITANO NETO, A.; MIGUEL, A. M. R. de O.; MOURAD, A. L.; HENRIQUES, E. A.; ALVES, R. M. V. Environmental effect on sunflower oil quality. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 16, p. 197-204, 2016.

SALERA, E.; BALDINI, M. Performance of high and low oleic acid hybrids of sunflower under different environmental conditions. **Helia**, v. 21, p. 55-68, 1998.

VAN der MERWE, R.; LABUSCHAGNE, M. T.; HERSELMAN, L.; HUGO, A. Stability of seed oil quality traits in high and mid-oleic acid sunflower hybrids. **Euphytica**, v. 93, p. 157-168, 2013.

Validação do sistema de análise de imagens Vigor-S para a determinação de fitotoxicidades em plântulas de soja

LEITE, C. A. M.¹; FRANÇA-NETO, J. B.²; KRZYZANOWSKI, F. C.²; GOMES JUNIOR, F. G.³

¹Unifil, Londrina, PR, ca.moreir@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja; ³Professor, USP/ESALQ.

Introdução

Os possíveis efeitos fitotóxicos do tratamento de sementes de soja interferem no desempenho da mesmas, reduzindo a germinação e a emergência de plântulas. Essas fitotoxicidades podem causar engrossamento, encurtamento, fissuras longitudinais e rigidez de hipocótilo, atrofia do sistema radicular, curvatura da raiz principal, ausência ou pouco desenvolvimento de raízes secundárias, retardamento no desenvolvimento e crescimento da parte aérea, podendo reduzir o estabelecimento de estande e a produtividade da cultura (França-Neto et al., 2000).

Dentre os herbicidas utilizados em pré-colheita, o glifosato é tido como um agente extremamente fitotóxico, podendo resultar em sérios problemas de anormalidade das plântulas de soja, mediante o encurtamento do seu sistema radicular e abortamento de raízes secundárias (Daltro et al., 2010; Toledo et al., 2014).

Dentre os fungicidas, os triazóis são tidos como passíveis de serem fitotóxicos às plântulas de soja, quando utilizados no tratamento das sementes. Um exemplo marcante disso foi observado com a contaminação do fungicida Rhodiauram (thiram) pelo bromuconazole (França-Neto et al., 2000). Um dos testes que pode ser utilizado para detecção dos possíveis sintomas de fitotoxicidade em plântulas é o teste de comprimento de plântulas, conforme metodologia relatada por Nakagawa (1999). Este teste mostra valores em unidades de medida de hipocótilo e raízes com possíveis encurtamentos e atrofias, permitindo a comparação de plântulas com fitotoxicidade e plântulas normais (França-Neto et al., 2000).

Vários testes têm sido utilizados há vários anos para a determinação do vigor em sementes, como por exemplo, o teste de tetrazólio (França-Neto et al., 1998), envelhecimento acelerado, teste de condutividade elétrica (Krzyzanowski et al., 1999). Embora os testes já utilizados apresentem resultados confiáveis e já estejam estabelecidos, universidades e órgãos públicos e privados de pesquisas estão preocupados em buscar novas informações e tecnologias como indicativos de vigor, que sejam úteis no controle interno de qualidade de empresas.

Alguns desses testes de vigor estão sendo aprimorados, utilizando as facilidades e precisão propiciadas pela análise computadorizada de imagens. Dentre eles, destaca-se o Sistema de Análise Computadorizada de Imagens de Plântulas (SVIS®), desenvolvido pela Universidade Estadual de Ohio/EUA, que fornece dados referentes ao índice de vigor, à uniformidade de desenvolvimento e ao crescimento de plântulas (Marcos-Filho et al., 2006). Esse teste foi recentemente aperfeiçoado para a determinação do vigor em plântulas de soja (Marcos-Filho et al., 2009).

Recentemente, Silva e Gomes Júnior (2014) relataram um novo software para a avaliação automatizada do vigor de sementes de soja, chamado de "Vigor-S". O sistema foi desenvolvido em conjunto pela Embrapa Instrumentação, localizada em São Carlos, SP, e pela Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (USP/ESALQ), em Piracicaba, SP. Esse software permite a determinação do índice de vigor e do comprimento de plântulas de soja com grande rapidez e precisão. Além disso, os sistemas que utilizam análise de imagens computadorizadas têm a vantagem de eliminar possíveis erros cometidos por humanos, dando confiabilidade e possibilitando a imagem de ser salva e ser comparada a outras imagens posteriormente (Gomes Junior; Chamma, 2008).

Levando-se em consideração esses aspectos, o objetivo do presente trabalho foi validar o sistema Vigor-S, visando à determinação de possíveis efeitos fitotóxicos às plântulas de soja, provenientes do tratamento de sementes com diferentes princípios ativos.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Fisiologia de Sementes do Núcleo Tecnológico de Sementes e Grãos Nilton Pereira da Costa, da Embrapa Soja, em Londrina, PR, no período de dezembro de 2017 a abril de 2018. Foram utilizadas sementes de soja da cultivar BRS 284, com germinação superior a 90%.

Três tratamentos de sementes foram avaliados, visando impor possíveis efeitos fitotóxicos: fungicida Ciproconazol, do grupo dos triazóis; herbicida Glifosato; e testemunha não tratada. As sementes foram tratadas com o fungicida Ciproconazol na dose de 100 g.L⁻¹ de sementes. Para o tratamento com o Glifosato, as sementes foram inicialmente dispostas em rolos de papel de germinação umedecido com uma solução do herbicida (Glifosato 720 g.Kg⁻¹), na concentração de 0,6% em água do Equivalente Ácido (EA), num volume equivalente a 2,5 vezes a massa do substrato seco (papel de germinação). Cinquenta sementes de soja foram semeadas por rolo de germinação, que foram deixados em germinador em condições de ausência de luz, durante um período de embebição de 16 h. Após esse período, as sementes pré-embebidas na solução de Glifosato foram transferidas para outros rolos de germinação, conforme metodologia descrita a seguir.

Uma vez que as sementes a serem utilizadas apresentaram grau de umidade de 9,0%, determinado por meio do determinador digital (Agrosystem-GAC® 2100), visando prevenir quanto à possível ocorrência de danos de embebição às sementes, foi realizado o pré-condicionamento das mesmas antes da implementação dos testes de pré-embebição em Glifosato e os de germinação e de comprimento de plântula. Conforme prescrições contidas na Instrução Adicional nº 70 das Regras para Análise de Sementes (Regras, 2009). Para isto, as sementes foram colocadas sobre telas de alumínio e fixadas no interior de caixas plásticas do tipo “gerbox” (do tipo utilizado no teste de envelhecimento acelerado, medindo 11 x 11 x 3,5 cm), contendo 40 mL de água destilada, mantidas em germinador pelo período de 24 h à temperatura de 25 °C. Após esse período, o grau de umidade das sementes chegou a cerca de 20%, sendo, então, as sementes semeadas em rolo-de-papel de germinação, para a realização dos seguintes testes de avaliação de qualidade.

Comprimento de plântulas: conduzido com cinco subamostras (rolos de papel) com vinte sementes cada, distribuídas em duas linhas intercaladas com dez sementes, com a micrópila direcionada para a parte inferior do papel, em rolos de papel-toalha, umedecidos com 2,5 vezes a massa do substrato seco, sendo duas folhas em baixo e uma em cima para cobrir a semente. Posteriormente, foram montados os rolos, agrupados cinco rolos com atilhos de borracha e envolvidos com sacos plásticos para manter os rolos umedecidos e colocados em pé dentro do germinador em condições de ausência de luz, durante cinco dias a 25 °C para a produção das plântulas.

Comprimento de plântulas pelo Vigor-S: as plântulas foram obtidas conforme metodologia descrita acima, após um período de germinação de três dias, no escuro, a 25 °C. Em seguida, as plântulas foram transferidas dos rolos de papel de germinação para uma folha de papel de coloração azul com as dimensões de 30 x 22 cm, que correspondente ao tamanho da área útil atingida pelo scanner invertido, colocado sobre a plataforma interna da caixa metálica. Um grupo de 20 plântulas foi escaneado por foto obtida. As imagens escaneadas foram salvas em uma pasta específica do disco rígido do computador. Posteriormente, as imagens capturadas pelo escâner foram operadas pelo software Vigor-S, instalado em computador da marca DELL, core i5, CPU de 2,30 GHz, Windows 7. Após o software analisar a imagem, o hipocótilo das plantas foi marcado em azul e as raízes em vermelho, sendo as plântulas anormais identificadas e anotadas como tal pelo sistema e as sementes mortas da mesma maneira. Em algumas plântulas, houve a necessidade da realização de correção das marcações, efetuada com o auxílio do mouse e do teclado. Findo esse processo e obtendo-se todas as plântulas marcadas corretamente, o sistema gerou valores de índices de vigor e de uniformidade das plântulas, variando de 0 a 1000, o tamanho do hipocótilo, da raiz e o comprimento total da plântula, relatados em cm. Após a análise no sistema, os valores gerados foram transferidos automaticamente para uma planilha de Excel. O tempo entre escanear as plântulas e a análise no software foi inferior a 5 minutos.

Procedimento estatístico: o delineamento experimental constou de três tratamentos impostos às sementes (testemunha não tratada, Ciproconazol e Glifosato), dispostos em blocos ao acaso, com seis repetições por tratamento, resultando num total de 18 unidades experimentais. Foram feitas análises

de variância, com a comparação de médias feita pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade. Foram também realizadas Análises de Regressão dos dados obtidos pelo teste tradicional de comprimento de plântula, com os valores obtidos pelo Vigor-S, para a confirmação da confiabilidade do sistema de imagens.

Resultados e Discussão

De acordo com os dados de análise laboratorial no método tradicional (Tabela 1), observa-se pelos testes realizados de comprimento de plântulas (CP), comprimento de hipocótilo (CH) e comprimento de raiz (CR), que o tratamento testemunha apresentou-se com as maiores médias. Isso indica que quando as sementes são expostas a resíduos de pesticidas, como por exemplo, fungicidas triazois, que podem causar danos mais acentuados nos hipocótilos, com sintomas de engrossamento e encurtamento, e herbicida (Glifosato), que pode causar danos mais acentuados nas raízes, como atrofia da raiz principal e ausência de raízes secundárias, os respectivos valores de comprimento de plântulas são afetados negativamente.

Resultados similares foram relatados por França-Neto et al. (2000), em que compararam plântulas das cultivares BRS 133 e COODETEC 202, com a ocorrência de fitotoxicidade em decorrência de tratamento de sementes com o fungicida Rhoadiauran contaminado com o bromuconazole, do grupo dos triazois. Nessa situação, as plântulas apresentaram-se sensíveis ao fungicida, apresentando comprimento de plântulas menores, tendo os seus hipocótilos engrossados e muitas vezes com uma fissura longitudinal.

Tabela 1. Resultados do teste de comprimento de plantulas (CP), comprimento de hipocótilo (CH) e comprimento de raiz (CR), determinados pelo método tradicional, avaliado aos cinco dias após a montagem dos testes.

Tratamento	CP	CH	CR
	----- cm -----		
Fungicida	9,66 b ¹	1,78 c	7,87 b
Herbicida	4,82 c	3,22 b	1,61 c
Testemunha	28,37 a	8,74 a	19,62 a
CV	8,62%	11,20%	8,47%

¹Valores seguidos pela mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Os resultados obtidos por meio da leitura do software Vigor-S (Tabela 2), apresentaram as mesmas tendências dos obtidos pelo método tradicional, ou seja, os tratamentos impostos com fungicida e herbicida tiveram valores de CP menores que o tratamento com as sementes não tratadas (tratamento testemunha), repetindo os mesmos efeitos para os valores de CH, com hipocótilos encurtados e engrossados, e CR que também se encontrava encurtada e com ausência de raiz secundária. Os resultados obtidos confirmam a teoria encontrada na literatura, de que quando há presença de molécula de pesticidas, estes se concentram nas zonas meristemáticas das plântulas, inibindo a formação de aminoácidos essenciais, os quais estão envolvidos na síntese de proteínas, responsáveis pelo processo de crescimento de plântula (Zablotowicz; Reddy, 2004). Dessa maneira, uma vez que as zonas meristemáticas são comprometidas, a fisiologia da plântula é afetada, acarretando em baixa taxa de germinação e lento crescimento de plântulas.

Tabela 2. Resultados do teste de comprimento de plantulas (CP), comprimento de hipocótilo (CH) e comprimento de raiz (CR), determinados pelo software Vigor-S, avaliados com três dias após a montagem do teste.

Tratamentos	CP	CH	CR
	cm		
Fungicida	3,62 b ¹	1,39 c	2,21 b
Herbicida	3,16 b	2,08 b	1,14 c
Testemunha	7,58 a	2,45 a	5,12 a
CV	8,94%	11,13%	10,00%

¹ Valores seguidos pela mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Comparando os dois métodos utilizados nas avaliações por meio de análises de regressões (Figura 1), verificou-se que o método do software Vigor-S é confiável, pois os resultados obtidos em comparação com o método tradicional apresentaram regressões com coeficientes de determinação elevados (CP = 0,963; CH = 0,644; e CR = 0,967), o que indica que o método do Vigor-S é viável e pode ser utilizado para este fim, evitando erros humanos, além de diminuir o tempo de obtenção dos resultados.

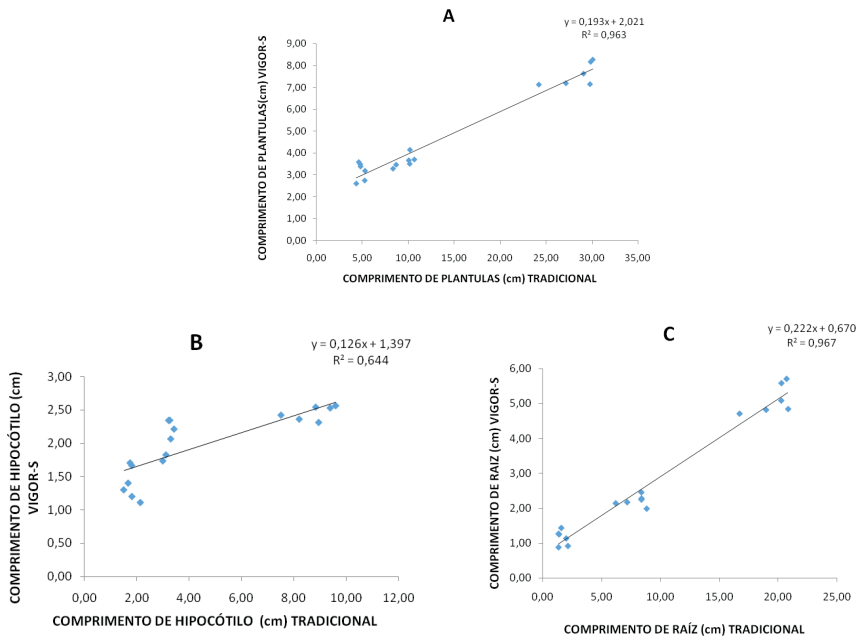


Figura 1. Análises de regressão dos dados, comparando os valores de A (comprimento de plântula), B (comprimento de hipocótilo) e C (comprimento de raiz) entre o método tradicional de determinação do comprimento de plântula e o software Vigor-S.

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, conclui-se que: o software Vigor-S é eficaz na detecção de possíveis efeitos fitotóxicos em plântulas de soja, causados pelo tratamento das sementes com o fungicida Ciproconazol e com o herbicida Glifosato, conforme comparado com o método tradicional, com medição manual; as determinações realizadas pelo sistema Vigor-S são mais precisas, confiáveis e requerem menor tempo de trabalho para a sua obtenção.

Referências

DALTRO, E. M. F.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; FRANÇA-NETO, J. B.; GUIMARÃES, S. C.; GAZZIERO, D. L. P.; HENNING, A. A. Aplicação de dessecantes em pré-colheita: efeito na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, n. 1, p. 111-122, 2010.

FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A.; YORINORI, J. T. **Caracterização dos problemas de fitotoxicidade de plântulas de soja devido ao tratamento de sementes com fungicida Rhodiauram 500 SC, na safra 2000/01**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 2000. 24 p. (EMBRAPA-CNPSo. Comunicado Técnico, 27).

FRANÇA-NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA N. P. **O teste de tetrazólio em sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 72 p. (Embrapa Soja. Documentos, 116).

GOMES JUNIOR, F. G.; CHAMMA, H. M. C. P. Eficiência de um sistema computadorizado de processamento de imagens para avaliação do vigor de sementes de feijão. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 2008, Campinas. **Anais...** Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, p. 685-688, 2008.

KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. 218 p.

MARCOS-FILHO, J.; BENNETT, M. A.; MCDONALD, M. B.; EVANS, A. F.; GRASSBAUGH, E. M. Assessment of melon seed vigour by an automated computer imaging system compared to traditional procedures. **Seed Science and Technology**, v. 34, n. 2, p. 485-497, 2006.

MARCOS-FILHO, J.; KIKUTI, A. L. P.; LIMA, L. B. Métodos para avaliação do vigor de sementes de soja, incluindo a análise computadorizada de imagens. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 31, n. 1, p. 102-112, 2009.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. de B. (Ed.). **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p. 2.1-19.

REGRAS para análise de sementes. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2009. 395p.

SILVA, G. G.; GOMES JUNIOR, F. G. Avaliação automatizada do vigor de sementes de soja utilizando o software Vigor-S. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UNIVERSIDADE SÃO PAULO, 2014. **Resumos...** São Paulo: USP, 2014. p.1-4.

TOLEDO, M. Z.; ISHIZUKA, M. S.; CAVARIANI, C.; FRANÇA-NETO, J. B.; PICOLI, L. B. Pre-harvest desiccation with glyphosate and quality of stored soybean seeds. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.2, p.765-774.

ZABLOTOWICZ, R. M.; REDDY, K. N. Impact of glyphosate and *Bradyrhizobium japonicum* symbiosis; with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. **Journal of Environmental Quality**, v. 33, p. 825-831, 2004.

Sensibilidade de isolados de *Metarhizium rileyi* a fungicidas utilizados para o controle de ferrugem-asiática na soja

GONÇALVES, A.C.S.¹; SOSA-GÓMEZ, D.R.²

¹UNOPAR, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, andrea.agro1@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja

Introdução

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é afetada severamente pelo fungo fitopatogênico causador da ferrugem-asiática (*Phakopsora pachyrhizi*), sendo uma das estratégias de manejo dessa doença a utilização de fungicidas. Os primeiros relatos de danos mais significativos na produtividade da soja decorrentes da incidência da ferrugem-asiática no Brasil ocorreram no ano agrícola de 2003/04. O uso frequente de fungicidas tem selecionado isolados de *P. pachyrhizi* menos sensíveis a diversos fungicidas (Godoy et al., 2016).

No Brasil, dentre as principais pragas desta cultura, destacam-se a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Chrysodeixis includens* (Walker) (Moscardi et al. 2012). Ambas as espécies são afetadas por fungos entomopatogênicos. O fungo *Metarhizium rileyi* ocupa um papel de destaque como agente de controle natural destas espécies (Sosa-Gómez et al., 2010). Este fungo ocorre com grande prevalência durante períodos de alta umidade, provocando epizootias e conseqüentemente, reduzindo as populações destes desfolhadores. Na cultura do algodão também pode ocorrer de forma generalizada em *Alabama argillacea* Hübner e *Trichoplusia ni* (Hübner) (Jin et al., 1978; Costa et al., 2015). Portanto, da mesma maneira que a pressão de seleção com fungicidas tem selecionado isolados menos sensíveis de fungos fitopatogênicos, é possível que esse processo de seleção também esteja ocorrendo nas populações de *M. rileyi*. Portanto, este trabalho teve como objetivo determinar a sensibilidade de isolados do fungo *M. rileyi* coletados na década de 90, antes do uso generalizado de fungicidas para controle da ferrugem-asiática, comparando com isolados obtidos mais recentemente (2006 e 2018), sendo a mistura de trifloxistrobina e protioconazole, a formulação analisada.

Material e Métodos

Foram utilizados cinco isolados de *M. rileyi*, coletados em diferentes safras agrícolas de soja, CNPSo-154 coletado em 1994, os isolados CNPSo-150 e CNPSo-152 foram coletados em 1996, os CNPSo-439 e CNPSo-605, em 2006 e 2018 respectivamente (Sosa-Gómez, 2002). Todos eles foram armazenados na forma de conídios adsorvidos sobre sílica-gel à -20°C, conforme metodologia proposta por Alves et al. (1998). A partir destes conídios em armazenamento se iniciou a produção do inóculo do fungo em meio SMAY (2,5g de neopeptona, 10g de maltose, 2,5g de extrato de levedura, 3,75g de ágar e 250ml de água), após a diluição dos componentes e esterilização em autoclave a 120°C/20min, foi acrescentado 1% (v/v) de hemolinfa de *A. gemmatalis* ou *C. includens*. A adição de hemolinfa é realizada para proporcionar os nutrientes necessários para seu crescimento ótimo. Pedras de sílica com os conídios foram colocadas sobre meio de cultura e mantidos durante 15-30 dias em câmara B.O.D. a 26 ±1,5°C. Para avaliar a sensibilidade do fungo ao fungicida, os conídios coletados foram suspensos em 20 ml de água destilada autoclavada e posteriormente a suspensão foi filtrada através de voile. Metade desta suspensão foi utilizada como testemunha e a outra metade foi utilizada para preparar a diluição final de 0,810 ppm de trifloxistrobina + protioconazole (Fox SC[®], 150g de trifloxistrobina + 175 g de protioconazole L⁻¹, Bayer S.A.). Ambas as suspensões foram nebulizadas imediatamente após sua preparação, durante 1 à 3 minutos sobre cinco lâminas recobertas meio SMAY+ hemolinfa 1%. A testemunha foi nebulizada com apenas a suspensão de conídios e os tratamentos com suspensão de conídios contendo o fungicida. As lâminas foram acondicionadas na B.O.D a 26±1,5°C por um período de 24 e 48h para quantificar os conídios germinados e não germinados. Os conídios foram considerados germinados quando apresentaram o tubo germinativo com um comprimento maior que a metade do comprimento do conídio. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso e os valores de porcentagem de germinação foram analisados mediante ANOVA e as médias comparada com o teste de Tukey (P<0,05) com o programa Sigmaplot 12.0 (www.systatsoftware.com).

Resultados e Discussão

A inibição da germinação ocasionada pela mistura de fungicidas foi variável e dependente do isolado (Fig.1 e 2). Os isolados CNPSo-150, CNPSo-493 e CNPSo-605 apresentaram menor vigor e foram mais afetados pelos fungicidas após 24 horas. Após 48 h, dois isolados (CNPSo-154, CNPSo-152) coletados antes do ano 2000 não foram afetados pela exposição a 0,8 ppm de ambos os fungicidas. Já o isolado CNPSo-605 afetado inicialmente (24 h) pela mistura de fungicidas, após 48 h apresentou o mesmo comportamento com e sem exposição aos fungicidas. Entretanto, o isolado coletado em 2006, sofreu um atraso na sua germinação quando exposto aos produtos. Os isolados obtidos nos anos 1994 e 1996, antes do uso generalizado de fungicidas, após 48 h não foram afetados pela exposição ao trifloxistrobina + protioconazole.

Dessa maneira, as diferenças de sensibilidade apresentaram associação com o isolado do fungo e não com o ano em que foram isolados. Embora as avaliações não indiquem alterações da sensibilidade à mistura de trifloxistrobina + protioconazole, no decorrer do tempo, há necessidade de ampliar o tamanho amostral avaliando um maior número de isolados.

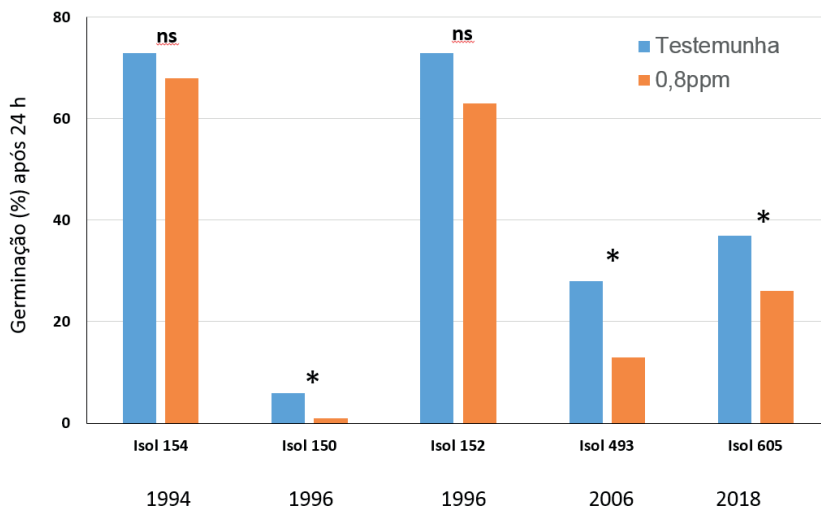


Figura 1. Germinação de conídios de diferentes isolados de *Metarhizium rileyi* sobre lâminas recobertas de meio SMAY + hemolinfa e expostos ou não a 0,8 ppm de trifloxistrobina + protioconazole. Colunas acompanhadas * apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,050$). ns= diferença não significativa.

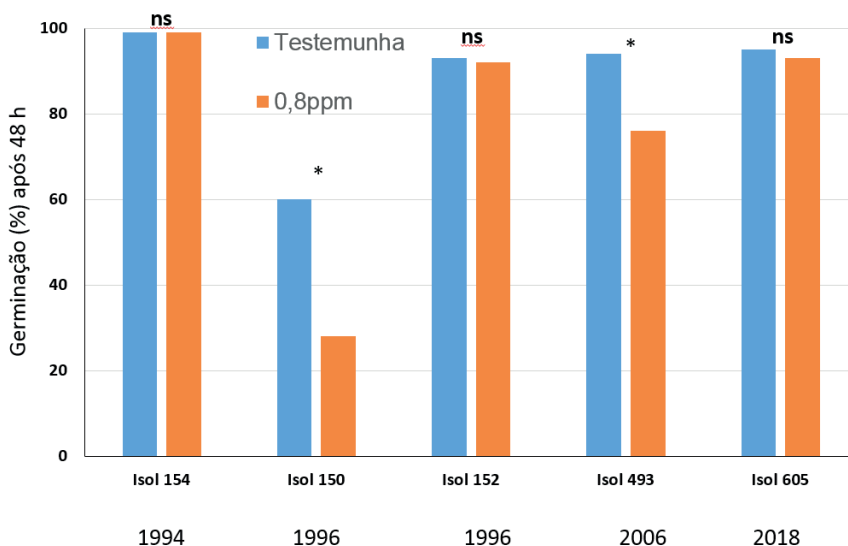


Figura 2. Germinação de conídios de diferentes isolados de *Metarhizium rileyi* sobre lâminas recobertas de meio SMAY + hemolinfa e expostos ou não expostos a 0,8 ppm de trifloxistrobina + protioconazole. Colunas acompanhadas de * apresentaram diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,050$). ns= diferença não significativa.

Conclusão

A sensibilidade dos isolados de *Metarhizium rileyi* à mistura dos fungicidas trifloxistrobina + protioconazole não variou em função dos anos de exposição ao fungicida. As variações foram devidas aos isolados.

Referências

ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M.; MOINO JR., A.; ALVES, L.F.A. Técnicas de laboratório. In: ALVES, S.B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. 2ª ed. v.4. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1998. p. 637-711.

COSTA, V.H.D.; SOARES, M.A.; RODRÍGUEZ, F.A.D.; ZANUNCIO, J.C.; SILVA, I.M.; VALICENTE, F.H. *Nomuraea rileyi* (Hypocreales: Clavicipitaceae) in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae in Brazil. **Florida Entomologist**, v. 98, n. 2, p. 796-798, 2015.

GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; MEYER, M. C.; COSTAMILAN, L. M. Asian soybean rust in Brazil: past, present, and future. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 407-421, 2016.

JIN, T.; SILVA, A. L.; PRADO, P. C. N.; CUNHA, H. P. Avaliação da mortalidade natural de *Trichoplusia ni* (Hueb., 1802) e *Heliothis virescens* (Fabr., 1781) por diversos microorganismos, sob condições de laboratório. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 8, n. 1, p. 31-37, 1978.

MOSCARDI, F., BUENO, A. F., SOSA-GÓMEZ, D. R., ROGGIA, S., HOFFMANN-CAMPO, C. B., POMARI, A. F.; CORSO, I. C., YANO, S.A.C. Artrópodes que atacam as folhas da soja. In: HOFFMANN-CAMPO, C.B., CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Eds.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 213-334

SOSA-GÓMEZ, D. R. (Org.). **Fungos entomopatogênicos**: catálogo de isolados. Londrina: Embrapa Soja, 2002. 32 p. (Embrapa Soja. Documentos, 188).

SOSA-GÓMEZ, D. R.; LASTRA, C. C. L.; HUMBER, R. A. An overview of arthropod-associated fungi from Argentina and Brazil. **Mycopathologia**, v. 170, n. 1, p. 61-76. 2010.

Extratos de espécies de *Crotalaria* e seu potencial no controle do nematoide de cisto

EXPOSITO, L.¹; LOIOLA, G.²; POLISELI, C.³; SCUPINARI, T.⁴; VERONEZZI, G.⁵; DIAS, W.P.⁶; HOFFMANN-CAMPO, C.B.⁶; LOPES, I. de O.N.⁶; NUNES, E.O.⁶

¹UTFPR, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, lisaexposito@hotmail.com; ² UNIFIL, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR; ³UEM, Bolsista Embrapa-Bayer, Maringá, PR; ⁴UEL, Londrina, PR; ⁵Laboratório de Ecologia Química, Embrapa Soja; ⁶Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

No Brasil, os danos causados por nematoides fitoparasitas é um dos fatores determinantes na perda significativa de produtividade (Goulart, 2008). Entre as espécies mais comuns de fitonematoides associados à cultura da soja estão: *Heterodera glycines* (nematoide do cisto); *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* (nematoides de galhas); *Pratylenchus brachyurus* (nematoide das lesões radiculares) (Amorim et al., 2016). A rotação de culturas e o uso de plantas de adubação verde, como plantas do gênero *Crotalaria*, que apresentam efeitos antagonistas a fitonematoides, estão entre as melhores alternativas para o controle de populações desses fitoparasitas (Silveira; Rava, 2004; Lemes et al., 2018). O antagonismo apresentado por plantas deste gênero sobre essas formas infestantes provém de seus efeitos nematocidas e/ou nematostáticos, que são atribuídos aos metabólitos secundários presentes na composição destas plantas, em especial ao alcaloide pirrolizidínico monocrotalina (Cunha et al., 2003; Gardiano et al., 2010). A monocrotalina (MCT) foi o primeiro alcaloide isolado de plantas do gênero *Crotalaria*, sendo considerada uma substância tóxica principalmente a animais vertebrados. Existem diversos relatos de intoxicação de ruminantes após a ingestão de plantas deste gênero, de acordo com Martinez et al. (2013).

O presente trabalho determinou a presença e o teor de MCT em plantas das espécies *Crotalaria spectabilis*, *C. ochroleuca* e *C. juncea*, após extração etanólica, por meio do desenvolvimento de uma metodologia de alta resolução. Além disso, são apresentados os resultados de estudos das ações nematostática e nematocida de extratos etanólicos dessas plantas sobre o fitonematoide *H. glycines*, por meio de bioensaios de dose-resposta. São também discutidas as relações entre os níveis de MCT nas plantas e a resposta dos nematoides à exposição aos extratos.

Material e Métodos

Amostras Vegetais

Foram utilizadas três espécies de *Crotalaria*: *C. juncea*, *C. ochroleuca* e *C. spectabilis*, cultivadas em campo, na fazenda experimental da Embrapa Soja, Londrina, PR (23° 11' 44" S e 51° 10' 35" O, 598 m de altitude). Foram utilizadas todas as folhas sadias de várias plantas coletadas no estágio de floração.

Obtenção dos extratos: As folhas de *Crotalaria* foram secas em estufa a 40°C, trituradas em liquidificador industrial até a obtenção de pó fino. Uma alíquota de 50 g do material em pó foi submetida à turboextração em solução de etanol/água (80:20 v/v) no volume de 1L, seguida de maceração. Durante a maceração, essa suspensão foi mantida por sete dias, protegidas da luz, com homogeneização manual diária. A suspensão foi filtrada e centrifugada sob refrigeração (Sorvall® - Legend X1R) a 4°C, a 5500 rpm (3314xg RCF), durante 20 minutos. O sobrenadante foi filtrado em Whatmann® ($\varnothing=240$ mm), e submetido ao Rotavapor R124-BÜCHI®, 90 rpm e T= 43°C, até completa evaporação da fração alcoólica. Os extratos foram mantidos em geladeira a 4°C, ao abrigo da luz, até o momento do uso. Parte do extrato foi reservado para fins analíticos.

Suscetibilidade de *H. glycines* aos extratos de *Crotalaria*

Foi utilizado como organismo-teste o nematoide *Heterodera glycines*, obtido da coleção do Laboratório de Nematologia da Embrapa Soja. O inóculo puro foi multiplicado em plantas de soja (cultivar suscetível). Os ovos foram extraídos de acordo com o método proposto por Dias et al. (1998), e colocados em câmaras de eclosão, para que os juvenis (J2) fossem obtidos segundo o método de Rios (1990).

Teste *in vitro*: Para o extrato de cada uma das espécies, o experimento foi conduzido em três repetições para cada extrato etanólico. Cada bateria de ensaio consistiu em expor alíquotas de J2 ($\cong 100$ indivíduos.mL⁻¹) ao extrato, nas concentrações: 0,00; 1,56; 3,12; 6,25; 9,37 e 12,50 mg.mL⁻¹, a um volume final de 4mL. As amostras foram avaliadas após dois momentos:

Exposição (24h a.e.): Os juvenis foram expostos ao extrato e incubados por 24h, a 25°C e ao abrigo da luz. Após esse período a mobilidade dos mesmos foi avaliada (quantificação de indivíduos móveis/imóveis em câmara de Peter). Na sequência, as amostras foram filtradas em membrana Millipore® ($\varnothing=0,45 \mu\text{m}$) e submetidas ao ensaio de recuperação.

Recuperação (24h a.e.+24h a.r.): O material retido no filtro (contendo os juvenis) foram ressuspensos em água destilada estéril, no mesmo volume, e mantidos sob as mesmas condições de incubação do ensaio de exposição. Após 24 horas da ressuspensão, os nematoides foram novamente quantificados em câmara de Peter, com o auxílio do corante vital azul do Nilo (8,0 %), e os indivíduos sem mobilidade e que absorveram o corante foram considerados mortos.

Tratamento estatístico: As respostas do nematoide aos extratos foram ajustadas ao modelo Weibull-1 (Ritz, 2010). Na parametrização adotada, esse modelo corresponde à distribuição de probabilidade exponencial, com função de ligação log-log, que pode ser representada como , em que: μ é uma concentração do extrato, o parâmetro λ é proporcional à taxa de variação na resposta do nematoide a um extrato na concentração definida pelo parâmetro μ , que é o ponto de inflexão da função . Para cada modelo, os parâmetros μ e λ , assim como a dose letal a 50% dos indivíduos (DL50), foram estimados utilizando-se o pacote drc de Ritz et al. (2015), para o ambiente de programação R.

O paralelismo entre duas curvas de respostas de diferentes espécies de *Crotalaria* foi verificado pelo teste de Student, considerando-se a hipótese de igualdade entre os valores de b . Para isso, assumiu-se heterogeneidade de variâncias e grau de liberdade igual a $n-1$, em que: n é o número de observações utilizados na estimativa de cada modelo. Em caso de evidência de paralelismo, foi também calculada a potência relativa entre as DL50 para *H. glycines*, considerando-se o extrato de *C. spectabilis* como substância padrão.

Identificação e quantificação de monocrotalina

Para análise cromatográfica e de espectrometria de massas, os extratos etanólicos (EtOH 80:20 v/v) foram analisados no equipamento *Autopurify system Waters®*, no modo analítico constituído de HPLC, detecção por Arranjo de Diodos (PDA - 2998) na faixa $\lambda= 190 - 400\text{nm}$, e de massas Quadrupolo

Dalton (QDa®), na faixa de massa: 50 –1250 Da, CV = 15 V, ESI (+); coluna C18 Xbridge® (4,6 mm x 100 mm: 5,0 μm) de fase reversa, fluxo de 1 mL.min⁻¹ e T= 20°C. O sistema de solventes utilizados foi: Fase A (ACN/H₂O, 10:90, v/v + NH₄OH 0,1%) e Fase B (ACN + NH₄OH 0,1%), em modo gradiente: 100% de (A) a 66,7% de (B) em 55 minutos, com retorno à condição inicial em 10 minutos. A identificação foi feita por meio de detecção em PDA e QDa, a quantificação pelo cromatograma obtido no modo PDA e confirmação efetuada pela adição de padrão na amostra e pela observação da relação m/z do composto.

Ensaio de calibração: As soluções padrão foram preparadas em fase móvel (Fase A) nas concentrações: 0; 1; 2,5; 5; 10; 50 e 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A curva de calibração foi obtida por regressão linear, usando a altura do pico do padrão como relação da sua concentração. O coeficiente de determinação (R^2) foi de 0,9997, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), foram de 0,55 e 1,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

Resultados e Discussão

A Figura 1 apresenta os resultados do teste de suscetibilidade de *H. glycines* aos extratos etanólicos das espécies de *Crotalaria* investigadas, onde foi avaliado o efeito dose-resposta na imobilização: ações nematostática (24 h a.e) e nematicida (24h a.e.+ 24H a.r.). Não foi possível obter estimativas válidas dos parâmetros de f, que relacionassem as concentrações do extrato de *C. juncea* à ação nematostática (24h a.e.). O mesmo observou-se em relação aos extratos de *C. juncea* e de *C. ochroleuca* na ação nematicida (24h a.e.+24h a.r.). Embora tenha-se obtido uma relação dose-resposta válida para a ação nematicida do extrato de *C. spectabilis*, a ação nematicida foi evidenciada somente a partir da dosagem 9,37 mg.mL⁻¹.

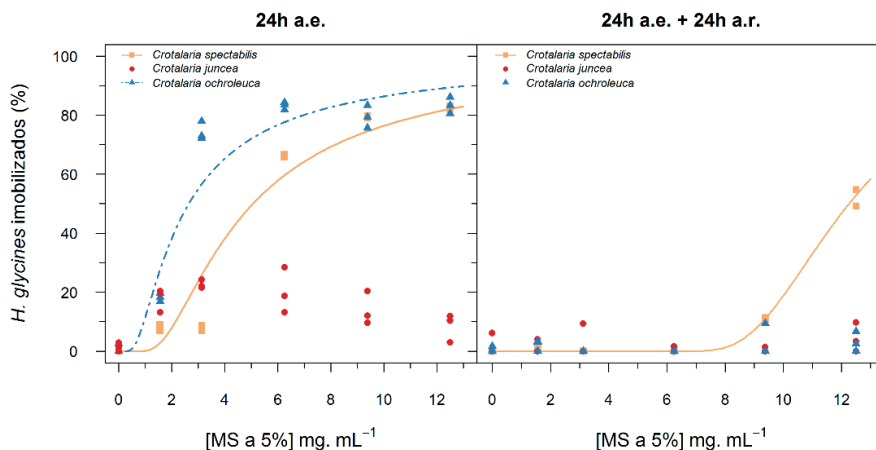


Figura 1. Efeito dose-resposta do nematoide *H. glycines* aos extratos etanólicos de *C. spectabilis*, *C. juncea* e *C. ochroleuca* após os ensaios de exposição e de recuperação.

O teste de paralelismo para as curvas do efeito nematostático de *C. ochroleuca* e *C. spectabilis* foi aceito, indicando que o comportamento na imobilização do nematoide foi similar para ambas espécies. No entanto, o valor da potência relativa indicou que a equivalência de doses entre os extratos testados nas mesmas condições foi de 1,92; isto é, foi necessário aproximadamente o dobro da dose de *C. spectabilis* para se obter a mesma efetividade nematostática de *C. ochroleuca* na DL50.

A Tabela 1 apresenta as concentrações de MCT nas folhas ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) e na concentração máxima do extrato ao qual os nematoides foram submetidos (12,5 mg MS. mL^{-1}). Os valores encontrados nas folhas foram próximos ao observado por Zhang et al. (2017), onde foi encontrado 30,35 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de MCT em folhas de *C. sessiflora*. Ao contrário que tem sido atribuído pela literatura, o presente trabalho mostra que a MCT não foi isoladamente a substância responsável pelos efeitos nematostáticos ou nematicidas, visto que o maior efeito nematostático foi observado em indivíduos expostos ao extrato de *C. ochroleuca* que não apresentou esse composto **à níveis** quantificáveis pelo método desenvolvido. Por outro lado, o teor de MCT em *C. juncea*, a qual não apresentou qualquer efeito na imobilização de *H. glycines*, foi aproximadamente metade da quantidade encontrada em *C. spectabilis*.

Tabela 1. Concentrações de monocrotalina [MCT] nos extratos etanólicos de folhas de *Crotalaria*, representadas em Microgramas por grama de folha ($\mu\text{g. g}^{-1}$) e na concentração máxima testada dos extratos ($12,5 \text{ mg MS.mL}^{-1}$), em que MS=Massa Seca

	<i>Crotalaria</i>		
	<i>spectabilis</i>	<i>juncea</i>	<i>ochroleuca</i>
[MCT] em $\mu\text{g. g}^{-1}$	$64,05 \pm 6,39$	$28,20 \pm 0,91$	ND*
[MCT] em $12,5 \text{ mg MS.mL}^{-1}$	$0,80 \pm 0,08$	$0,35 \pm 0,01$	ND*
*LD= $0,55 \mu\text{g. g}^{-1}$; LQ= $1,0 \mu\text{g.g}^{-1}$			

A detecção de MCT em PDA: (a) amostra de *C. spectabilis*, (c) padrão analítico; bem como a confirmação por massas - QDa: (b) amostra de *C. spectabilis*, e (d) padrão; estão representadas na Figura 2. As linhas vermelhas delimitam o intervalo correspondente ao tempo de retenção da MCT em amostra de extrato etanólico de *C. spectabilis* e em uma amostra de padrão analítico, no detector PDA. Na Figura 2c, a concentração de MCT é de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto na amostra (Fig. 2a) foi de cerca de $0,6405 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Observando o tempo de retenção no detector QDa no modo TIC para essas amostras verificou-se o mesmo espectro de massas $[M^+] = 326 \text{ m/z}$ nas figuras 2b (amostra) e 2d (padrão), o que confirma a identidade da substância.

A hipótese de que a MCT não é, ao menos isoladamente, a responsável pelo efeito nematocida tem sido corroborada por resultados ainda não publicados, onde ensaios de suscetibilidade de *H. glycines* a MCT (padrão Sigma®) foram realizados com até $[5 \text{ mg.mL}^{-1}]$, não mostrando nenhum efeito nematostático e/ou nematocida.

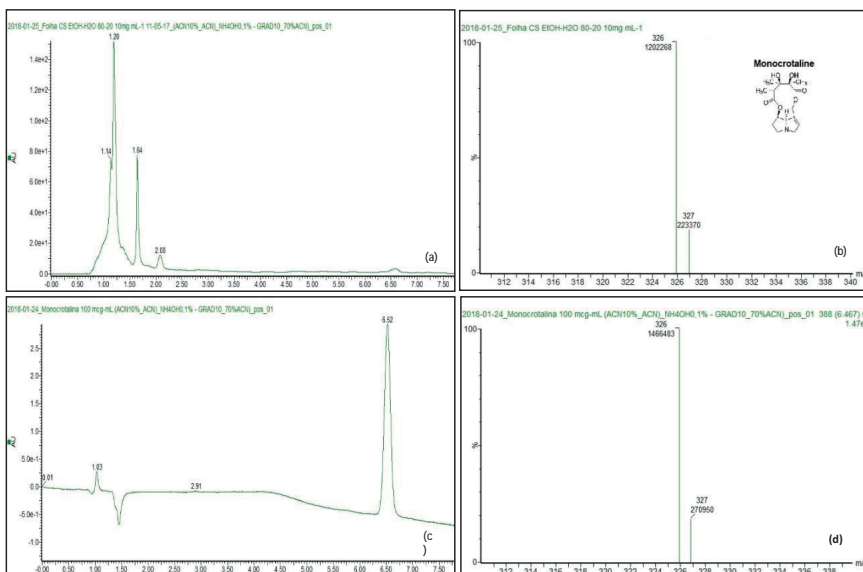


Figura 2. Cromatogramas em PDA (a,c) e espectros de massa QDa em ESI+ (b,d) obtidos de amostra de extrato etanólico de *Crotalaria spectabilis* (a,b) e padrão de monocrotalina [$100\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$] (b,d), em equipamento HPLC Autopurify System.

Conclusão

Nesse estudo foi possível determinar a concentração de monocrotalina, em três espécies de *Crotalaria*, bem como estabelecer os efeitos dos extratos etanólicos de suas plantas sobre o nematoide de cisto *Heterodera glycines*. Esses resultados reforçaram evidências de que a monocrotalina, ao menos isoladamente, não está relacionada diretamente ao efeito nematostático ou nematicida sobre a espécie *H. glycines*.

No entanto, aventou-se a possibilidade de investigar novas substâncias, uma vez que a *C. ochroleuca*, a qual não apresentou monocrotalina a níveis detectáveis, produziu elevado efeito nematostático.

Referências

- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 5. ed. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. v. 2, 772 p.
- CAMARGO, G.; MIYASAKI, A. K.; COTRIM, G.; SCUPINARI, T.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; DIAS, W. P.; LOPES, I. de O. N.; NUNES, E. de O. Potencial de extrato de flores de *Crotalaria* no controle de nematoides da soja. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 12. 2017, Londrina. **Resumos expandidos...** Londrina: Embrapa Soja, 2017. p. 165-176.
- CUNHA, F. R.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P. Extratos vegetais com propriedades nematocidas e purificação do princípio ativo do extrato de *Leucaena leucocephala*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 438-441, 2003.
- DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; KIIHL, R. A. S.; HIROMOTO, D.M.; ABDELNOOR, R.V. Quebra de resistência da cv. Hartwig por populações de campo de nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 6, p. 971-974, 1998.
- GARDIANO, C. G.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; LOPES, E. A.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. Atividade nematocida de extratos de sementes de espécies de *Crotalaria* sobre *Meloidogyne javanica*. **Trópica Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 4, n. 1, p.3-7, 2010.
- GOULART, A. M. C. **Aspectos gerais sobre nematóides das lesões radiculares (gênero *Pratylenchus*)**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008. (Embrapa Cerrados. Documentos, 219).
- LEMES, C. F. C.; MAZZETTI, V. C. G.; BERGHANN, S. C. T.; DEUNER, C. C.; BASSO, S. M. S. **Atividade nematocida de extratos de *Avena* spp. sobre a eclosão in vitro de juvenis de *Meloidogyne javanica***. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 41., Marília, 2018. **Summa Phytopathologica**, v. 44, supplement, 2018. Disponível em: <http://www.cpfito.net.br/cd/Resumos/Resumo41CPFito_0027.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2018.
- MARTINEZ, S. T.; SANTOS, A. P. B.; PINTO, A. C. A determinação estrutural do alcaloide pirrolizidínico monocrotalina: exemplo dos desafios da química de produtos naturais até os anos sessenta do século XX. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 2, p. 300-311, 2013.
- RIOS, C. M. D. **Quantificação da patogenicidade de *Meloidogyne incognita***. 1990. 75 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.
- RITZ, C. Toward a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 1, p. 220-229, 2010. DOI: 10.1002/etc.7.
- RITZ, C.; BATY, F.; STREIBIG, J. C.; GERHARD, D. Dose-response analysis using R. **PLoS One**, v. 10, n.12, e0146021, 2015.
- SILVEIRA, P. M. da; RAVA, C. A. **Utilização de crotalária no controle de nematóides da raiz do feijoeiro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 2 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Comunicado Técnico, 74).
- ZHANG, W., HUAI, W., ZHANG, Y., SHEN, J., TANG, X., XIE, X., Wang, K. and FAN, H. Ultra-performance liquid chromatography hyphenated with quadrupole-orbitrap mass spectrometry for simultaneous determination of necine-core-structure pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria sessiliflora* L. without all corresponding standard. **Phytochemical Analysis**, v. 28, n. 5, p. 365-373, 2017. DOI: 10.1002/pca.2683.

Deterioração em pré-colheita: seleção de genótipos e efeito na qualidade de sementes

BARBOSA, C. A. C.¹; SOUZA, L. S. N. de²; BRZEZINSKI, C. R.³; ABATI, J.³; KRZYZANOWSKI, F. C.⁴; FRANÇA-NETO, J. de B.⁴; HENNING, F. A.⁴

¹Unifil-Centro Universitário Filadélfia, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, cesar_augusto654@hotmail.com; ²UNOPAR-Universidade Norte do Paraná, Bolsista Embrapa; ³Estagiário, Núcleo Tecnológico de Sementes e Grãos; ⁴Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

A semente é o insumo básico e vital para o crescimento sustentável da produtividade e da produção agrícola. A qualidade final das sementes é adquirida durante todo o processo de produção, sendo fundamental o ajuste adequado das datas da semeadura e a determinação das regiões aptas à produção de sementes, de forma que as fases fenológicas mais críticas coincidam com os períodos climáticos favoráveis para atender às necessidades da cultura, e que o estágio de maturação das sementes ocorra em condições de temperaturas mais amenas associadas a baixos índices pluviométricos (Sediyama et al., 1993; Tecnologias..., 2013).

Elevados índices pluviométricos em determinados períodos de desenvolvimento da soja, especialmente em pré-colheita, podem ser prejudiciais à qualidade das sementes em decorrência da deterioração por umidade (França-Neto; Henning, 1984). Esse dano ocasiona enrugamento e rachaduras no tegumento, devido à expansão e contração deste tecido em função da exposição a ciclos alternados de variação na temperatura e na umidade relativa (França-Neto et al., 2000; Costa et al., 2001; Cunha et al., 2009; Terasawa et al., 2009). Segundo Oliveira et al. (2014), vagens com maior teor de lignina podem apresentar menor permeabilidade à água, o que pode resultar em menor deterioração das sementes a campo.

Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar a tolerância de cultivares de soja com teores contrastantes de lignina submetidas à deterioração em pré-colheita.

Material e Métodos

O ensaio foi desenvolvido no Núcleo Tecnológico de Sementes e Grãos, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Soja, Londrina, PR, nos Laboratórios de Fisiologia, Tecnologia e Química de Sementes. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 7x3, com quatro repetições. Os fatores foram constituídos por sete cultivares de soja (A, B, C, D, E, F e G) e três volumes de chuva artificial (0, 54 e 162 mm). O material experimental foi produzido em condições de casa-de-vegetação (modelo Van der Hoeven®) com controle parcial de temperatura e umidade relativa do ar, monitorada com equipamento Data Logger (Figura 1). Antes da semeadura, as sementes foram tratadas com o fungicida comercial Derosal Plus® (Carbendazin + Thiram) na dose de 200 mL 100 kg⁻¹. Após o tratamento, foram semeadas em vasos de 9 litros, com solo classificado como Latossolo Vermelho Eutroférico de textura argilosa em profundidade de três centímetros. Inicialmente foram colocadas quatro sementes por vaso e após a emergência das plântulas foi feito o raleio deixando duas plantas por recipiente. Para cada tratamento foram utilizadas quatro repetições. Efetuou-se a irrigação diária por meio do uso de aspersores por gotejamento.

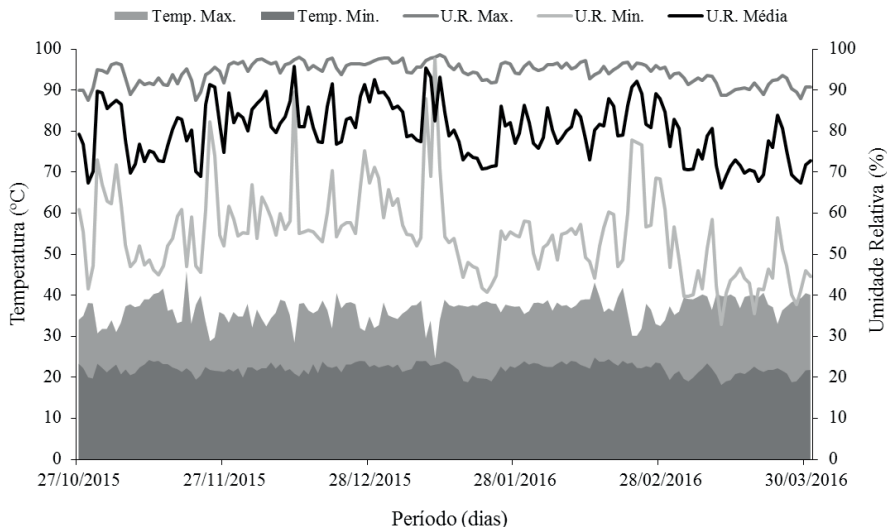


Figura 1. Temperatura máxima e mínima diária (°C) e umidade relativa do ar máxima, mínima e média diária (%), para o período de desenvolvimento da soja cultivada em condições de casa de vegetação.

A determinação do estágio fenológico das plantas foi baseada na escala de Ritchie et al. (1997). A simulação de chuva foi realizada no estágio de desenvolvimento da cultura R8 (maturação plena com 95% das vagens com coloração madura). A simulação de chuva artificial ocorreu durante três dias, a fim de obter a precipitação média diária e acumulada (Tabela 1). A lâmina de água foi medida por meio de pluviômetros distribuídos em toda a área experimental.

Tabela 1. Precipitações médias diárias e acumuladas (mm) em cultivares de soja no estágio fenológico de desenvolvimento da cultura (R8).

	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Acumulado
Precipitação 1	0	0	0	0
Precipitação 2	18	18	18	54
Precipitação 3	54	54	54	162

A chuva artificial foi produzida com equipamento constituído por estrutura metálica com 3 m de altura e 3,5 m de largura, que permite acoplamento de um “carrinho” suspenso a 2,5 m de altura. A esse carrinho encontram-se uma barra de pulverização, responsável pelo sistema de simulação de chuva, as quais se deslocam por uma área útil de 15 m² no sentido do comprimento do equipamento. As barras do equipamento foram tracionadas por meio de correntes e engrenagens, com auxílio de um motor elétrico, cujo ajuste é dado por um modulador de frequência, permitindo a obtenção de velocidade constante previamente determinada. Foi utilizada uma bomba hidráulica de pressão constante e acionamento automático, a qual bombeia água armazenada de um reservatório com capacidade para 3000 Litros até a barra e pontas de pulverização responsáveis pela formação de gotas de chuva.

A barra de pulverização foi dotada com sete bicos cônicos de alta vazão, modelo TKSS20, espaçadas 0,50 m, e posicionados de forma a propiciar maior uniformidade de precipitação na área aplicada. A pressão de trabalho foi de 0,81 kgf cm⁻², a altura da barra foi de 1,45 m em relação à superfície das unidades experimentais e a velocidade de deslocamento foi de 0,050 m s⁻¹. Assim, a cada deslocamento total da barra, aplicaram-se 0,9 mm de chuva. Essas especificações proporcionaram a produção de gotas artificiais de chuva com diâmetro mediano volumétrico (DMV) de aproximadamente 1.140 micras, conforme informações do fabricante (*Spraying Systems*). Após

os ciclos de hidratação e desidratação, as plantas foram levadas novamente para casa de vegetação e mantidas até o momento da coleta das vagens e sementes. As vagens e sementes foram coletadas manualmente dos terços superior, médio e inferior da planta em igual proporção. Após coletadas, às vagens e sementes foram encaminhadas ao Núcleo de Sementes e Grãos da Embrapa Soja para análises, conforme metodologias descritas a seguir:

Teste de Tetrazólio: a avaliação foi conduzida com duas subamostras de 50 sementes por repetição, pré-condicionadas em papel Germitest umedecido com água destilada por um período de 16 h, em germinador com temperatura ajustada para 25 °C. Após este período, as sementes foram transferidas para copos plásticos, com volume de 50 mL, sendo totalmente submersas em solução de tetrazólio (2-3-5, trifenil cloreto de tetrazólio), à concentração de 0,075%, e mantidas à temperatura de 40 °C por, aproximadamente, 150 minutos no interior de uma câmara de germinação na ausência de luz. Após o processo de coloração, as sementes foram lavadas com água corrente e mantidas submersas até o momento da avaliação. Posteriormente, as sementes foram avaliadas individualmente, seccionando-as longitudinalmente e simetricamente, com o auxílio de lâmina de bisturi e classificadas de acordo com os critérios propostos por França-Neto et al. (1998). A viabilidade foi representada pela soma das porcentagens das sementes pertencentes às classes de 1 a 5; o nível de vigor, pelas classes de 1 a 3, e a perda de viabilidade, pelas classes de 6 a 8. Foram caracterizadas as causas da perda da qualidade fisiológica das sementes, principalmente o dano de deterioração por umidade (classe 6-8). Os resultados foram expressos em porcentagem.

Teor de lignina das vagens e tegumentos: foi determinado utilizando-se para cada tratamento quatro repetições de 100 sementes e 50 vagens. Inicialmente, as sementes foram separadas das vagens, e estas foram imersas em água por período de 12h para separar os tegumentos dos cotilédones. Após esse procedimento, os tegumentos e as vagens separadas anteriormente, foram levados para secagem em estufa a 105°C por 24h. A matéria seca obtida foi triturada e homogeneizada. Posteriormente foram pesadas 0,3g para a etapa de extração das proteínas ligadas à parede celular. Após obter o material livre de proteínas, foi feita a quantificação da lignina pelo método LTGA (Capeleti et al., 2005).

Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade e homocedasticidade, utilizando-se os testes de Shapiro-Wilk e de Hartley. Foi realizada análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. As análises foram executadas por meio do programa computacional Sistema para Análise de Variância - SISVAR (Ferreira, 2011).

Resultados e Discussão

Segundo resultados apresentados, as cultivares A e B contêm menores teores de lignina na vagem, e a cultivar C menor teor de lignina no tegumento em relação às demais cultivares (Tabela 2). A lignina além de influenciar o grau de resistência a danos mecânicos também pode influenciar o processo de absorção de água. Esse processo ocorre devido a lignina apresentar caráter altamente hidrofóbico, com isso a passagem de água através dos tecidos torna-se extremamente lenta, principalmente quando associada a outras substâncias cerosas, como a suberina (Alvarez, 1997).

Tabela 2. Teor de lignina em vagens e tegumentos de sete cultivares de soja.

Cultivares	Vagem (%)	Tegumento (%)
A	13,46 E	4,27 B
B	14,10 D	4,20 B
C	15,34 C	3,60 C
D	16,13 A	4,58 A
E	16,19 A	4,47 A
F	18,56 A	4,26 B
G	15,18 C	4,35 B
CV (%)	1,93	4,01

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P > 0,05$).

Através do dano por umidade, determinado pelo teste de tetrazólio, foi possível verificar que as simulações de chuva utilizadas foram eficientes para distinguir as cultivares, para as três precipitações pluviais propostas inicialmente (Tabela 3). Estes volumes permitiram caracterizar as cultivares em função do dano por umidade em diferentes intensidades, possibilitando determinar os materiais suscetíveis ou resistentes à deterioração em pré-colheita, assim

como, verificar o efeito destes fatores sobre a composição estrutural das vagens e tegumentos, conforme apresentado e discutido a seguir.

Tabela 3. Teste de tetrazólio para determinação do dano por umidade, em cultivares de soja produzidas sob três volumes de precipitações pluviais em pré-colheita.

Dano por umidade 1-8 (%)			
Cultivar	-----Precipitações -----		
	0 mm	54 mm	162 mm
A	22 Aa	41 Bb	66 Dc
B	31 Ba	52 Cb	64 Dc
C	20 Aa	36 Bb	53 Cc
D	16 Aa	27 Ab	34 Bb
E	12 Aa	21 Ab	24 Ab
F	17 Aa	21 Aa	25 Aa
G	15 Aa	39 Bb	40 Bb
Dano por umidade 6-8 (%)			
Cultivar	0 mm	54 mm	162 mm
A	14 Ca	22 Db	26 Ec
B	9 Ba	14 Cb	18 Dc
C	2 Aa	8 Bb	18 Dc
D	6 Aa	11 Cb	11 Cb
E	3 Aa	3 Aa	1 Aa
F	5 Aa	6 Ba	6 Ba
G	4 Aa	9 Cb	7 Bb

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P > 0,05$).

Para o vigor, as cultivares C e G apresentaram maiores valores na precipitação 0 (sem aplicação de lâmina de água) (Tabela 4). Quando aplicado a lâmina de 54 mm, as cultivares que apresentaram maior vigor foram as C, E, F e G. Aos 162 mm, as cultivares E, F e G demonstraram melhor desempenho e a cultivar A, o menor vigor.

Tabela 4. Vigor e viabilidade determinados pelo teste de tetrazólio, em cultivares de soja, produzidas sob três volumes de precipitações pluviais em pré-colheita.

Vigor (%)			
Cultivar	----- Precipitações -----		
	0 mm	54 mm	162 mm
A	82 Ba	70 Bb	64 Cb
B	83 Ba	77 Ba	72 Bb
C	96 Aa	88 Aa	75 Bb
D	79 Ba	72 Bb	70 Bb
E	84 Ba	82 Aa	86 Aa
F	86 Ba	81 Aa	79 Aa
G	90 Aa	86 Aa	85 Aa
Viabilidade (%)			
Cultivar	----- Precipitações -----		
	0 mm	54 mm	162 mm
A	82 Ca	76 Cb	73 Db
B	89 Ba	84 Bb	78 Cc
C	96 Aa	90 Ab	79 Cc
D	87 Ba	84 Ba	80 Cb
E	88 Ba	86 Ba	87 Ba
F	89 Ba	86 Ba	85 Ba
G	95 Aa	91 Aa	93 Aa

Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na linha e maiúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott ($P > 0,05$).

Quando comparamos o efeito das precipitações sobre o vigor das cultivares testadas, foi possível observar que apenas as cultivares E, F e G não apresentaram reduções significativas em função do aumento das precipitações (Tabela 4). Para viabilidade, os resultados corroboram aos observados no teste de vigor. Sendo que, com a precipitação máxima (162 mm), os materiais que demonstraram melhores resultados, foram as cultivares E, F e G (Tabela 4). Ainda, a cultivar A apresentou menor viabilidade para todas as precipitações testadas.

Diante do exposto, as sementes de soja produzidas a partir de cultivares com maior espessura nas paredes da vagem, apresentam maior tolerância às flutuações de umidade do ambiente, principalmente quando associadas ao

elevado teor de lignina, influenciando diretamente na produção de sementes com menor porcentagem de danos por umidade e maior vigor e viabilidade.

Conclusão

Por meio das avaliações realizadas nos genótipos selecionados, sementes de soja oriundas de cultivares com maiores teores de lignina na vagem apresentam maior tolerância à deterioração por umidade em pré-colheita e proporcionam sementes de melhor qualidade fisiológica.

Referências

- ALVAREZ, P. J. C.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MANDARINO, J. M. G.; 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.
- CAPELETI, I.; FERRARESE, M. L. L.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FERRARESE FILHO, O. A new procedure for quantification of lignin in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seed coat and their relationship with resistance to mechanical damage. **Seed Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 511-515, 2005.
- COSTA, N. P. da; MESQUITA, C. de M.; MAURINA, A. C.; FRANÇA NETO, J. de B.; PEREIRA, J. E.; BORDINGNON, J. R.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A. Efeito da colheita mecânica da soja nas características físicas, fisiológicas e químicas das sementes em três estados do Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 1, p. 140-145, 2001.
- CUNHA, J. P. A. R.; OLIVEIRA, P.; SANTOS, C. M.; MION, R. L. Qualidade das sementes de soja após a colheita com dois tipos de colhedora e dois períodos de armazenamento. **Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1420-1425, 2009.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A. **Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de soja**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1984. 39p. (Circular Técnica, 9).
- FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; COSTA, N. P. da. **The tetrazolium test for soybean seeds**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1998. 71 p. EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 115).
- FRANÇA NETO, J. de B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; HENNING, A. A.; COSTA, N. P. da. Tecnologia de produção de sementes. In: A CULTURA da soja no Brasil. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 1 CD-ROM.
- OLIVEIRA, C. M. G. de; KRZYZANOWSKI, F. C.; OLIVEIRA, M. C. N. de; FRANÇA-NETO, J. de B.; HENNING, A. A. Relationship between pod permeability and seed quality in soybean. **Journal of Seed Science**, v. 36, n. 3, p. 273-281, 2014.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; THOMPSON, H. E.; BENSON, G. O. **Hoe a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology Cooperative Extension Service, 1997. (Special Report, 53). SEDIYAMA, T.; PEREIRA, M. G.; SEDIYAMA, C. S.; GOMES, J. L. L. **Cultura da soja**. Viçosa: UFV, 1993.

TECNOLOGIAS de produção de soja - Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 16).

TERASAWA, J. M.; PANOBIANCO, M.; POSSAMAI, E.; KOEHLER, H. S. Antecipação da colheita na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 765-773, 2009.

Proposição de nova escala em fita diamétrica para avaliar o crescimento de árvores de *Eucalyptus* sp. em sistema de integração

ILARIO, A. R.¹; SANTOS, E. L.²; CYRINO, T. C.²; VENDRAME, R.³; DEBIASI, H.⁴; BALBINOT JUNIOR, A. A.⁴; FRANCHINI, J. C.⁴

¹UniFil-Centro Universitário Filadélfia, Londrina, PR, angelorafael.88@hotmail.com; ²FAG-Centro Universitário Assis Gurgacz, Cascavel, PR; ³UEM-Universidade Estadual de Maringá, Cidade Gaúcha, PR; ⁴Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

A integração lavoura-pecuária floresta abrange sistemas produtivos diversificados de origem animal e vegetal, em uma mesma área, com o objetivo de otimizar os ciclos biológicos das plantas, animais, insumos e seus respectivos resíduos (Balbino et al., 2011). A estratégia de iLPF contempla quatro modalidades: sistema de integração de lavoura-pecuária-floresta (iLPF), integração de lavoura-pecuária (iLP), sistema de integração de lavoura-floresta (iLF) e integração de pecuária-floresta (iPF). A técnica se baseia na consorciação, sucessão ou rotação dos componentes envolvidos. Dessa forma, o sistema tende a se contrapor aos modelos atuais de monocultura, gerando benefícios ambientais e econômicos nas propriedades que o adotam (Flores et al., 2010). O interesse, nesse modelo de exploração, apoia-se nos benefícios que podem ser auferidos pelo sinergismo entre diferentes componentes do sistema, como: melhoria das propriedades físicas, químicas e biológicas do solo; quebra de ciclo de doenças e redução de insetos-pragas e de plantas daninhas; redução de riscos econômicos pela diversificação de atividades; e redução de custo na recuperação e na renovação de pastagens em processo de degradação (Kluthcouki; Stone, 2003).

Entre as espécies arbóreas mais utilizadas na iLPF destacam-se as do gênero *Eucalyptus* sp., que corresponde a 60,7% da área total reflorestada, ficando entre as mais extensas do território brasileiro. O *Eucalyptus* despertou interesse dos produtores por sua versatilidade, em possuir rápido crescimento e excelente qualidade da madeira. Cultivado em sistemas integrados pode ser direcionado a diversos usos, porém o uso comercial, como madeira para serraria, é o que mais tem sido procurado pelos produtores, em razão do maior retorno financeiro (Oliveira et. al., 2015). Para esse objetivo, os espa-

çamentos utilizados são mais amplos, com interferência na forma do fuste, o que está diretamente ligado ao rendimento na conversão em madeira serrada de árvores de eucalipto (Nogueira et al., 2008).

Devido ao tempo para retirada da madeira ser relativamente longo, levantamentos para avaliar o crescimento das árvores tornam-se uma importante ferramenta para subsidiar o planejamento e a adoção desses sistemas, assim como avaliar a sua viabilidade. A mensuração sistemática do crescimento das árvores fornece subsídios fundamentais para a tomada de decisão no planejamento do desbaste, levando em consideração o ritmo de crescimento tanto em diâmetro como em altura. Entre as variáveis dendrométricas, a altura das árvores é fundamental para a estimativa do volume de madeira em povoamentos florestais. No entanto, a determinação de altura através de instrumentos é um procedimento que demanda tempo, recursos financeiros e que está sujeita a erros (Souza et al., 2016). A utilização de relações hipsométricas pode ser uma importante ferramenta para tornar as atividades dos inventários florestais mais econômicas e precisas, pois permitem estimar a altura das árvores por meio do diâmetro, que é uma variável de fácil obtenção (Manfredi et al., 2013).

Atualmente, existem disponíveis no mercado dendrômetros automatizados (Herrmann et al., 2016), capazes de determinar o volume das árvores, porém dependendo do tamanho da área implantada, o investimento na aquisição do equipamento pode não se justificar. Nesses casos, as fitas diamétricas podem ser alternativas para estimar tais medidas. Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo avaliar modelos hipsométricos que possam ser utilizados como escalas na confecção de fita diamétrica para estimar o crescimento de árvores de *Eucalyptus* sp. em sistema de integração.

Material e Métodos

Os dados analisados neste trabalho foram coletados na Fazenda Maravilha, unidade de referência tecnológica (URT) da Embrapa Soja em iLPF, localizada no distrito de Maravilha, no município de Londrina, PR. A modalidade de Integração Lavoura-Pecuária-Floresta foi implantada em novembro de 2010, com renque simples de *Eucalyptus grandis* plantado à jusante da crista dos terraços de base larga já existentes na área, com espaçamento de 3 m entre

plantas A área ocupada pelo sistema é de 5,72 ha, englobando assim quatro renques que percorrem as faces Leste, Norte e Oeste com comprimento aproximado de 825 m, totalizando 1100 árvores plantadas. Os renques são intercalados por faixas com largura variando de 20 a 50 m conforme o relevo. As faixas foram manejadas com culturas anuais (soja e milho) nos primeiros três anos. Após esse período, a área integrada foi dividida em duas, sendo a vertente Norte/Leste ocupada por culturas anuais e a vertente Norte/Oeste ocupada por pastagem.

Os dados foram obtidos através da medição de 40% das árvores, sendo mensurada a circunferência com casca a 1,3 m de altura (CAP) com auxílio de fita métrica, e a altura total (Ht) com clinômetro digital da marca Haglöf. A determinação de Ht e CAP foi realizada aos 22, 28, 43, 56 e 67 meses após a implantação.

Foram testados três modelos hipsométricos conforme Müller et al. (2014), sendo os ajustes calculados no software Excel®. A partir dos dados das variáveis CAP e Ht, foi calculado o volume de madeira (m³). A partir dos dados mensurados e calculados foram ajustadas equações hipsométricas referentes aos seguintes modelos:

- 1) m^3 ou $Ht = e^{\beta_0 + \beta_1 CAP^{-1}}$ (Exponencial)
- 2) m^3 ou $Ht = e^{\beta_0 + \beta_1 \ln CAP}$ (Potência)
- 3) m^3 ou $Ht = \beta_0 + \beta_1 CAP$ (Polinômio)

Resultados e Discussão

Os parâmetros das equações ajustadas para estimar Ht e volume de madeira das árvores de *Eucalyptus grandis* estão apresentados na Tabela 1. Nas equações ajustadas para estimar a Ht, o R² variou de 0,90 a 0,84, enquanto que nos modelos para estimar a cubagem, a variação foi entre 0,94 a 0,99. Considerando o critério de maior R², o modelo que obteve o melhor desempenho ao se estimar tanto a Ht quanto a cubagem da madeira de *Eucalyptus grandis* em sistema de integração foi a equação hipsométrica (2) (Potência). Os menores valores de R² foram obtidos pela equação (3) (Polinômio). Souza

et al. (2016), estudando diâmetro na altura do peito (DAP) em modelos hip-sométricos para estimativa da altura de eucalipto em sistema de integração lavoura-pecuária-floresta, encontraram modelos acurados para estimar a altura de eucalipto aos 4 anos de idade com R^2 de 0,86.

Tabela 1. Parâmetros estatísticos das equações ajustadas para estimação de altura e cubagem de árvores de *Eucalyptus grandis*, cultivadas em sistema de integração. Londrina, PR. 2018.

Equação	β_0	β_1	β_3	R^2
Equações ajustadas para estimar altura				
Exponencial	4,9493	0,0181	-	0,89
Potência	0,1784	1,0945	-	0,90
Polinômio	0,0002	0,2756	-1,2797	0,84
Equações ajustadas para estimar volume de madeira				
Exponencial	0,0057	0,0508	-	0,97
Potência	0,0000005	3,0945	-	0,99
Polinômio	0,0001	-0,009	0,1622	0,94

O que pode explicar a equação (2) ter resultado no R^2 mais elevado é o fato das medições terem sido realizadas no período em que as plantas apresentavam crescimento em altura. Segundo Machado et al. (2011), a altura tende a se estabilizar e homogeneizar com o passar da idade, independentemente da distribuição diamétrica das árvores.

A partir da equação escolhida (2), foi possível calcular a altura e cubagem de árvores através do CAP amostrado (Figura 1). Diante destes resultados, uma fita diamétrica poderá ser confeccionada, facilitando o trabalho no campo e a estimativa de produtividade. A fita deverá ser ajustada ao fuste a 1,3 m de altura para determinar o CAP, e simultaneamente serão encontrados os valores de Ht e volume de madeira.

CAP (cm) amostrado			
0.....	15,0.....	30,0.....	45,0.....50,0.....
Altura (m) calculada			
0.....	3,46.....	7,38.....	11,50.....12,91.....
Volume de madeira (m ³) calculado			
0.....	0,0022.....	0,019.....	0,065.....0,093.....

Figura 1. Design básico para a confecção de uma fita diamétrica para avaliar a altura e o volume de madeira de *Eucalyptus grandis* cultivado em sistema de integração. Londrina, PR. 2018.

Conclusão

O modelo hipsométrico Potência foi o mais acurado para estimar a altura das árvores e volume de madeira de *Eucalyptus grandis*, sendo esse modelo sugerido como escala na confecção de fita diamétrica para avaliação de árvores de *Eucalyptus grandis* em sistema de integração.

Referências

- BALBINO, L. C.; BARCELLOS, A. de O.; STONE, L. F. **Marco referencial:** integração lavoura-pecuária-floresta. Brasília: Embrapa, 2011. 130 p.
- FLORES, C. A.; RIBASKI, J.; MATTE, V. L. **Sistema agrossilvipastoril na região sudoeste do estado do Rio Grande do Sul.** 2010. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/870878/1/SistemaagrossilvipastorilnaregiaoosudoestedoestadodoRioGrandedoSul.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2018.
- HERRMANN, V.; MCMAHON, S. M.; DETTO, M.; LUTZ, J. A.; DAVIES, S. J.; CHANG-YANG, C. H.; ANDERSON-TEIXEIRA, K. J. Tree circumference dynamics in four forests characterized using automated dendrometer bands. **PloS one**, São Francisco, v. 11, e0169020, 2016.
- KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F. Desempenho de culturas anuais sobre palhada de braquiária. In: KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L. F.; AIDAR, H. (Ed.). **Integração lavoura-pecuária.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2003. p. 499-522.
- MACHADO, S.A.; BARROS, D.A.; SCOLFORO, J. R.; ACERBI JÚNIOR, F.W. The effects of successive thinning on the hypsometric function for *Pinus oocarpa* stands. **Floresta**, Curitiba, v. 41, n.2, p. 397-406, 2011.
- MANFREDI, C. ALVES, T.F.; BARRETO, P.A.B. Modelos hipsométricos para *Genipa americana* L. em plantio homogêneo no município de Vitória da Conquista, Bahia. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 9, n. 16, p. 1495-1502, 2013.

MÜLLER, M. D.; BRIGHENTI, A. M.; ROCHA, W. S. D. da; MARTINS, C. E.; PACIULLO, D. S. C. Relações hipsométricas para eucalipto estabelecido em monocultivo e sistema silvipastoril. In: CONGRESSO FLORESTAL NO CERRADO; SIMPOSIO SOBRE EUCALIPTOCULTURA, 3., 2013, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFG/Win Eventos, 2013. p. 448-449

NOGUEIRA, G. S.; LEITE, H. G.; REIS, G. G.; MOREIRA, A. M. Influência do espaçamento inicial sobre a forma do fuste de árvores de *Pinus taeda* L. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 32, n. 5, p. 855 - 860, 2008.

OLIVEIRA, F. L. R. CABACINHA, C. D.; SANTOS, L.D.T.; BARROSO, D. G.; JÚNIOR, A. S.; BRANT, M.C.; SAMPAIO, R.A. Crescimento inicial de eucalipto e acácia, em diferentes arranjos de integração lavoura-pecuária-floresta. **Cerne**, Lavras, v. 21, n. 2, p. 227-233, 2015.

SOUZA, R. R. NOGUEIRA, G.S.; JÚNIOR, L.S.M.; OLIVEIRA, M.L.R.; ABRAHÃO, C.P.; LEITE, H.G. Forma de fuste de árvores de eucalipto em plantios adensados. **Scientia Forestalis**, v. 44, p. 19-40, 2016.

Infiltração de água do solo afetada pelo sentido de semeadura e compactação sob chuva simulada

SANTANA, P. S.¹; SANTOS, E. L.²; VENDRAME, R.³; CONTE, O.⁴; BALBINOT JUNIOR, A. A.⁴; DEBIASI, H.⁴; FRANCHINI, J. C.⁴

¹UniFil-Centro Universitário Filadélfia, Londrina, PR, santagro.ago.ps@hotmail.com; ²FAG-Centro Universitário Assis Gurgacz, Cascavel, PR; ³UEM-Universidade Estadual de Maringá, Cidade Gaúcha, PR; ⁴Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

É importante aumentar a conscientização de produtores e técnicos, sobre a necessidade de se manter a qualidade do solo e reduzir as perdas por erosão, pois no Brasil, estima-se que a erosão tem gerado perdas anuais de 500 milhões de toneladas de solo e de oito milhões de toneladas de adubo aplicado nas lavouras (Dechen, 2015), causando prejuízos ao ambiente (assoreamento e contaminação de rios, córregos, lagos), à agricultura (limitação do potencial produtivo e maior risco de perdas por seca) e ao consumidor (maior preço dos alimentos).

O sistema plantio direto (SPD), para ser considerado de fato conservacionista, deve ser planejado para atender os seus fundamentos: mínimo revolvimento, a manutenção de plantas vivas o maior período possível na área, cobertura morta permanente e a diversificação de culturas, além da utilização de práticas mecânicas para o controle do escoamento de água, como o sistema de terraceamento bem dimensionado e a semeadura em nível. Com isso, espera-se minimizar as perdas de água e solo a níveis compatíveis com a sustentabilidade de produtividade dos sistemas produtivos.

O sentido de semeadura influencia diretamente o escoamento superficial e, conseqüentemente, na intensidade da erosão hídrica (Barbosa et al., 2010). A semeadura realizada no sentido do declive do terreno (semeadura em desnível) facilita o escoamento superficial em relação à semeadura realizada no sentido transversal ao declive (semeadura em nível). Os sulcos deixados pela semeadora na semeadura em desnível facilita a concentração de água no local, favorecendo o escoamento superficial, gerando maior energia ciné-

tica, desagregando e transportando maior quantidade de sedimentos quando comparado com a semeadura em nível (Luciano et al., 2009).

A taxa de infiltração de água é considerada um bom indicador de qualidade do solo, pois reflete propriedades diretamente associadas às funções desempenhadas por este recurso natural nos sistemas de produção, como a distribuição de poros com tamanho favorável ao crescimento de raízes. A dependência espacial da taxa de infiltração de água no solo é atribuída não apenas a processos de formação do solo, mas também aos sistemas de manejo. No entanto, a infiltração pode ser limitada pela compactação do solo, que reduz a porosidade total, a macroporosidade, a aeração e a condutividade hidráulica (Franchini et al., 2009), pelo comprometimento da qualidade estrutural do solo. Adicionalmente, métodos visuais de avaliação da qualidade estrutural do solo, como o DRES (diagnósticos rápido da estrutura do solo), são rápidos e de fácil reconhecimento dos efeitos dos diferentes sistemas de produção nas condições estruturais do solo. Auxilia no processo de tomada de decisão em relação às ações de correção ou melhoria da qualidade do manejo do solo de áreas agrícolas, com ênfase para aquelas cultivadas em SPD (Ralisch et al., 2017).

Diante disso, o objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do sentido de semeadura e da compactação do solo sobre a infiltração de água em chuva simulada.

Material e Métodos

O presente estudo foi realizado na Unidade de Difusão Tecnológica da Cocamar, em Floresta/PR (23°55' S e 52°04' O, 390 m de altitude média), sobre um Latossolo Vermelho distroférrico muito argiloso >70%. O clima da região é do tipo Cfa (subtropical úmido), segundo a classificação de Köppen.

As unidades experimentais foram constituídas por duas macroparcelas com 14 x 14 m, totalizando 196 m². As macroparcelas foram manejadas de forma diferente: 1) Macroparcela não compactada (MPNC): cultivo de soja no verão e, desde 2015, de milho em consórcio com a forrageira *Urochloa ruzizensis* na 2ª safra, sem compactação adicional pelo tráfego de máquinas; 2) Macroparcela compactada (MPC), cultivada com soja no verão e milho soltei-

ro na segunda safra desde 2015, sendo submetida à compactação adicional pelo tráfego de nove passadas de colhedora autopropelida de grãos (modelo TC 57) com massa total de 10,44 Mg. A compactação foi realizada antes da semeadura da soja safra 2017/18, dois dias após a aplicação de 60 mm de água via aspersão.

O DRES foi realizado em janeiro de 2018, através da coleta de três amostras de solo (camada de 0,0-0,25 m de profundidade) em cada macro parcela. As camadas foram identificadas, obtidas suas espessuras e atribuído notas de qualidade estrutural para cada camada (Q_{e_c}), conforme Ralisch et al. (2017). A partir dessas informações, foi determinado o Índice de Qualidade Estrutural do solo da Amostra (IQEA) e, através da média dos IQEAs, foi calculado o Índice de Qualidade Estrutural do solo (IQES) na macro parcela.

A determinação da taxa de infiltração estável (TIE) do solo foi realizada em janeiro de 2018, sob chuva simulada de 120 mm h^{-1} , aplicada durante 1 hora sobre um conjunto de duas microparcels (1 x 1 m) instaladas lado a lado em cada macroparcela, nas quais a cultura do milho foi semeada em nível ou desnível (Figura 1a). A semeadura do milho foi feita manualmente no espaçamento de 0,45 m entre linhas, dez dias antes da avaliação da TIE, sendo os sulcos (0,08 m de profundidade e 0,10 m de largura) abertos com auxílio de sacho. Após a semeadura, as microparcels foram cobertas com palha de braquiária ruziziensis em quantidade equivalente a 8 Mg ha^{-1} . As microparcels foram delimitadas 30 dias antes da simulação de chuva, por uma base confeccionada em chapas de aço nº 18, de 0,2 m de altura, dos quais 0,15m foram cravados no solo (Figura 1a). A declividade da área delimitada foi de $0,03 \text{ m m}^{-1}$. A água da chuva simulada que escoou foi coletada por uma calha acoplada à jusante da base delimitadora da microparcela, transversalmente e abaixo da superfície do terreno (Figura 1a). Por meio de uma mangueira conectada à saída da calha, a água escoada foi conduzida e armazenada em recipiente graduado.

Para cada conjunto de duas microparcels, foi instalado um simulador de chuva, *construído conforme os princípios* descrito por Meyer e Harmon (1979) e Souza (2004), com armação retangular e altura de três metros; bico aspersor tipo VeeJet 80- 150 com 12,7 mm de diâmetro interno, que atua sob uma pressão de 41 kPa, acoplado no centro do equipamento; e moto bomba que capta água de um reservatório e injeta no bico com pressão de saída

constante em 4 kgf/cm^2 (6 PSI), monitorada por manômetro. A intensidade de chuva desejada é alterada pelo número de oscilações do bico por unidade de tempo que, por sua vez, é regulado pelo aumento ou diminuição da distância que o eixo percorre, através de uma chapa de aço circular com diversos orifícios dispostos no seu perímetro (Figura 1b). Nas condições especificadas, e considerando a intensidade de precipitação utilizada neste estudo (120 mm h^{-1}), o bico fornece uma energia de impacto de $200 \text{ kJ ha}^{-1} \text{ mm}$ (Meyer; Harmon, 1979). Essa energia equivale a 75% da energia fornecida por uma chuva natural de igual intensidade (Souza, 2004).

A primeira leitura do volume de água escoado foi realizada 10 min após o início da chuva e, depois, a cada 5 minutos, por um período total de 1 h. A taxa de infiltração foi obtida pela diferença entre o volume de água da chuva e o de escoamento na unidade de tempo, sendo os valores expressos em mm h^{-1} e plotados em função do tempo de medição, gerando assim a curva de infiltração de água no solo. A TIE, por sua vez, foi equivalente ao volume de água infiltrado na unidade de tempo (mm h^{-1}) no segmento reto da curva de infiltração, observada próximo ao final do período de avaliação. O volume de água na unidade de tempo (mm h^{-1}) escoado quando a TIE foi atingida foi considerado, neste trabalho, como sendo a taxa de escoamento superficial de água potencial (TESP) na intensidade de precipitação utilizada no ensaio (120 mm h^{-1}).

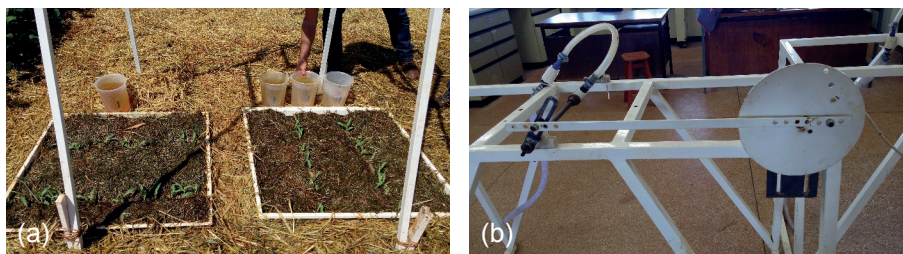


Figura 1. Disposição da delimitação das parcelas no campo e do sentido de semeadura do milho (a), e detalhes da regulagem para determinação da intensidade de chuva.

Resultados e Discussão

Na MPNC, foi obtido o IQES de 4,0 que, conforme Ralisch et al. (2017), indica uma boa qualidade estrutural do solo (Tabela 1). No entanto, para esta área, a recomendação de melhoria seria intensificar o uso de sistemas diversificados de produção com alta capacidade de aporte de fitomassa aérea e de raízes (ex. gramíneas), o que requer alterações na estratégia de rotação e consorciação de culturas adotada no sistema de produção.

Tabela 1. Índice de qualidade estrutural do solo (IQES) conforme o sistema de manejo adotado na área, determinado pela aplicação do diagnóstico rápido da estrutura do solo (DRES). Floresta-PR., 2018.

Manejo do solo ⁽¹⁾	IQES	Qualidade estrutural ⁽²⁾
MPNC	4,0	Boa
MPC	2,2	Ruim

⁽¹⁾ MPNC= macroparcela sem compactação adicional por tráfego de máquinas e manejada na sucessão soja/milho 2ª safra + braquiária desde 2015; MPC = macroparcela com compactação adicional pelo tráfego de nove passadas de colhedora autopropelida de grãos (modelo TC 57) com massa total de 10,44 Mg, e cultivo na sucessão soja/milho 2ª safra. ⁽²⁾Conforme Ralisch et al. (2017).

A área MPC obteve um IQES de 2,2 e, portanto, a qualidade estrutural do solo foi classificada como ruim (Tabela 1). Neste caso, a recomendação de melhoria seria a realização de um diagnóstico da área, incluindo as condições químicas e físicas no perfil, revisando as práticas conservacionistas do solo (ex. terraceamento, alocação de estradas e operações em nível), racionalizando o tráfego de máquinas agrícolas e priorizando o aumento da diversidade de espécies vegetais, com o uso de plantas recuperadoras, em relação ao emprego de práticas mecânicas (Ralisch et al., 2017).

A semeadura realizada em nível aumentou a TIE nos dois sistemas de manejo do solo (Figuras 2a e 2b). Na MPNC, a semeadura em nível proporcionou um aumento na TIE de aproximadamente 33 mm h⁻¹ (92%). As diferenças entre a semeadura em nível e desnível foram ainda maiores na MPC, equivalendo a quase sete vezes (40 mm h⁻¹). Em contrapartida, a TESP apresentou comportamento inverso, com os menores valores ocorrendo na semeadura em nível. Em termos relativos, observa-se que a TESP foi equivalente a aproximadamente 70 e 95% da intensidade de precipitação quando o milho foi semeado em desnível na MPNC e MPC, respectivamente (Figura 3).

Esses valores foram reduzidos para, respectivamente, 42 e 60% quando a semeadura foi realizada em nível. Esses resultados demonstram a importância da semeadura em nível para aumento da taxa de infiltração e redução do escoamento superficial de água, mesmo em áreas sob SPD com alta quantidade cobertura morta e baixa declividade. Neste sentido, o sulco gerado pela semeadura em nível produz rugosidade no solo, comportando-se como micro terraços, diminuindo a velocidade da água e facilitando a sua infiltração. Marioti et al. (2013) constataram que a semeadura em nível diminuiu em até 15% o escoamento superficial.

A qualidade estrutural do solo também exerceu grande efeito na TIE e, conseqüentemente, na TESP (Figuras 2 e 3). A compactação do solo reduziu a TIE em cerca de 20 e 30 mm h⁻¹ na semeadura em nível e desnível, respectivamente. Solos compactados apresentam menor volume de poros, especialmente os de maior diâmetro (macroporos), o que limita o processo de infiltração de água (Brandão et al., 2006). Entretanto, é interessante observar que a TIE na parcela compactada e cultivada em nível foi maior em relação à não compactada mas cultivada em desnível, evidenciando que, nas condições deste trabalho, o sentido de semeadura foi mais importante do que a qualidade estrutural como fator determinante do processo de infiltração de água no solo.

As perdas de solo foram maiores quando houve a semeadura em desnível (Figura 4a). Independentemente do manejo, a semeadura em desnível resultou em perdas de solo 95% superiores à semeadura em nível. Marioti et al. (2013), avaliando a forma de semeadura, constataram que a semeadura em nível diminuiu em 74,6% as perdas de solo. Na semeadura em desnível, a quantidade de solo perdido foi maior no MPC em relação ao MPNC, porém as diferenças foram menores quando comparadas às perdas de água por escoamento (Figuras 2 e 3). É provável que o maior escoamento superficial na MPC tenha sido compensado, em parte, pela maior resistência ao cisalhamento da superfície do solo resultante do maior grau de compactação (Sanchez-Girón, 1998), o que dificulta a desagregação pela energia cinética do escoamento.

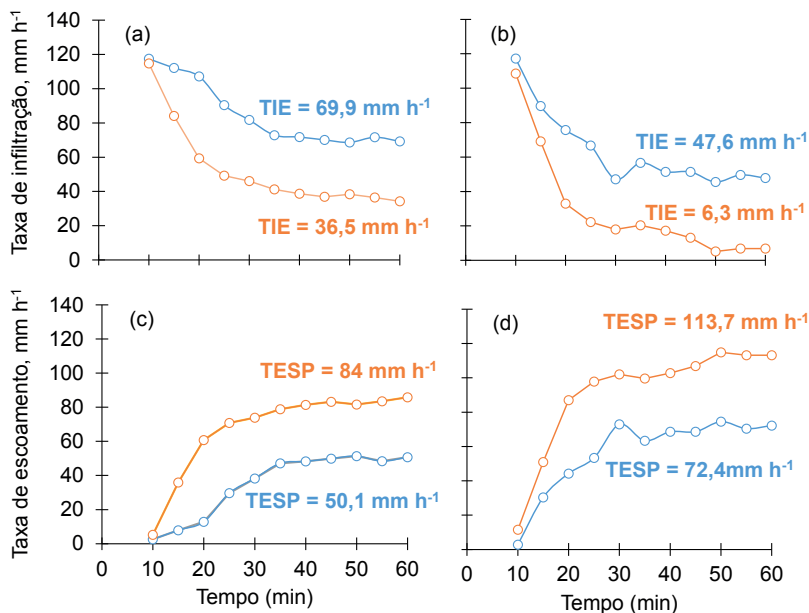


Figura 2. Taxa de infiltração (a,b) e de escoamento (c,d) nas macroparcelas não compactada (a,c) e compactada (b,d) em função do sentido de semeadura da cultura do milho. Floresta-PR, 2018. TIE = taxa de infiltração estável; TESP = taxa de escoamento potencial para a intensidade de precipitação utilizada (120 mm h^{-1}).

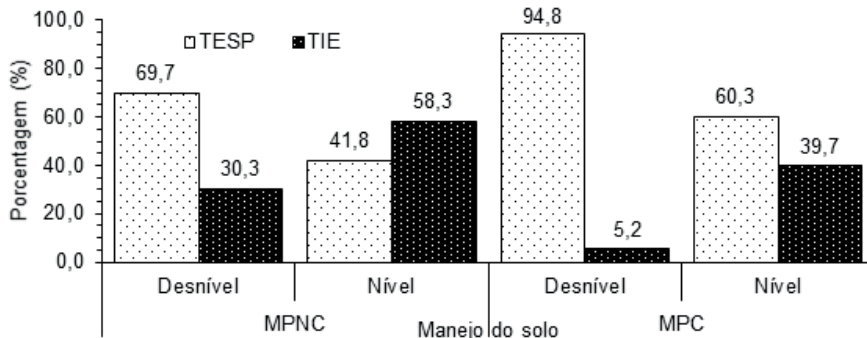


Figura 3. Porcentagem da infiltração de água no solo e do escoamento superficial conforme o sentido de semeadura e o manejo do solo. Floresta-PR, 2018. TIE = taxa de infiltração estável; TESP = taxa de escoamento potencial para a intensidade de precipitação utilizada (120 mm h^{-1}). MPNC= macroparcela sem compactação adicional por tráfego de máquinas e manejada na sucessão soja/milho 2ª safra + braquiária desde 2015; MPC = macroparcela com compactação adicional pelo tráfego de nove passadas de colhedora autopropelida de grãos (modelo TC 57) com massa total de 10,44 Mg, e cultivo na sucessão soja/milho 2ª safra.

Conclusão

A semeadura em desnível diminui a taxa de infiltração estável (TIE), o que ocorre de maneira mais acentuada em solos fisicamente degradados. A compactação do solo, provocado pelo tráfego e sistemas de produção com baixo aporte de fitomassa da parte aérea e raízes, reduz a taxa de infiltração estável (TIE). O índice de qualidade estrutural do solo (IQES), determinado pelo diagnóstico rápido da estrutura do solo (DRES), mostrou ser um bom indicativo de infiltração de água no solo.

Referências

BARBOSA, F.T.; BERTOL, I.; LUCIANO, R.V.; PAZ-FERREIRO, J. Proporção e tamanho de sedimentos e teor de carbono orgânico na enxurrada e no solo para dois cultivos e duas formas de semeadura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 5, p. 1701-1710, 2010.

BRANDÃO, V. dos S. **Infiltração da água no solo**. 3. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. 120 p.

DECHEN, S. C. F.; TELLES, T. S.; GUIMARÃES, M. F.; DE MARIA, I. C. Losses and costs associated with water erosion according to soil cover rate. **Bragantia**, v. 74, p. 224-233, 2015.

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: Embrapa Soja, 2009. 39 p. (Embrapa Soja. Documentos, 314).

LUCIANO, R. V.; BERTOL, I.; BARBOSA, F. T.; VÁZQUEZ, E. V.; FABIAN, E. L. Perdas de água e solo por erosão hídrica em duas direções de semeadura de aveia e ervilhaca. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 669-676, 2009.

MARIOTI, J.; BERTOL, I.; RAMOS, J. C.; WERNER, R. S.; PADILHA, J.; FLORES, M. C.; BANDEIRA, D. H. Erosão hídrica em semeadura direta de milho e soja nas direções da pendente e em contorno ao declive, comparada ao solo sem cultivo e descoberto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 37, p. 1361-1371, 2013.

MEYER, L. D.; HARMON, W. C. Multiple intensity rainfall simulator for erosion research on row sideslopes. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 22, n. 1, p. 100-103, 1979.

RALISCH, R.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; TOMAZI, M.; HERNANI, L. C.; MELO, A. da S.; SANTI, A.; MARTINS, A. L. da S.; DE BONA, F. D. **Diagnóstico rápido da estrutura do solo - DRES**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 63 p. (Embrapa Soja. Documentos, 390).

SÁNCHEZ-GIRÓN, V.; ANDREU, E.; HERNANZ, J. L. Response of five types of soil to simulated compaction in the form of confined uniaxial compression test. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 48, n. 1/2, p. 37-50, 1998.

SOUZA, M. D. de. **Desenvolvimento e utilização de um simulador de chuvas para estudos de atributos físicos e químicos do solo relacionados a impactos ambientais**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 20 p. il. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 37).

Compactação ocasionada por tráfego de trator em um Latossolo Vermelho sob Sistema Plantio Direto e escarificado

SORIANI, R.¹; DEBIASI, H.²; FRANCHINI, J. C.²; FREGONEZI, G. A. F.³

¹UniFil-Centro Universitário Filadélfia, Bolsista Embrapa, Londrina, PR, rafaelSORIANI@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja; ³Professor, UniFil-Centro Universitário Filadélfia.

Introdução

O Sistema Plantio Direto (SPD) aumenta a biodiversidade e melhora principalmente a qualidade física do solo, promovendo adequada agregação e estruturação. A evolução da agricultura ocasiona a intensificação do uso do solo e, conseqüentemente, aumenta as operações com máquinas agrícolas maiores e mais pesadas. O tráfego destas máquinas, principalmente se o solo estiver em uma condição friável constitui-se na principal causa da compactação. Quando a pressão aplicada pelos rodados ultrapassa a capacidade de suporte de carga do solo, como consequência causa perdas na produtividade das culturas em razão de modificações físicas no ambiente radicular, pois promovem o aumento da resistência do solo à penetração (RP) e da erosão, diminuição da porosidade total, da aeração, da infiltração, da absorção de água e nutrientes, entre outros efeitos (Debiasi et al., 2010).

A escarificação mecânica tem sido uma alternativa para a descompactação no SPD, pois esses implementos de hastes rompem o solo nos seus pontos de fraqueza (até 30 cm de profundidade), formando fissuras e ocasionando efeitos imediatos na redução da RP e no aumento da infiltração de água, porém esse manejo não contribui para a reconstrução e estabilização das estruturas alteradas. Muitos produtores estão utilizando os escarificadores periodicamente entre as safras, sem diagnóstico criterioso da real necessidade. Como consequência, podem surgir efeitos de compactação ainda mais graves se trafegados novamente, tornando este manejo ineficiente (Nunes et al., 2014). A RP pode ser utilizada para detecção de camadas compactadas e para estudar a ação de máquinas e implementos no solo, pois simula o impedimento mecânico ao crescimento radicular e, assim, tem sido proposta como indicador da qualidade física do solo (Moraes et al., 2014).

Nesse contexto, o objetivo deste experimento foi avaliar o efeito da compactação ocasionada por tráfegos sucessivos de trator em um Latossolo Vermelho distroférico manejado sob SPD e preparo mínimo com escarificação.

Material e Métodos

O experimento foi desenvolvido em novembro/2017 na Embrapa Soja, em Londrina no Paraná. O clima da região é classificado como Cfa (subtropical úmido), e o solo da área de estudo é o Latossolo Vermelho distroférico, considerado muito argiloso (784 g kg⁻¹ de argila na camada de 0,0-0,30 m de profundidade).

Os tratamentos consistiram de combinações entre dois sistemas de manejo do solo (SPD e preparo mínimo ou Escarificado), aplicados em parcelas de 75 m², e oito intensidades de tráfego (0, 1, 2, 4, 6, 8, 10 e 14 passadas) de trator 4x2 TDA com massa de 8,5 Mg, equipado com pneus dianteiros 11.00-22R, e traseiros 18.4-34R. No sistema preparo mínimo, foi utilizado um escarificador montado equipado com rolo destorroador, cinco hastes distanciadas 0,4 m e ponteiros de 0,08 m, atingindo uma profundidade média de 0,30 m.

No momento da realização dos tráfegos, o solo apresentava conteúdo gravimétrico de água próxima à capacidade de campo, com valores nas camadas de 0,0-0,60 m variando de 0,31 g g⁻¹ a 0,37 g g⁻¹ nas camadas de 0,0-0,60 m para o manejo SPD e com valores variando de 0,29 g g⁻¹ a 0,37 g g⁻¹ nas camadas de 0,0-0,60 m para o manejo escarificado.

A RP foi determinada por meio de um penetrômetro eletrônico (digital), equipado com cone de 12,83 mm de diâmetro da base e ângulo de 30°, acoplado a um quadriciclo e inserido no solo a uma velocidade constante de 30 mm s⁻¹ até 0,6 m de profundidade. As medições de RP foram realizadas a cada 0,01 m. Em cada tratamento, a RP foi avaliada em cinco transectos de 0,90 m posicionados em relação ao sentido dos tráfegos, cada um englobando sete leituras separadas por uma distância de 0,15 m (Figura 1). Para determinação do conteúdo de água no momento da avaliação da RP, foram coletadas amostras de solo deformadas nas camadas de 0,0-0,1; 0,1-0,2; 0,2-0,3; 0,3-0,4; 0,4-0,5; e 0,5-0,6 m. Os resultados foram comparados a valores ideais ou críticos descritos por Tormena et al. (1998); Silva et al. (2008); Moraes et al. (2014).

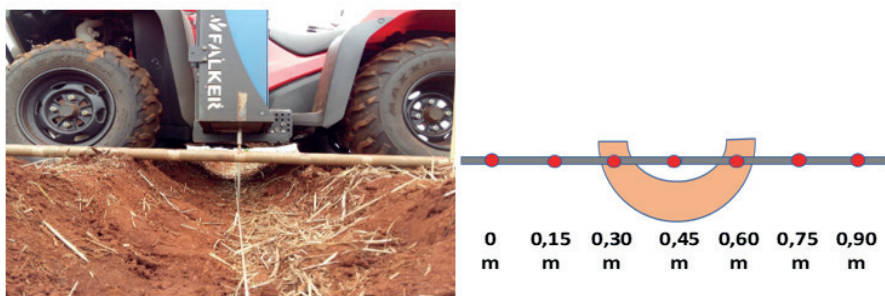


Figura 1. Distribuição das leituras de resistência do solo à penetração (RP) nos transectos.

Resultados e Discussão

No momento da avaliação da RP, a umidade do solo estava próxima à capacidade de campo. Como os valores de umidade foram similares entre os manejos e intensidades de tráfego, diferenças nos valores de RP medidos podem ser atribuídos a alterações ocasionadas pelos tratamentos na estrutura do solo.

Os maiores incrementos de RP em função do tráfego de trator, para ambos os sistemas de manejo ocorreram na camada de 0,05-0,15 m abaixo da área de contato pneu-solo, particularmente nas posições equivalente ao centro e às bordas da banda de rodagem (Figura 2). Os aumentos mais acentuados na RP foram observados logo após os primeiros tráfegos no SPD e no preparo mínimo com escarificador (Figura 2), concordando com Botta et al. (2012). Considerando a camada de 0,05-0,15 m na posição abaixo do centro do pneu, a RP após 14 tráfegos foi cerca de 2,5 vezes maior em relação à ausência de tráfego no SPD (Figura 2). Cerca de 50% deste aumento foi atingindo após o 2º tráfego, e 80% após a 6ª passada do trator. No caso do solo mobilizado pela escarificação, a RP na camada de 0,05-0,15 m abaixo do centro do pneu cresceu aproximadamente 11 vezes comparando o solo na ausência de tráfego em relação ao trafegado 14 vezes (Figura 2). De maneira similar ao observado no SPD, aproximadamente 40% deste incremento ocorreu após as duas primeiras passadas, e 70% após o sexto tráfego. O maior aumento da RP em função dos tráfegos sucessivos de trator no preparo mínimo em comparação ao SPD pode ser atribuído ao menor estado de compac-

tação inicial proporcionado pela escarificação, o que diminui a capacidade de suporte de carga do solo (Debiasi et al., 2010). Apesar do maior incremento de RP pelos tráfegos na área escarificada, o valor deste atributo na camada de 0,05-0,15 m abaixo da área de contato pneu-solo após 14 tráfegos foi levemente superior no SPD (5,0 MPa) do que no preparo mínimo (4,5 MPa).

O sistema de manejo influenciou fortemente o padrão de variação da RP no perfil de solo em resposta aos tráfegos (Figura 2). De modo geral, o aumento da RP no SPD, à medida que os tráfegos se sucederam, tendeu a se propagar lateralmente em relação ao centro da linha de tráfego, mas de forma concentrada na camada de 0,05-0,30 m (Figura 2). Neste tratamento e camada, foi observado aumento da RP até uma distância pelo menos 0,45 m do centro do rastro, para ambos os lados, a partir da 6ª passada do trator. Considerando que a largura do pneu era de 0,48 m, esses dados indicam aumento do grau de compactação do solo fora da linha de tráfego, até 0,3 m de profundidade. Por outro lado, o incremento da RP em resposta aos tráfegos sucessivos do trator no tratamento escarificado, além de propagar-se lateralmente à linha de tráfego, até pelo menos 0,45 m do centro do rodado, distribuiu-se em profundidade, atingindo camadas abaixo de 0,3 m, que não foram mobilizadas pelas hastes do escarificador (Figura 2). Esse aumento da RP na camada subsuperficial do solo (0,4-0,6 m) na área escarificada ocorreu já após o 2º tráfego. Adicionalmente, os maiores incrementos da RP no preparo mínimo e na camada de 0,05-0,15 m ocorreram sob a área de contato pneu-solo, enquanto que, em subsuperfície (0,4-0,6 m), o aumento da RP tendeu a ser uniforme em toda a camada até o 8º tráfego e, a partir da 10ª passada, foi levemente superior em regiões fora do rastro.

A compactação além de aumentar a RP, limita a profundidade e o volume de solo explorado pelas raízes em busca de água e nutrientes, reduz a porosidade total, a macroporosidade, a aeração, a capacidade de infiltração de água e a condutividade hidráulica saturada do solo. Essas modificações podem diminuir a produtividade das culturas, especialmente em anos secos ou com excesso de chuvas (Tavares Filho; Tessier, 2009; Franchini et al., 2009; Debiasi et al., 2010). De acordo com os parâmetros de RP para o Latossolo descritos por Tormena et al. (1998) e Silva et al. (2008) valores de RP acima 2 MPa têm sido propostos como críticos ao crescimento radicular das culturas anuais, representando nível de compactação significativo. Porém, Moraes et

al. (2014) concluíram que o limite crítico de RP deve ser ampliado para 3,5 MPa em SPD consolidado, 3 MPa em SPD com intervenção mecânica (preparo mínimo), mantendo-se o valor crítico de 2 MPa em sistemas de preparo convencional. Assim, levando-se em consideração os limites propostos por Moraes et al. (2014), verifica-se que no SPD a RP atingiu valores críticos às plantas apenas na camada 0,05-0,15 m e a partir do 4º tráfego (Figura 2). Neste mesmo manejo, os valores críticos de RP foram ultrapassados em regiões fora do rastro a partir do 6º tráfego. É importante destacar ainda que, no SPD, os valores de RP ficaram abaixo dos considerados críticos à produtividade das culturas em camadas mais profundas que 0,15 m, mesmo após a realização de 14 tráfegos sucessivos. Em contrapartida, na área sob preparo mínimo com escarificador, os valores de RP ultrapassaram os considerados críticos às culturas a partir do 6º tráfego nas camadas de 0,05-0,15 m e 0,55-0,60 m (Figura 2). A partir do 8º tráfego, observa-se aumento gradativo na espessura da camada subsuperficial com RP crítica às plantas, atingindo as profundidades entre 0,50-0,60 m após a 14ª passada. Observa-se ainda que os valores críticos de RP em camadas mais profundas que 0,5 m se concentraram nas laterais da linha de tráfego, enquanto que, na superfície (0,05-0,15 m), os mesmos ocorreram abaixo da área de contato pneu-solo.

Os resultados mostram ainda que os valores de RP na área escarificada (Figura 2) igualaram os observados no SPD não trafegado (Figura 2) na camada de 0,15-0,35 m com apenas dois tráfegos de trator. Isto foi observado em toda a largura do transecto avaliado, evidenciando que o aumento da RP a valores similares aos observados antes da escarificação não se restringiu à linha dos tráfegos, mas também a regiões fora dela. Na camada superficial (0,05-0,15 m), os valores médios de RP no preparo mínimo tornaram-se similares aos medidos no SPD não trafegado a partir da 4ª passada, o que se limitou à área de contato pneu-solo. Os resultados demonstraram que, no preparo mínimo (escarificado), houve aumento da RP_{pt} (RP posterior ao tráfego) em relação a RP_{at} (RP anterior ao tráfego) em todas as camadas (0,0-0,6 m), porém esse incremento diminuiu conforme aumento da profundidade da camada compactada (Figura 3a). A redução do impacto dos tráfegos sucessivos nas camadas mais profundas está associada principalmente à diminuição das tensões aplicadas pelos rodados com o aumento da profundidade. Já no SPD, houve aumento da RP_{pt} em relação a RP_{at} apenas camada de 0,0-0,21 m.

A decisão em torno da necessidade ou não da escarificação mecânica (preparo mínimo) no SPD deve ser criteriosa pelos produtores. Esses dados contribuem para explicar a curta duração dos efeitos da escarificação, verificada em diversos trabalhos de pesquisa que demonstram que os efeitos variam de 10 meses (1 safra) até 24 meses, tornando esse sistema ineficiente e suscetível à recompactação, principalmente se trafegados novamente (Ralisch et al., 2001; Silva et al., 2008; Debiasi et al., 2010; Moraes et al., 2014; Nunes et al., 2014).

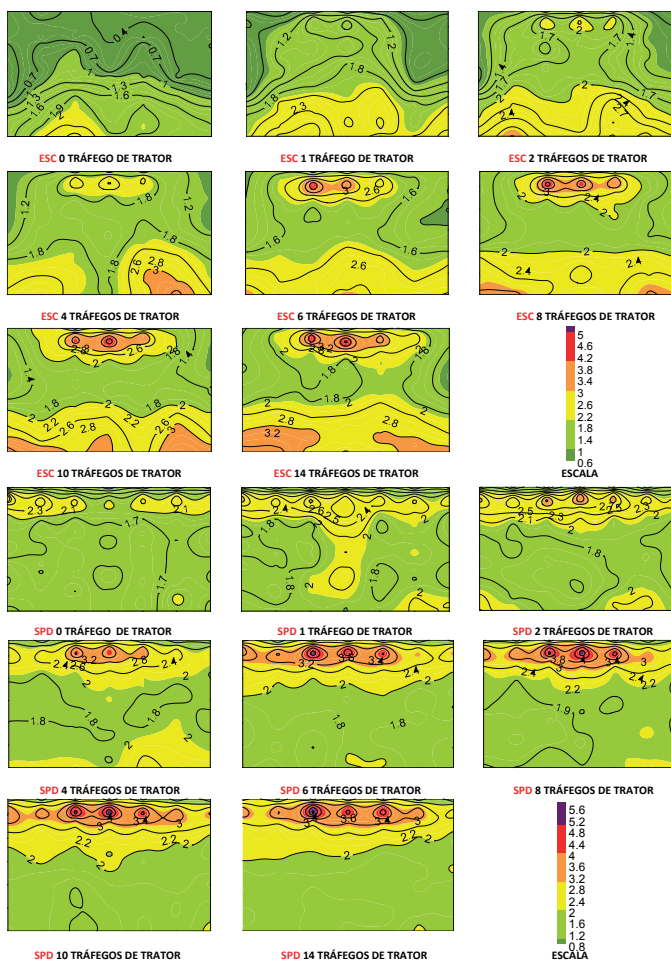


Figura 2. Resultados da Resistência à penetração do solo (RP) nos manejos Sistema Plantio Direto (SPD) e Escarificado (ESC) ocasionados por até quatorze tráfegos de trator.

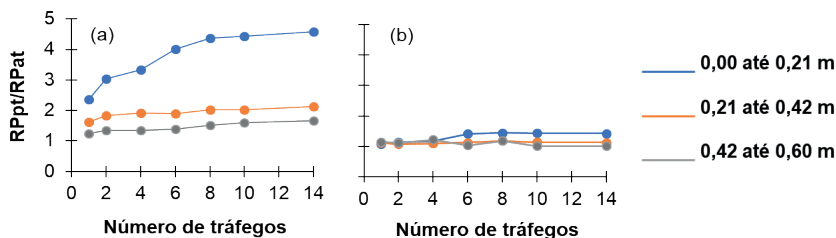


Figura 3. Resistência relativa (RPpt /RPat) em diferentes camadas nos manejos preparo mínimo com escarificador (a) e Sistema Plantio Direto (b) em função do respectivo número de tráfegos. RPpt = Resistência do solo à penetração posterior ao tráfego; RPat = Resistência do solo à penetração antes do tráfego.

Conclusão

No SPD, o aumento do grau de compactação em consequência do tráfego concentra-se na camada de 0,05-0,15 m, atingindo no máximo 0,3 m após oito tráfegos sucessivos. A escarificação altera o perfil de aumento do grau de compactação em resposta a tráfegos sucessivos, com incrementos da RP em camadas subsuperficiais (0,4-0,6 m) já a partir da primeira passada. O aumento da RP não se restringe à área de contato pneu-solo, ocorrendo fora da linha do tráfego na camada de 0,05-0,30 no SPD, e de 0,05-0,60 m no preparo mínimo com escarificador.

Referências

- BOTTA, G. F.; TOLON-BECERRA, A.; TOURN, M.; LASTRA-BRAVO, X.; RIVERO, D. Agricultural traffic: motion resistance and soil compaction in relation to tractor design and different soil conditions. **Soil and Tillage Research**, Amsterdam, v. 120, n. 1, p. 92-98, 2012.
- DEBIASI, H.; LEVIEN, R.; TREIN, C. R.; CONTE, O.; KAMIMURA, K. M. Produtividade de soja e milho após coberturas de inverno e descompactação mecânica do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 6, p. 603-612, 2010.
- 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: Embrapa Soja, 2009. 39 p. (Embrapa Soja. Documentos, 314)
- 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.

NUNES, M.R.; DENARDIN, J.E.; FAGANELO, A.; PAULETTO, E.A.; PINTO, L.F.S. Efeito de semeadora equipada com haste sulcadora para ação profunda em solo com plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, p. 627-638, 2014. DOI:10.1590/S0100-06832014000200027.

RALISCH, R.; TAVARES FILHO, J.; ALMEIDA, M. V. P. Avaliação de um solo argiloso sob plantio direto de uma escarificação na evolução da resistência do solo a penetração. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 30, Foz do Iguaçu, 2001. **Resumos expandidos...** Foz do Iguaçu: CONBEA, 2001. CD-ROM.

SILVA, A. P.; TORMENA, C. A.; FIDALSKI, J.; INHOFF, S. Funções de pedotransferência para as curvas de retenção de água e de resistência do solo à penetração. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1-10, 2008.

TAVARES FILHO, J.; TESSIER, D. Compressibility of Oxisol aggregates under no-till in response to soil water potential. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 33, p. 1525-1533, 2009.

TORMENA, C.A.; SILVA, A.P.; LIBARDI, P.L. Caracterização do intervalo hídrico ótimo de um Latossolo Roxo sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 22, p. 573-581, 1998.

Caracterização da resistência em populações das pragas de grãos armazenados *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Lasioderma serricorne* ao inseticida deltametrina

MONICO, N. A.¹; LORINI, I.²; QUIRINO, J. R.³; ROSA, E. S.³; SOUZA, T. A.³; QUEIROZ, C. A. R.³

¹UNOPAR, Londrina, PR, naianemonico@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR; ³Caramuru Alimentos S. A., Rio Verde, GO.

Introdução

As pragas de produtos armazenados ocorrem em todo o mundo, causando sérias perdas quando não são implantadas medidas de controle adequadas. Elas são caracterizadas por elevada capacidade reprodutiva e elevado número de gerações em curto período de tempo (Lorini et al., 2002); além de ocasionar danos de deterioração, perfurar os grãos e neles penetrar para completar seu desenvolvimento alimentando-se de todo o interior, diminuindo peso de grão e possibilitando a instalação de outros agentes de deterioração (Lorini et al., 2015). Entre essas pragas, *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis* e *Lasioderma serricorne* se destacam por serem importantes pragas no armazenamento de soja e milho, causando prejuízos se não forem controladas adequadamente (Beckel, 2004; Beckel et al., 2006; Lorini, 2012; Lorini et al., 2015; Ferri et al., 2018).

No controle dessas pragas, o uso de inseticidas químicos é um dos métodos de controle mais empregados na atualidade. Porém, este vem apresentando restrições de uso à medida que surgem problemas de resistência das pragas aos inseticidas utilizados. A seleção de insetos resistentes é um exemplo de evolução das espécies e demonstram como estas podem sobreviver e mudar fisiologicamente devido a grande pressão de seleção dos químicos. Além da seleção de insetos resistentes, a aplicação dos inseticidas permite também a ressurgência das pragas e os surtos de pragas secundárias. Nesse contexto, deltametrina é um dos principais inseticidas usados no armazenamento

de grãos e com várias populações resistentes já registradas (Lorini; Galley, 1996; 1999; Beckel et al., 2002; Lorini et al., 2015).

Segundo Lorini et al. (2015), o manejo da resistência de pragas de grãos armazenados é particularmente importante devido ao pequeno número de ingredientes ativos indicados para o controle dessas pragas, bem como os problemas de resíduos tóxicos nos produtos resultantes da elevação das doses necessárias para efetuar o controle satisfatoriamente.

Assim, este trabalho teve por objetivo determinar, através de bioensaios em laboratório, a resistência de diversas populações de *T. castaneum*, *O. surinamensis* e *L. serricorne* coletadas em diferentes unidades armazenadoras de grãos do país, ao inseticida deltametrina, para apoiar ações de manejo integrado de pragas durante a armazenagem dos grãos.

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.

Para os bioensaios foram utilizadas as seguintes populações de insetos adultos com a respectiva procedência e ano de coleta: para *T. castaneum* as populações TC15 de Palotina, PR (2009); TC22 de Toledo, PR (2008); TC51 de Montividiu, GO (2018); TC52 de Mineiros, GO (2018) e TC53 de Pensão Velha, GO (2018). Para *Oryzaephilus surinamensis* as populações OS13 de Portelândia, GO (2018) e OS14 de Montividiu, GO (2018), para *Lasioderma serricorne* a população LS20 de Londrina, PR (2010).

Os insetos utilizados foram mantidos e multiplicados em laboratório, em frascos de vidros com uma dieta a base de fubá + gérmen de trigo + levedo de cerveja na proporção 5:2:1 e mantidos em sala climatizada com temperatura e umidade do ar de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 5\%$, respectivamente. Para os bioensaios foram usados insetos de 1 a 10 dias de idade.

Para avaliar a resistência das populações, utilizou-se o método já estabelecido pela FAO (1974). O inseticida deltametrina (K-obiol 25® CE) foi diluído em hexano, obtendo-se concentrações letais variáveis de 1% a 0,0001%,

além da testemunha tratada apenas com o solvente, as quais permitem uma grande variação no número de sobreviventes após o contato com a superfície impregnada com o inseticida. Em seguida aplicou-se 1 ml de cada concentração e de hexano (testemunha) em papel filtro de 9 cm de diâmetro, fazendo-se 4 repetições para cada concentração. Aguardou-se 60 minutos para a evaporação total do solvente e após a evaporação, o papel filtro foi acomodado em placas de Petri onde foram liberados 10 insetos em cada placa, totalizando 40 insetos por tratamento e na testemunha.

Após vinte e quatro horas, colocaram-se os insetos no centro da placa de Petri, e após dois minutos de observação fez-se a contagem dos insetos mortos considerando-se assim aqueles que não podiam caminhar normalmente. Para determinação da CL_{50} (concentração letal que causa 50% da mortalidade da população) e demais parâmetros de regressão linear de cada população, os resultados de mortalidade dos bioensaios foram analisados pelo programa estatístico Genstat Software (2003), com análise de variância (ANOVA) e significância pelo teste F ($p \leq 0,05$) para a diferenciação das CL_{50} .

Resultados e Discussão

Os resultados demonstraram fator de resistência de até 234 vezes para adultos de *O. surinamensis*, porém não foi evidenciada resistência para *T. castaneum* e *L. serricornis* ao inseticida estudado (Tabela 1).

Para as populações de *O. surinamensis* avaliadas o fator de resistência foi de 234 para OS13 e de 221 vezes para OS14, com CL_{50} muito superior a população OS1 dos estudos de Beckel et al. (2002). Para as populações de *T. castaneum* TC22, TC51, TC52 e TC53, o fator de resistência foi de 1,4; 1,4; 1,3 e 1,0, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si e da população TC15, considerada suscetível. Já para *L. serricornis*, cuja CL_{50} foi de 1,0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, não foram encontrados trabalhos de resistência ao inseticida deltametrina e nem população suscetível de laboratório, que permitisse comparar e calcular o fator de resistência (Tabela 1).

A resistência é uma resposta genética e evolucionária devido à pressão de seleção dos inseticidas, o que reflete em redução da eficiência de controle. Porém, quando os insetos são mantidos sem pressão de seleção, por algumas gerações, pode ocorrer uma lenta diminuição do fator de resistência à medida que vão se passando as gerações (Lorini; Galley, 1996).

Tabela 1. Valores da CL₅₀ (µg/cm²) para adultos de populações de três espécies pragas de grãos armazenados, expostos ao inseticida deltametrina. Londrina, PR, 2018.

Populações	Ano de coleta	CL ₅₀ (95% I.C.) ²	CL _{99,9} (95% I.C.)	a (±EP)	b (±EP)	Fator de Resistência
<i>Tribolium castaneum</i>						
TC15 ¹	2009	0,397(0,313-0,510) a	17,138(7,679-65,77)	0,758 (±0,140)	1,890 (±0,250)	-
TC22	2008	0,551(0,418-0,733) a	3,472(1,946-12,88)	1,000 (±0,307)	3,867 (±0,800)	1,4
TC51	2018	0,571(0,427-0,790) a	8,400(3,861-41,36)	0,645 (±0,219)	2,646 (±0,481)	1,4
TC52	2018	0,540(0,369-0,800) a	19,62(6,192-305,7)	0,532 (±0,217)	1,979 (±0,422)	1,3
TC53	Pensão Velha, GO	0,392(0,304-0,510) a	7,905(3,910-27,44)	0,963 (±0,190)	2,369 (±0,347)	1,0
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>						
OS13	Portelândia, GO	23,4(18,9-28,00) a	1339,5(701,7-3509)	-2,406 (±0,283)	1,758 (±0,181)	234
OS14	Montividiu, GO	22,1(14,8-30,00) a	745,9(307,0-4682)	-2,718 (±0,566)	2,022 (±0,370)	221
<i>Lasioderma serricorne</i>						
LS20	Londrina	1,00(0,600-3,000)	3095(431,7-123109)	-0,151 (±0,166)	0,929 (±0,150)	-

¹Populações referência de suscetibilidade ao inseticida deltametrina. ² Os valores seguidos com as mesmas letras, para mesma espécie, não são significativamente diferentes entre si pelo teste F, a 5 % de probabilidade. a = coeficiente linear; b = coeficiente angular; EP = Erro Padrão Fator de Resistência para *T. castaneum* = CL₅₀, da população dividido pela CL₅₀ da população TC15; para *O. surinamensis* = CL₅₀ da população OS13 ou OS14 dividido pela CL₅₀ da OS1 (0,10 µg/cm² de BECKEL et al., 2002).

O conhecimento da resistência nas diferentes espécies, é de extrema importância, tendo em vista, o pequeno número de ingredientes ativos indicados para o controle de pragas. Deltametrina é um dos mais importantes inseticidas piretroides recomendados no país como protetor de grãos. A manutenção de um eficiente programa de manejo integrado de pragas de armazenamento, permite preservar a eficácia do inseticida e a qualidade do alimento armazenado (Lorini et al., 2015).

Conclusão

Considerando os resultados encontrados neste trabalho pode-se inferir que há resistência de adultos de *O. surinamensis* de até 234 vezes, porém não foi evidenciada esse problema para *T. castaneum* e *L. serricornis* ao inseticida deltametrina.

Referências

- BECKEL, H. S. **Resistência de populações de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) a inseticidas piretróides e organofosforados, em trigo armazenado.** 2004. 103 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- BECKEL, H. S.; LORINI, I.; LAZZARI, S. M. N. Efeito do sinergista butóxido de piperonila na resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) a deltametrina e fenitrotiom. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 1, p. 110-114, 2006.
- BECKEL, H.; LORINI, I.; LAZZARI, S. M. N. **Deteção da resistência de *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae), praga de grãos de cevada armazenada, a inseticidas químicos.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 7 p. Publicação Online. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 88).
- FAO. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pest to pesticides: tentative method for adults of some major beetle pest of stored cereals with malathion or lindane. **FAO Plant Protection Bulletin**, v. 22, p. 127-137, 1974.
- FERRI, G. C.; LORINI, I.; VENTURA, M. U. Potencial de desenvolvimento de *Lasioderma serricornis* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Anobiidae) em dietas contendo soja. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 21, e2016007, 2018.
- GENSTAT. 7 Committee. **GenStat for Windows**. 7th ed. Oxford: Numerical Algorithms Group, 2003.
- LORINI, I. Insetos que atacam grãos de soja armazenados. In: HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga.** Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 421-444.

LORINI, I.; GALLEY, D. J. Changes in resistance status of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), a pest of stored grain in Brazil, with and without deltamethrin selection. **Resistant Pest Management Newsletter**, v. 8, p. 12- 14, 1996.

LORINI, I.; GALLEY, D. J. Deltamethrin resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), a pest of stored grain in Brazil. **Journal of Stored Products Research**, v. 35, p. 37-45, 1999.

LORINI, I.; KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA-NETO, J. B.; HENNING, A. A.; HENNING, F. A. **Manejo integrado de pragas de grãos e sementes armazenadas**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. 81 p.

LORINI, I.; MORÁS, A.; BECKEL, H. **Pós inertes no controle das principais pragas de grãos armazenados**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 35 p. (Embrapa Trigo. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 8).

Infiltração de água no solo em diferentes sistemas de manejo na região norte do Paraná

SILVA, R. V.¹; SANTOS, E. L.²; PEREIRA, G. S.³; HASS, I. J.⁴; FURLANETTO, R. H.⁵; BALBINOT JUNIOR, A. A.⁶; DEBIASI, H.⁶; FRANCHINI, J. C.⁶

¹Universidade Estadual de Maringá - UEM, Cidade Gaúcha, PR, ray.vendrame@hotmail.com;

²Centro Universitário Assis Gurgacz - FAG, Cascavel, PR; ³Universidade Estadual de Londrina - UEL, Londrina, PR; ⁴Emater, Londrina, PR. ⁵Cooperativa Cocamar, Maringá, PR; ⁶Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

A água é um dos principais fatores limitantes a produção agrícola, sendo sua disponibilidade às culturas dependente da quantidade infiltrada e armazenada no solo. A infiltração é o processo pelo qual parte da água proveniente da chuva entra no solo a partir da superfície, podendo ser percolada ou retida nos poros. Parte da água da chuva ainda pode escoar superficialmente, podendo dar origem ao processo erosivo (Libardi, 2012). O impacto direto da chuva sobre o solo fraciona os agregados, facilitando seu transporte juntamente com os nutrientes essenciais as plantas, ocasionando a eutrofização e assoreamento dos rios. Desta forma, é importante a proteção da superfície do solo com cobertura viva ou morta e a adoção de práticas de manejo que auxiliem na redução da velocidade da enxurrada, aumentando a contenção do escoamento superficial, como a semeadura em nível e o uso de terraços (Cândido et al., 2014).

A presença da cobertura vegetal é essencial no processo de infiltração, pois diminui o impacto da gota de chuva, dissipando sua energia, evitando a desagregação das partículas, o selamento superficial e a ocorrência da erosão. A matéria orgânica do solo é o principal agente de agregação entre as partículas, deixando o meio mais poroso e com maior capacidade de retenção e infiltração de água no solo (Santos; Pereira, 2013). Além da cobertura, também é importante a matéria orgânica (MO) adicionada ao solo na forma de raízes, que são responsáveis pela criação de poros contínuos que favorecem a movimentação ascendente e descendente da água no perfil do solo. A presença de camadas compactadas com menor volume de macroporos, contribuem para a redução do crescimento de raízes em profundidade, reduzindo a taxa de infiltração de água no solo. Deste modo, é importante a introdução no

sistema de produção de espécies vegetais que apresentem alto potencial de produção de biomassa tanto da parte aérea quanto de raízes. Nesse sentido, se destaca o comportamento das forrageiras tropicais em cultivo solteiro ou em consórcio com o milho, como vem sendo praticado com sucesso em várias propriedades da região norte do Paraná (Debiasi et al., 2017).

Em sistemas intensivos de produção, com baixo aporte de material orgânico na forma de palha e raízes, associado com o tráfego intenso de máquinas, como os sistemas predominantes na região norte do Paraná, a degradação da estrutura do solo tem levado a redução da capacidade de infiltração e armazenamento de água no solo. Isto tem contribuído para redução na estabilidade de produção e retorno do processo erosivo em grande parte das propriedades rurais.

Neste contexto, este trabalho teve por objetivo, avaliar o comportamento da taxa de infiltração de água no solo, em função do tipo e do tempo de adoção do sistema de manejo utilizado em áreas agrícolas de produção de grãos na região norte do Paraná.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido em 17 talhões localizados em dez propriedades agrícolas com diferentes históricos de manejo, localizadas na região norte do Paraná, conforme a Tabela 1. As propriedades foram selecionadas em parceria com a Emater, Regional de Londrina e Cooperativa Cocamar. As avaliações foram realizadas em dezembro de 2017, quando a cultura da soja se encontrava nos estádios iniciais de desenvolvimento, com seis repetições em cada talhão. A taxa de infiltração estável de água no solo (TIE) foi determinada com auxílio de um infiltrômetro construído conforme as especificações descritas por Ogden et al. (1997). Para as medidas, o reservatório de água do infiltrômetro era posicionado sobre um cilindro metálico com diâmetro de 24 cm e altura de 15 cm, previamente inserido a uma profundidade de 2,0 cm, com auxílio de um macaco hidráulico lastreado por um trator. O volume de chuva aplicado era determinado por meio de um sistema que permite a regulação da entrada de ar no sistema (Santi et al., 2006). Para determinar a TIE, foi simulada uma chuva com intensidade de aproximadamente 300 mm h⁻¹. Com essa intensidade de chuva ocorre uma rápida saturação do solo, oca-

sionando o escoamento superficial. O escoamento superficial é determinado pelo volume de água coletado por uma mangueira posicionada em um orifício de 1 cm² localizado ao nível do solo na parte externa do cilindro. A TIE é obtida pela diferença entre o volume de chuva aplicado e o volume de água escoada superficialmente. As leituras do volume de água no reservatório e de água escoada superficialmente, foram realizadas a intervalos de 3 minutos. As avaliações se prolongaram até a estabilização das leituras de escoamento, o que durou em média 60 minutos por ponto.

Tabela 1. Sistemas de manejo e tempo de adoção em áreas agrícolas utilizadas para avaliação da taxa de infiltração básica de água no solo na região Norte do Paraná. Safra 2017/18.

Cidade	¹ Manejo
Londrina	4 anos ML+Braq ML/SJ
Cambé	5 anos ML+Braq 2 anos ML+Braq
Ivatuba	3 anos ML+Braq 6 anos rotação ML/SJ/TR
Primeiro de Maio	3 anos ML+Braq ML/SJ
Alvorada	4 anos ML+Braq ML/SJ
Cambira	1 ano Braq ML/SJ
Cafeara	2 anos ML+ Braq
Sertanópolis	1 anos Braq
São Jorge do Ivaí	9 anos ML+Braq ML/SJ
Ângulo	ML/SJ

¹ML: milho; Braq: *braquiaria*; SJ: soja; TR: trigo

Resultados e Discussão

Os 17 talhões avaliadas apresentaram diferentes TIE, de acordo com o histórico e o tempo de adoção dos sistemas de manejo (Figura 1). Na ausência de uma classificação para a TIE na literatura, nos propusemos a classificação apresentada na Figura 1. Os sistemas de manejo, em plantio direto consolidado, com a sucessão soja/milho 2ª safra, apresentaram infiltração média menor que 30 mm h^{-1} . No sistema soja/milho 2ª safra, a produção de biomassa de parte aérea é relativamente baixa, o que deixa o solo exposto ao impacto direto da chuva. Estimativas da cobertura do solo indicam que, no momento da semeadura da soja, apenas 40% do solo está protegido pela palha do milho 2ª safra (Franchini et al., 2011). Associado a isto, a colheita da soja e a semeadura do milho ocorrem nos meses de janeiro e fevereiro, os mais chuvosos do ano, favorecendo a compactação do solo. A exposição do solo ao impacto direto da chuva devido à baixa taxa de cobertura e o aumento do grau de compactação devido ao intenso tráfego de máquinas agrícolas sob condições de solo plástico, têm sido indicadas como causas da redução da TIE e aumento do escoamento superficial, contribuindo para o agravamento dos processos erosivos (Klein, 2010; Mancuso et al., 2014). A compactação é uma das principais causas de redução da qualidade física do solo, aumentando sua densidade e resistência mecânica, reduzindo a porosidade total e a capacidade de infiltração de água. Essas modificações limitam o crescimento radicular e diminuem a disponibilidade de água e oxigênio no solo, comprometendo também a produtividade das culturas (Franchini et al., 2011).

Os talhões com sistemas mais diversificados pelo uso da rotação de culturas e a introdução de *Urochloa ruziziensis* em consorcio com o milho até 2 anos, apresentaram TIE entre 30 a 49 mm h^{-1} (Figura 1). A prática de rotação de culturas, possibilita a diversificação de sistemas radiculares que favorecem no incremento da TIE, devido ao aumento de bioporos (Prando et al., 2010). Martins e Santos (2017) observaram aumentos significativos na TIE com o uso da rotação de culturas quando comparado com a sucessão de culturas (soja/milho 2ª Safra) no SPD. A introdução da *U. ruziziensis* em consorcio com o milho 2ª safra por um ou dois anos demonstrou contribuir para a melhoria da TIE, provavelmente pelo aumento do aporte de biomassa na superfície do solo e também de raízes dentro do solo, melhorando a estrutura e gerando poros contínuos que favorecem a infiltração.

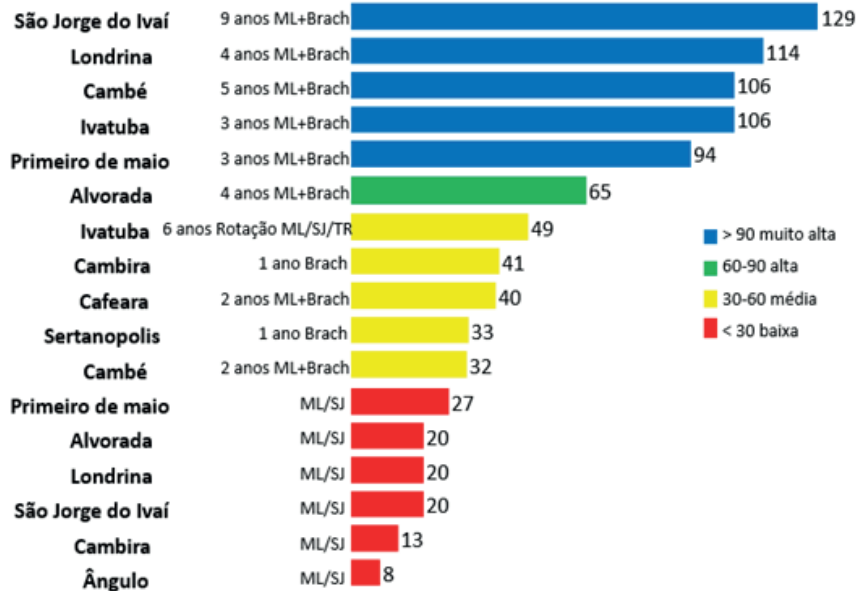


Figura 1. Taxa de infiltração básica de água no solo - TIE (mm h⁻¹) em 17 talhões, com diferentes sistemas de manejo e tempos de adoção, na região Norte do Paraná. Safra 2017/18.

Os talhões com tempo de inserção da *U. ruziziensis* entre 3 e 9 anos, apresentaram valores da TIE variando entre 65 e 129 mm h⁻¹. Ao avaliarem os atributos físicos do solo sob consórcio de milho e diferentes forrageiras em sucessão com soja, Mendonça et al. (2013) observaram uma redução nos valores de densidade do solo, em primeiro lugar pela ação direta do sistema radicular das gramíneas na melhoria da estrutura e em segundo lugar pela decomposição da massa radicular, que contribuiu na formação de poros permanentes, aumento de macroporos e diminuição da compactação. O sistema radicular da *U. ruziziensis* é eficiente em promover a estruturação adequada do solo, devido à formação de agregados estáveis, proporcionando assim um ambiente favorável para o desenvolvimento radicular da soja. Diante disso, com a presença da *U. ruziziensis*, as raízes da soja passam a se desenvolver em maior volume no solo (Salton; Tomazi, 2014).

As diferenças observadas na TIE em função do tempo de adoção do consórcio de milho 2^a safra com *U. ruziziensis*, indicam que o processo de melhoria da qualidade da estrutura do solo é lento e gradual sendo necessários vários

anos para que sejam atingidos altos níveis de TIE. A variabilidade do efeito do tempo de adoção do consórcio sobre a TIE, também pode estar associada a condição previa de qualidade da estrutura do solo no momento da adoção do sistema. Deste modo, áreas com menor nível de qualidade de estrutura do solo demandariam mais tempo de adoção para recuperação da estrutura e vice-versa.

Conclusão

Os sistemas de manejo do solo avaliados interferem diretamente na taxa de infiltração de água no solo, sendo este efeito associado à diversificação e tempo de adoção.

A diversificação de culturas e o consórcio do milho 2ª safra contribuem para melhoria da taxa de infiltração e água no solo ao longo do tempo por meio da reestruturação do solo.

Referências

- CÂNDIDO, B. M.; SILVA, M. L. S.; CURTI, N.; BATISTA, P. V. G. Erosão hídrica pós-plantio em florestas de eucalipto na Bacia do Rio Paraná, no Leste do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 38, n. 5, p. 1585-1575, 2014.
- DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; BALBINOT JUNIOR, A. A.; BETIOLI JUNIOR, E.; NUNES, E. S.; FURLANETTO, R. H.; MENDES, M. R. P. **Alternativas para diversificação de sistemas de produção envolvendo a soja no norte do Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2017. 55p. (Embrapa Soja. Documentos, 398).
- FRANCHINI, J. C.; DA COSTA, J. M.; DEBIASI, H.; TORRES, E. **Importância da rotação de culturas para a produção agrícola sustentável no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 50p. (Embrapa Soja. Documentos, 327).
- KLEIN, C. **Propriedades físico-hídrico-mecânicas de um Latossolo Vermelho em plantio direto escarificado sobre o rendimento de grãos de milho**. 2010. 120 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.
- LIBARDI, P. L. **Dinâmica da água no solo**. 2 ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2012. 346 p.
- MANCUSO, M. A.; FLORES, B. A.; DA ROSA, G. M.; SCHROEDER, J. K.; PRETTO, P. R. P. Características da taxa de infiltração e densidade do solo em distintos tipos de cobertura de solo em zona urbana. **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas**, Santa Maria, v. 14, n. 1, p. 2890-2998, 2014.
- MARTINS, F. P.; SANTOS, E. L. dos. Taxa de infiltração da água e a resistência do solo a penetração sob sistemas de uso e manejo. **Acta Iguazu**, Cascavel, v. 6, n. 4, p. 28-40, 2017.

MENDONÇA, V. Z.; MELLO, L. M. M.; ANDREOTTI, M.; PEREIRA, F. C. B. L.; LIMA, R. C.; FILHO, W. V. V.; YANO, E. H. Avaliação dos atributos físicos do solo em consórcio de forrageiras e milho em sucessão com soja em região de cerrados. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 37, n. 1, p. 254-259, 2013.

OGDEN, C. B.; VAN ES, H. M.; SCHINDELBECK, R. R.; Miniature rain simulator for field measurement of soil infiltration. **Soil Science Society of American Journal**, v. 61, n. 4, p. 1041-1043, 1997.

PRANDO, M. B.; OLIBONE, D.; OLIBONE, A. P. E.; ROSOLEM, C. A. Infiltração de água no solo sob escarificação e rotação de culturas. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, p. 693-700, 2010.

SALTON, J. C.; TOMAZI, M. **Sistema radicular de plantas e qualidade do solo**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2014. 6p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Comunicado Técnico, 198).

SANTI, A. L.; AMADO, T. J. C.; SCHENATO, R. B.; BELLE, G. L.; PES, L. Z.; DELLAMEA, R. B. C.; PIZUTTI, L. Infiltração de água no solo, em áreas com diferentes potenciais de produtividade e manejadas com técnicas de agricultura de precisão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGRICULTURA DE PRECISÃO, 2., 2006, São Paulo. **Anais...** São Paulo: ESALQ/USP, 2006.

SANTOS, J. N.; PEREIRA, E. D. Carta de susceptibilidade a infiltração da água no solo na sub-bacia do Rio Maracanã-MA. **Cadernos de Pesquisa**, São Luis, v. 20, p. 63-71, 2013.

Análise da disponibilidade hídrica nas safras 2016/2017 e 2017/2018 para a cultura da soja em Londrina, Paraná

SOARES, D. A.¹; PINTO, G. O. A.²; SIBALDELLI, R. N. R.³; MERTZ-HENNING, L. M.⁴; NEPOMUCENO, A. L.⁴; NEUMAIER, N.⁴; FARIAS, J. R. B.⁴

¹Unifil, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, daninunsurri@hotmail.com; ²Universidade Estadual de Londrina; ³Matemático, Especialista em Estatística; ⁴Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

A cultura da soja tem se tornado cada vez mais significativa para a economia brasileira, colocando o Brasil no segundo lugar entre os maiores produtores do mundo com uma produção de 119,518 milhões de toneladas de grãos (safra de 2017/2018), segundo levantamento de maio de 2018 da Conab (2018). No entanto, esse sucesso é extremamente dependente das condições do clima, tornando o entendimento das exigências climáticas da cultura e das relações solo-planta-atmosfera importante contribuinte na redução dos riscos de insucesso da produção agrícola (Farias et al., 2007).

Dentre os estresses abióticos responsáveis por perdas na produtividade agrícola, a escassez de água é a mais preocupante, sendo o déficit hídrico a principal causa de queda na produção de soja no Brasil, intensificado quando atrelado a altas temperaturas (Farias et al., 2007). Isso porque a água está diretamente relacionada com todo o desenvolvimento da planta, participando de processos bioquímicos e fisiológicos essenciais como o transporte de nutrientes, atividade fotossintética e equilíbrio térmico.

A disponibilidade hídrica para a o cultivo de soja deve ser bem distribuída durante todo o ciclo produtivo, podendo o excesso ou a falta de água prejudicar drasticamente o seu potencial de rendimento. Para a obtenção do máximo rendimento da sojicultura é necessário entre 450 a 800 mm de água/ciclo da cultura, variando de acordo com as condições climáticas do local, o manejo da cultura e a duração do ciclo (Tecnologias, 2013). A soja possui duas fases onde a disponibilidade hídrica é mais crítica: a da semeadura à emergência, quando a falta de água afeta o estabelecimento das lavouras e a população de plantas; e a da floração ao enchimento de grãos, mais relacionada à formação do rendimento de grãos (Farias et al., 2011).

A variação no rendimento de produção de um cultivo como reflexo das condições de disponibilidade de água é identificada a partir dos históricos do regime hídrico do local, sendo o balanço hídrico climatológico importante ferramenta de associação entre a ocorrência de déficit ou excesso hídrico em fases críticas do desenvolvimento da planta e a possível consequência de baixa no rendimento a partir do comportamento apresentado pela cultivar.

Este trabalho teve como objetivo o conhecimento das condições de disponibilidade hídrica nas safras de 2016/2017 e 2017/2018 através da análise do balanço hídrico climatológico obtido a partir de dados climáticos coletados na fazenda da Embrapa Soja no município de Londrina, norte do Paraná, visando à interpretação do comportamento da cultura diante das variações das condições hídricas.

Material e Métodos

A coleta dos dados necessários para o trabalho foi realizada na estação meteorológica instalada na fazenda da Embrapa Soja Londrina-PR, localizada a 23°11' S, 51°11' W e 630m de altitude, nos períodos de outubro/março das safras de 2016/2017 e 2017/2018 (Sibaldelli; Farias, 2018). Os dados climáticos coletados foram analisados no Laboratório de Agrometeorologia que faz parte da equipe de Ecofisiologia da Embrapa Soja.

Os dados coletados nestas duas safras e utilizados neste trabalho foram comparados as médias obtidas pelo IAPAR, em uma série histórica de 1976 a 2017 (IAPAR, 2018) para o município de Londrina (Tabela 1).

Para a elaboração do balanço hídrico, desenvolvido por Thornthwaite e Mather (1955), é necessário que se conheça a CAD, que consiste na Capacidade de Água Disponível no solo; a medida total de chuva e a estimativa da evapotranspiração potencial de cada período. Dessa forma, o balanço hídrico permite a dedução da evapotranspiração real, a deficiência ou excedente hídrico e o total de água retida no solo (Pereira, 2005).

Para a realização do cálculo foi utilizada uma planilha do Microsoft Excel™ desenvolvida por Rolim et al. (1998), baseada no método de Thornthwaite e Mather (1955) e dividida por decêndio (Bergamaschi et al., 1992), onde deve ser inserido os dados de temperatura média e precipitação total de cada decêndio, a localização e a Capacidade de Água Disponível (CAD) no solo cultivado. Para este trabalho, foi assumida uma CAD de 75mm (Farias et al., 2001).

Tabela 1. Médias históricas da temperatura média do ar e precipitação pluviométrica acumulada mensalmente, durante as safras de verão, observadas em Londrina, no IAPAR, no período de 1976 a 2017.

Mês	Temperatura do ar (°C)	Precipitação pluviométrica (mm)
Outubro	22,2	150,6
Novembro	23,1	167,7
Dezembro	23,8	207,8
Janeiro	23,9	221,5
Fevereiro	24,0	188,6
Março	23,5	135,8
Total	-	1072,0
Média	23,4	-

Resultados e Discussão

Os dados da safra 2016/2017 estão apresentados na Tabela 2. Foram identificados déficits hídricos pouco significativos ao longo da safra: no primeiro decêndio de outubro, nos primeiros decêndios de novembro, no primeiro e terceiro decêndio de fevereiro e terceiro decêndio de março. Em contrapartida, o excesso hídrico apresentou altos índices nos meses de outubro, dezembro, janeiro e março. O total de precipitação ocorrida nesta safra foi de 1009,9 mm, valor pouco abaixo da média histórica que é de 1072 mm (Tabela 1).

Em relação às temperaturas do ar ocorridas durante a safra 2016/2017, não houve grandes diferenças quando estas são comparadas às médias históricas medidas no IAPAR.

Na Tabela 2 estão apresentados os dados da safra 2017/2018. Conforme pode ser analisado nesta tabela, os déficits hídricos ocorridos não demonstraram relevância, sendo identificados no segundo decêndio de outubro, no primeiro decêndio de dezembro, primeiro e terceiro decêndio de fevereiro e segundo decêndio de março. Assim como na safra de 2016/2017, o excesso hídrico foi mais acentuado, apresentando altos índices de outubro a março. Comparada às médias históricas (Tabela 1), as chuvas ocorridas neste período de 2017/2018 estiveram acima da média, apresentando um total de 1321,9 mm de precipitação.

Tabela 2. Balanço Hídrico Climatológico segundo Thornthwaite e Mather (1955). Londrina, PR, safra 2016/2017.

Mês	Decêndio	Temperatura (°C)	Precipitação (mm)	ETP (Thornthwaite 1948)	ETR (mm)	Déficit (mm)	Excesso (mm)
Outubro	1	19,4	4,6	22,02	14,2	7,9	0
	2	24,1	165,6	37,66	37,7	0	89,5
	3	20,8	96,3	29,62	29,6	0	66,7
Novembro	1	23,2	10,5	35,7	31,9	3,8	0
	2	21,5	7,1	29,95	21,2	8,8	0
	3	23,9	46,1	39,27	39,3	0	0
Dezembro	1	23	67,8	35,96	36	0	3,2
	2	22,5	72,8	34,4	34,4	0	38,4
	3	24,1	82,4	44,73	44,7	0	37,7
Janeiro	1	20,7	80,2	40,02	40	0	40,2
	2	24,9	47,8	38,13	38,1	0	9,7
	3	19,7	113,3	34,89	34,9	0	78,4
Fevereiro	1	20,2	20,8	39,89	37,7	2,2	0
	2	23,2	60,7	44,06	44,1	0	0
	3	22,3	15,7	31,92	30,2	1,7	0
Março	1	23,7	64,7	39	39	0	10,9
	2	24,7	46,4	33,08	33,1	0	13,3
	3	21,9	7,1	33,38	29,3	4,1	0

Temperatura= Temperatura do ar média; Precipitação= Precipitação pluviométrica acumulada; ETP= Evapotranspiração potencial; ETR= Evapotranspiração real.

Tabela 3. Balanço Hídrico Climatológico segundo Thornthwaite e Mather (1955). Londrina, PR, safra 2017/2018.

Mês	Decêndio	Temperatura (°C)	Precipitação (mm)	ETP (Thornthwaite 1948)	ETR (mm)	Déficit (mm)	Excesso (mm)
Outubro	1	20,7	87,8	25,6	25,6	0	4,1
	2	24,9	13,1	40,9	36,3	4,6	0
	3	19,7	169,4	26,0	26,0	0	120,1
Novembro	1	20,2	89,7	25,4	25,4	0	64,3
	2	23,2	65,9	35,9	35,9	0	30,0
	3	22,3	48,1	33,0	33,0	0	15,1
Dezembro	1	23,7	23,3	38,5	37,1	1,5	0
	2	24,7	50,8	42,9	42,9	0	0
	3	21,9	258,1	35,5	35,5	0	216,7
Janeiro	1	21,8	101,0	31,9	31,9	0	69,1
	2	22,2	112,7	33,2	33,2	0	79,5
	3	23,9	54,8	42,9	42,9	0	11,9
Fevereiro	1	23,2	31,3	35,9	35,8	0,1	0
	2	21,3	62,6	28,8	28,8	0	29,3
	3	23,3	2,1	28,2	24,1	4,1	0
Março	1	24,4	73,5	38,7	38,7	0	12,7
	2	25,9	14,8	43,9	38,9	5,0	0
	3	22,4	62,9	33,6	33,6	0	5,2

Temperatura= Temperatura do ar média; Precipitação= Precipitação pluviométrica acumulada; ETP= Evapotranspiração potencial; ETR= Evapotranspiração real.

Já em relação à temperatura do ar, as médias ocorridas durante a safra de 2017/2018 apresentaram-se um pouco abaixo das médias históricas medidas no IAPAR.

Apesar de identificados déficits hídricos durante as safras de 2016/2017 e 2017/2018, os baixos índices sugerem que a falta de água não tenha sido o suficiente para que houvesse maiores implicações na implantação ou estabelecimento da cultura. No caso de 2016/2017, por registrar déficit hídrico no início da safra, um dos períodos mais críticos de disponibilidade hídrica, pode ter acarretado um pequeno atraso na semeadura, o que não necessariamente significa limitações relevantes à produtividade de grãos.

Em contrapartida, em ambas as safras, a chuva excessiva foi o fator de maior destaque. Na safra de 2016/2017, apesar do total de precipitação se apresentar próximo da média histórica, houve um excesso hídrico significativo, especialmente nos meses de outubro, dezembro e janeiro, o que pode ter provocado algumas implicações no desenvolvimento da cultura. Diferentemente da safra anterior, na safra de 2017/2018 o excesso hídrico apresentou alto índice, ultrapassando a média história em quase 250 mm, o que certamente provocou alterações no decurso da safra. O elevado volume pluviométrico pode ter provocado, também, menor luminosidade e disponibilidade de radiação solar ao desenvolvimento da cultura.

Além da ocorrência de chuva, outros fatores climatológicos interferem na disponibilidade hídrica, um deles a temperatura, que influencia diretamente na evapotranspiração e conseqüentemente no maior consumo de água disponível. Durante as safras analisadas, as médias das temperaturas se apresentaram abaixo da média histórica, o que certamente provocou uma diminuição da evapotranspiração, podendo dessa forma ter acentuado possíveis efeitos do excesso hídrico ocorrido.

O excesso de chuva e dias nublados podem prejudicar a fotossíntese, o arejamento do solo, o desenvolvimento das raízes, a fixação do nitrogênio, interferir em outros processos e causar várias anomalias no desenvolvimento da soja, reduzindo o rendimento de grãos (Farias et al., 2007).

Conclusão

As safras de 2016/2017 e 2017/2018 não apresentaram déficit hídrico relevante para o rendimento de grãos. Ambas as safras apresentaram excedente hídrico, sendo que na safra de 2017/2018, os valores de precipitação estiveram acima da média histórica. Com o balanço hídrico climatológico foi calculada a disponibilidade hídrica de cada safra, possibilitando posteriormente sua utilização para a obtenção de relações entre o rendimento produtivo e as condições climatológicas ocorridas.

Referências

- BERGAMASCHI, H. Desenvolvimento de déficit hídrico em culturas. In: BERGAMASCHI, H. (Coord). **Agrometeorologia aplicada à irrigação**. Porto Alegre: UFRGS, 1992. p. 25-32.
- CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira**: grãos, v. 5, safra 2017/18, n. 8, oitavo levantamento, maio 2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>>. Acesso em: 29 mai. 2018.
- FARIAS, J. R. B. Limitações climáticas à obtenção de rendimentos máximos de soja. In: CONGRESO DE LA SOJA DEL MERCOSUR, 5.; FORO DE LA SOJA ASIA, 1., 2011, Rosário. **Un grano**: un universo. [Rosário: Asociación de la Cadena de la Soja Argentina], 2011. 4 p. 1 CD-ROM.
- FARIAS, J. R. B.; ASSAD, E. D.; ALMEIDA, I. R. de; EVANGELISTA, B. A.; LAZAROTTO, C.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L. Caracterização de risco de déficit hídrico nas regiões produtoras de soja no Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v. 9, n.3, p. 415-421, 2001.
- FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 8 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 48).
- IAPAR. **Médias históricas em estações do IAPAR**. Disponível em: <http://www.iapar.br/arquivos/Image/monitoramento/Medias_Historicas/Londrina>. Acesso em: 29 mai. 2018.
- PEREIRA, A. R. Simplificando o balanço hídrico de Thornthwaite-Mather. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 2, p. 311-313, 2005.
- ROLIM, G. S.; SENTELHAS, P. C.; BARBIERI, V. Planilhas no ambiente EXCEL para os cálculos de balanços hídricos: normal, sequencial, de cultura e de produtividade real e potencial. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Santa Maria, v. 6, p. 133-137, 1998.
- SIBALDELLI, R. N. R.; FARIAS, J. R. B. **Boletim agrometeorológico da Embrapa Soja, Londrina, PR - 2017**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 29 p. (Embrapa Soja. Documentos, 399).
- TECNOLOGIAS de produção de soja - Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção,16).
- THORNTHWAITE, C.W.; MATHER, J.R. The water balance. **Publications in Climatology**, v. 8, n.1, 1955. 104p.

Soma térmica na determinação do desenvolvimento fenológico de milho superprecoce

PINTO, G. O. A.¹; SOARES, D. A.²; OLIVEIRA JUNIOR, A. de³; SIBALDELLI, R. N. R.⁴; GONÇALVES, S. L.³; MERTZ-HENNING, L. M.³; NEPOMUCENO, A. L.³; NEUMAIER, N.³; FARIAS, J. R. B.³

¹Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, gustavookano@gmail.com; ²Unifil, Graduanda em Agronomia, Bolsista PIBIC/CNPq; ³Pesquisador, Embrapa Soja; ⁴Matemático, Especialista em Estatística.

Introdução

O uso diversificado de produtos à base de milho (*Zea mays* L.) torna este um dos mais cultivados, tendo significativa importância social e econômica. Destinado tanto à alimentação humana, quanto à alimentação animal, serve de matéria-prima para as mais diversas indústrias (Fornasieri Filho, 2007).

O conhecimento dos estádios fenológicos aliados às exigências climáticas da cultura, são fundamentais para a obtenção de altas produtividades. As fases fenológicas do milho são determinadas pelas unidades térmicas diárias, como os graus-dia (GD), das quais derivam o acúmulo térmico. Segundo Matzenauer (1997), a previsão dos estádios fenológicos é importante no planejamento das épocas de semeaduras mais rentáveis e também nos estudos de adaptação de cultivares.

O conceito de GD é utilizado para antecipar ou prever acontecimentos fenológicos, bem como para o zoneamento agroclimático das culturas, sendo um parâmetro eficaz, de elevada precisão para o planejamento das lavouras de milho e auxiliando o produtor rural na sua tomada de decisão (Wagner et al., 2011).

O ciclo do milho pode ser dividido em duas grandes fases de desenvolvimento, a vegetativa e a reprodutiva. De acordo com a escala fenológica de Fancelli (1986), os estádios vegetativos são aqueles que antecedem o florescimento e englobam o período de crescimento e desenvolvimento da planta, sendo identificados pelo número de folhas totalmente expandidas. Os estádios reprodutivos ocorrem após o florescimento da planta (fase reprodutiva), compreendendo a polinização, o enchimento e a maturação dos

grãos. A identificação dos estádios reprodutivos é baseada na presença das estruturas reprodutivas e no desenvolvimento dos grãos (Kiniry; Bonhomme, 1991). Assim, identificar e conhecer os estádios fenológicos torna-se necessário para potencialização dos componentes de rendimento de grãos e, conseqüentemente, aumento da produtividade.

Diante desse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a metodologia de soma térmica na determinação das fases fenológicas do ciclo vegetativo de híbrido de milho superprecoce no município de Londrina, norte do Estado do Paraná.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na área experimental da Embrapa Soja, na segunda safra 2017, com a semeadura do milho após a lavoura de soja. A área localiza-se na latitude 23°11'37"S, longitude 51°11'03"O e altitude aproximada de 630m no município de Londrina, PR. De acordo com a classificação climática de Köppen, o clima da região é do tipo Cfa. A temperatura média anual é de 21,1°C e a precipitação média anual acumulada é de 1.439,5 mm (Sibaldelli; Farias, 2018).

A semeadura do milho ocorreu no dia 15 de março de 2017, com espaçamento de 50 cm entre linhas, 3,5 sementes por metro linear, utilizando-se o híbrido Dow AgroSciences 2B655PW. Para o controle de percevejos, foi aplicado o inseticida Engeo Pleno, 0,3 L ha⁻¹ em 200 L ha⁻¹. O híbrido utilizado apresenta características de precocidade e alto adensamento: 62.000 plantas ha⁻¹.

Foram obtidos dados meteorológicos oriundos da Estação Meteorológica Automática, localizada na área experimental, para aplicação na equação de graus-dia, a fim de obter-se os valores de acúmulo térmico, por todo o ciclo da cultura:

$$GDA = \sum_{i=VE}^{VT} \left(\frac{TM + Tm}{2} \right) - Tb \quad \text{Eq. 1}$$

onde, GDA = Graus-dia acumulado (°C); TM = Temperatura do ar máxima (°C); Tm = Temperatura do ar mínima (°C); Tb = Temperatura basal inferior (°C); VE = estágio de emergência; VT = estágio de pendoamento.

Conforme Silva et al. (2006), a redução da produtividade e a composição nutricional do grão podem ser alteradas em temperaturas maiores que 35°C, assim como temperaturas abaixo de 12,8°C. Por isso, segundo Monteith e Elston (1996), assume-se a temperatura basal inferior igual a 10°C e temperatura basal superior de 32°C nos cálculos para GDA.

Resultados e Discussão

Os dados de temperatura do ar durante o ciclo da cultura, máximas e mínimas, estão apresentados na Figura 1, com as respectivas temperaturas basais, inferior e superior.

Em leitura a campo, verificou-se que o milho atingiu o momento do pendoamento (estádio VT) 59 dias após a emergência (Tabela 1).

Aplicando a equação da soma térmica para o período, obteve-se o valor de 634,6 GDA até o estágio VT (Tabela 1), resultado condizente para um material genético que, segundo Fancelli (1986), possui exigências térmicas menores do que 830 GD e assim são classificados como de ciclo superprecoce.

O híbrido semeado neste trabalho possui a classificação de superprecoce de acordo com seu obtentor, classificação esta corroborada pelo resultado obtido utilizando-se a equação da soma térmica.

Conforme Gadioli et al. (2000), o método de soma térmica é eficiente para determinação de estádios fenológicos, porém outros fatores climáticos podem interferir, como por exemplo o regime pluviométrico, influenciando na duração (encurtando ou alongando) do ciclo do milho.

Nas diversas regiões brasileiras o milho consome, em média, de 450 a 600 mm de água durante todo o seu ciclo (Matzenauer et al., 1998). Neste trabalho, a precipitação pluviométrica acumulada da semeadura (15/03/2017) até a colheita (04/09/2017) do milho foi de 505,4 mm, dentro das exigências mínimas. Até o momento do pendoamento (estádio VT) já haviam sido acumulados 348,1 mm.

Analisando as exigências climáticas de diferentes genótipos, Zucareli et al. (2010) verificaram que é vantajoso, para cultivo em segunda safra em Londrina, PR, o uso de híbridos de ciclo curto, de modo que a cultura atinja os estádios de pendoamento e enchimento de grãos antes de possíveis geadas e/ou estiagens, evitando perdas de produção e produtividade.

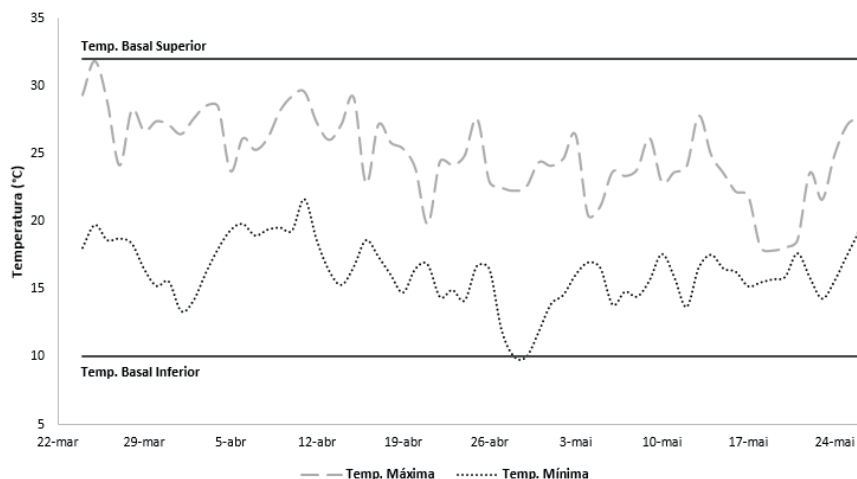


Figura 1. Temperaturas do ar máximas e mínimas (°C); linhas superiores e inferiores representam as temperaturas basais para a cultura do milho, em cultivo de segunda safra, em Londrina-PR, 2017.

Tabela 1. Data de ocorrência, graus-dia (GD), graus-dia acumulados (GDA) e duração de estádios fenológicos do milho híbrido Dow AgroSciences 2B655PW, em cultivo de segunda safra, em Londrina,PR, 2017.

Estádio Fenológico	Data	GD	GDA	Duração
VE	24/mar	-	-	-
VE-V3	03/abr	135,3	-	10
V3-V5	10/abr	90,7	226,0	7
V5-V7	17/abr	86,9	312,9	7
V7-V8	24/abr	68,0	380,9	7
V8-V10	03/mai	79,5	460,4	9
V10-V12	08/mai	44,6	505,0	5
V12-VT	22/mai	129,6	634,6	14
Total			634,6	59

Conclusão

O milho híbrido Dow AgroSciences 2B655PW acumula 634,6 graus-dia, durante os 59 dias de sua fase vegetativa, em cultivo de segunda safra, em Londrina, PR.

Referências

- FANCELLI, A. L. **Plantas alimentícias**: guia para aula, estudo e discussão. Piracicaba: ESALQ-USP, 1986. 131 p.
- FORNASIERI FILHO, D. **Manual da cultura do milho**. Jaboticabal: FUNEP, 2007. 576 p.
- GADIOLI, J. L.; DOURADO NETO, D.; GARCÍA, A. G.; BASANTA, M. V. Temperatura do ar, rendimento de grãos de milho e caracterização fenológica associada à soma calórica. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 3, p. 377-383, 2000.
- KINIRY, J. R.; BONHOMME, R. Predicting maize phenology. In: HODGES, C. (Ed.). **Predicting crop phenology**. Boca Raton: CRC Press, 1991. p. 115-131.
- MATZENAUER, R. Caracterização fenológica de cultivares de milho em avaliação no Estado do Rio Grande do Sul. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DO MILHO, 42.; REUNIÃO TÉCNICA DO SORGO, 25., 1997, Erechim. **Anais...** 1997 p. 334-341.
- MATZENAUER, R.; BERGAMASCHI, H.; BERLATO, H. A. Evapotranspiração - II: relações com a evapotranspiração do tanque classe A e com evapotranspiração de referência e com radiação solar global, em três épocas de semeadura. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v. 6, n. 1, p. 15-21, 1998.
- MONTEITH, J. L.; ELSTON, J. Climatic constraints on crop production, In: FOWDEN, L.; MANSFIELD, T.; STODDART, J. (Ed.). **Plant adaptation to environmental stress**. London: Chapman & Hall, 1996. p. 3-18.
- SIBALDELLI, R. N. R.; FARIAS, J. R. B. **Boletim agrometeorológico da Embrapa Soja, Londrina, PR - 2017**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 29 p. (Embrapa Soja. Documentos, 399).
- SILVA, W. J. da; SANS, L. M. A.; MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Exigências climáticas do milho em sistema de plantio direto. **Informe Agropecuário**, v. 27, n. 233, p. 14-25, 2006.
- WAGNER, M. V.; JADOSKI, S. O.; LIMA, A. S.; MAGGI, M. F.; POTT, C. A.; SUCHORONCZEK, A. Avaliação do ciclo fenológico da cultura do milho em função da soma térmica em Guarapuava, Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, v. 4, n. 1, p. 135-149, 2011.
- ZUCARELI, C.; CARMEIS FILHO, C. A.; GONÇALVES, M. S.; OLIVEIRA, M. A. Acúmulo de graus dias, ciclo e produtividade de cultivares de milho de segunda safra para a região de Londrina-PR. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA DO CARTUCHO, 4., 2010, Goiânia. **Potencialidades, desafios e sustentabilidade: resumos expandidos...** Goiânia: ABMS, 2010. 1 CD-ROM.

Distribuição espacial de *Euschistus heros* em soja no estádio R5.4

SCARPARO, T.P.¹; OLIVEIRA, M.C.N. de²; ROGGIA, S.²

¹Universidade Pitágoras Unopar, Londrina, PR, thaispollman@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

Durante o processo de produção da soja, alguns fatores implicam na redução da produtividade dessa leguminosa ou limitam a expansão para novas áreas, destacando-se entre esses fatores, as intempéries climáticas, plantas invasoras, doenças e pragas. Embora as pragas tenham suas populações reduzidas por predadores, parasitoides e entomopatógenos, elas frequentemente atingem níveis populacionais elevados, causando perdas significativas e necessitando serem monitoradas. Dentre as pragas da cultura da soja estão algumas espécies de percevejos sugadores de vagens e sementes (*Euschistus heros*, *Piezodorus guildinii* e *Nezara viridula*), dentre outras espécies, que causam danos desde a formação das vagens até o final do enchimento dos grãos (Hoffman-Campo et al., 2012). Os percevejos atingem as sementes introduzindo seu aparelho bucal nos legumes, tornando-as chochas e enrugadas, afetando, conseqüentemente, a produção e a qualidade dos grãos (Galileo; Heinrichs, 1978).

Os percevejos sugadores de sementes colonizam as plantas de soja no final do período vegetativo (V6-V8), época em que os percevejos saem da quiescência ou de plantas hospedeiras e migram para a soja (Corrêa-Ferreira et al., 2009). Com o desenvolvimento das vagens as populações de percevejos tendem a crescer podendo atingir níveis elevados entre o final do desenvolvimento das vagens (R3) e início de enchimento de grãos (R5), período em que a soja é mais sensível ao ataque desses insetos (Corrêa-Ferreira; Panizzi, 1999). Durante o período crítico de ataque (R3 ao R6) é importante que os níveis de ação recomendadas pelo MIP soja, sejam utilizados, sendo as medidas de controle realizadas sempre que a população, nesse período, atingir um ou dois percevejos por metro de fileira em lavoura de produção de sementes ou grãos, respectivamente (Tecnologias..., 2013).

Em geral, a dispersão dos percevejos apresenta-se em reboleiras e não se conhece a forma de entrada na área experimental. Uma alternativa para se conhecer esta dispersão é conhecer métodos de manejo de pragas e um método estatístico para estimar possíveis perdas na produção de soja, face ao ataque destas pragas. Sendo assim, uma maneira de identificar esse evento espacial é realizando amostragem georreferenciada sistematizada e o método de análise sugerido é o geoestatístico com estimativas obtidas pela krigagem ordinária e que, vem crescendo em aplicações agrícolas. Com ela, podemos estimar o valor de uma dada propriedade para um local onde não foi medida, utilizando em função de correlação espacial entre os dados sem viés e com variância mínima (Vieira et al., 1983). Para que o método georreferenciado seja eficiente é necessário utilizar métodos de controle estatístico de qualidade como o boxplot e as cartas de controle para detectar possíveis informações anômalas no conjunto de dados que interfira na resposta. Esses métodos são usados com frequência nas indústrias para prevenir e identificar a ocorrência de perdas de peças com defeitos e, este método pode ser usado também na pesquisa agrônômica.

O objetivo deste trabalho foi detectar como ocorre a distribuição espacial de *Euschistus heros* no campo experimental na fase reprodutiva da soja (R5.4) e planejar medidas e ações eficientes de manejo e controle de pragas, por meio de mensuração da continuidade espacial dos insetos adultos da referida espécie, na cultura da soja, com a aplicação do método geoestatístico.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na área experimental da Embrapa Soja, na Fazenda Maravilha, com as coordenadas 23° 28' 44" S; 50° 59' 03" O, e altitude média de 465 m, com área de aproximadamente 3,38 ha. As amostragens foram sistematizadas, ou seja, georreferenciadas numa grade de 10 X 10 metros e em cada ponto amostral realizaram-se quatro batidas de panos num metro linear e, calculada a média dos insetos encontrados no estádio reprodutivo da soja R5.4 (Figura 1). Anterior ao estudo geoestatístico foram aplicados métodos exploratórios para verificar a ocorrência de valores discrepantes e se os dados apresentavam distribuição normal aproximada no conjunto de dados. Dentre esses métodos o boxplot e as cartas de controle foram aplicados para identificar valores que podem inibir a eficiência dos resultados

da pesquisa. Na contagem de insetos da espécie *E. heros*, no estado fenológico da soja R5.4, foi avaliado se os dados georreferenciados apresentavam continuidade espacial, por meio de semivariogramas. Ajustou-se aos dados as estruturas de covariância exponencial (1), esférica (2) e gaussiana (3) pelo método geoestatístico. A interpolação dos dados foi realizada pela krigagem ordinária e é uma combinação linear de valores amostrados e valores atribuídos a cada amostra vizinha (Oliveira, 2003). O mapa de superfície foi realizado pelo Surfer (version 9.9.785 – mar 26.2010), com os dados suavizados pela krigagem ordinária. O programa GEOST foi utilizado para estimar os parâmetros: o efeito nugget, o patamar e o alcance dos semivariogramas das estruturas de covariâncias ajustadas (Vieira et al., 1983).

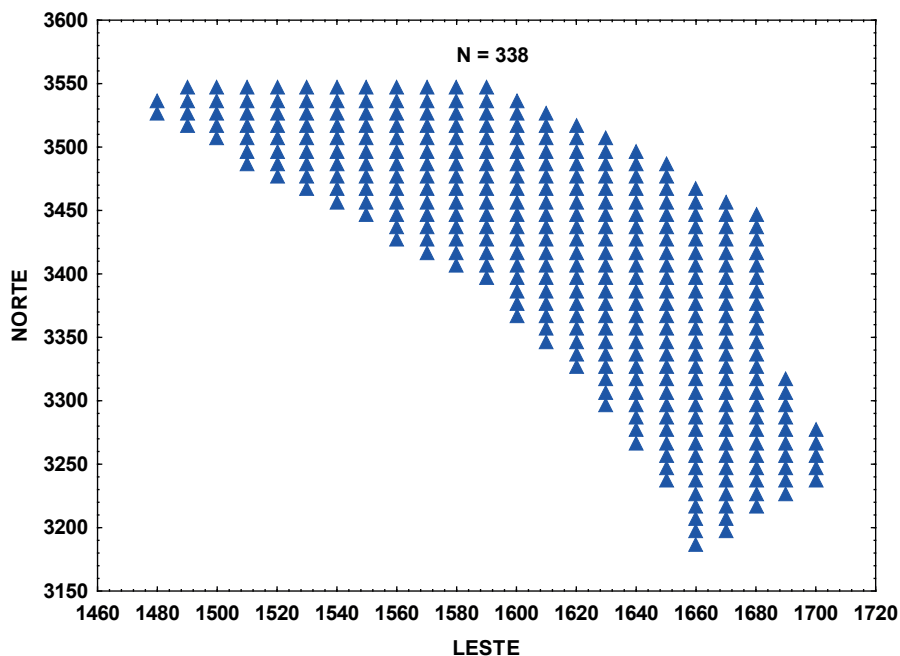


Figura 1. Mapa da distribuição de *Euschistus heros* no campo experimental da Embrapa Soja, Distrito da Maravilha com as coordenadas Norte e Leste.

Resultados e Discussão

Análise exploratória pelas estatísticas clássicas

Pelos resultados encontrados foram observados que os valores de contagem média de quatro batidas de pano de *E. heros* variaram de 0,755 até 12,008. Com os dados originais foi detectado assimetria e curtose maiores do que zero, indicando a presença de *outliers*. Após frequentes retiradas de valores discrepantes estas estatísticas foram se aproximando da normalidade. Foi ainda observado que o conjunto de dados não apresentou distribuição normal pelo teste de Shapiro e Wilk (1965), devido a impossibilidade de controle da migração de percevejos na área experimenta, explicando assim a ausência de normalidade da contagem insetos (Tabela 1 e Figura 2).

Tabela 1. Estatísticas descritivas para a contagem de *Euschistus heros* (adulto) com e sem *outliers*. Fazenda Maravilha, ano agrícola 2011.

Estatísticas	Dados Originais	Com outliers	Com outliers	Sem outliers
N	338	317	309	295
Assimetria	0,9670	0,6039	0,4405	0,2444
Curtose	1,3043	-0,0806	-0,3688	-0,5831
Shapiro & Wilk (W)	0,9321	0,1696	0,2061	0,1749
Pr (W)	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
Amplitude	11,2530	7,5000	6,4980	5,5000
Média	3,9462	3,7216	3,6156	3,4591
Mediana	3,5050	3,5030	3,5000	3,2550
Moda	2,5050	2,5050	2,5050	2,5050
Mínimo	0,7550	0,7550	0,7550	0,7550
Máximo	12,0080	8,2550	7,2530	6,2550
Variância	3,4348	2,5624	2,1800	1,7382
Desvio Padrão	1,8533	1,6007	1,4765	1,3184
CV (%)	46,9549	43,0100	40,0800	38,1100

Pr= Probabilidade, CV = Coeficiente de Variação (%) W= Teste de Normalidade Shapiro & Wilk

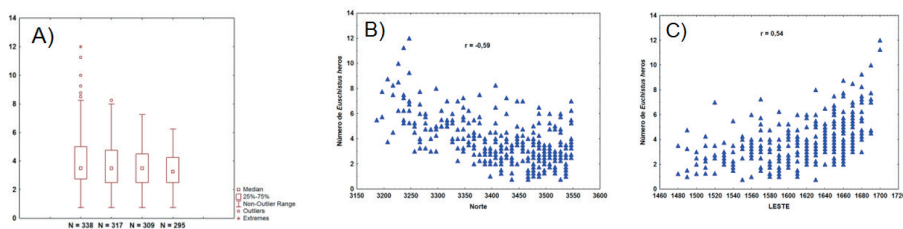


Figura 2. Boxplot para contagem de *Euschistus heros* com e sem outliers (A), Distribuição espacial dos percevejos no sentido Norte (B) e no sentido Leste (C).

Análise exploratória pelas estatísticas gráficas.

As informações gráficas também indicaram que a contagem de insetos de percevejos adultos da espécie *Euschistus heros* ocorreram valores que não são representativos para a distribuição populacional desta espécie (Figura 2 e 3).

As Cartas de Controle são mais rigorosas para detectar outliers do que o Boxplot (Figura 2 A). Na Figura 3 A, 13 pontos em vermelho estão acima da linha limitrofe superior que, indica valor discrepante considerando o rigor do desvio padrão (σ). Com valores iguais e sobrepostos totalizaram 21 outliers retirados da primeira vez. Foram observados que ainda restaram outros outliers (Figura 3 B) e, em seguida, foi continuado o processo de retirada de pontos discrepantes (Figura 3 C). Com os dados uniformes (N=295) a contagem de insetos está dentro da faixa aceitável com redução do desvio padrão e outliers comparando com a amostra com N= 338. Ainda na Figura 3D existem oscilações dos valores médios entre os limites da carta de controle, mas, tem-se que ter critério para saber quando encerrar o processo de retirada de valores desiguais ao conjunto de dados. O próximo passo foi verificar como estava a distribuição espacial de *E. heros*.

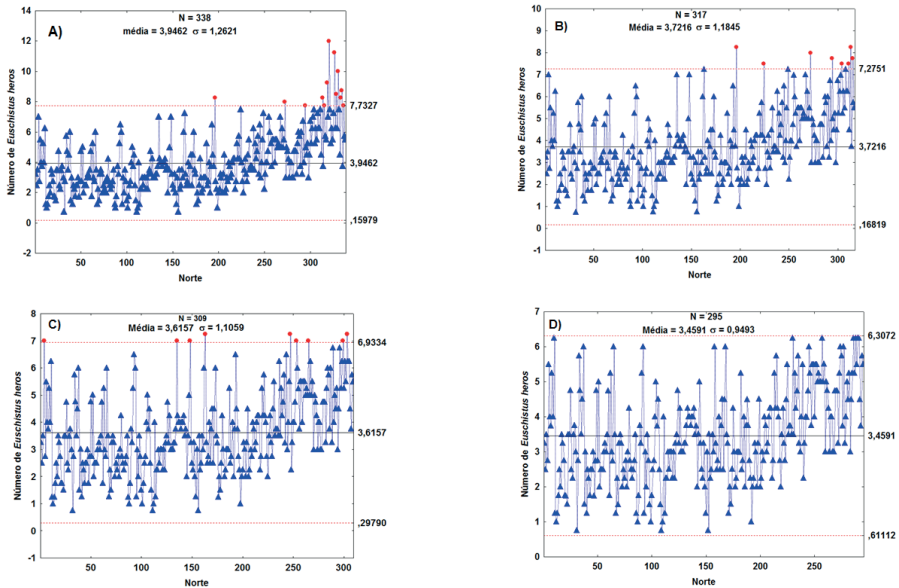


Figura 3. Cartas de controle para contagem de *Euschistus heros* na presença e ausência de *outliers*. A) N=338, B) N=317, C) N=309 e D) N=295, utilizando o rigor do desvio padrão entre (-3, +3).

Análise geoestatística

Com os resultados da análise exploratória e retirados os *outliers* foi possível realizar o estudo geoestatístico. Foram retiradas tendências reduzindo a variabilidade e o melhor modelo que apresentou dependência espacial bem definida foi o parabólico. Esse estudo indicou que a estatística $F=57,80$ foi significativa para a regressão de segundo grau associado aos parâmetros do modelo geoestatístico, o que permitiu obter três estruturas de covariâncias com valores de resíduos baixos como os semivariogramas exponencial, esférico e gaussiano (Tabela 2). É desejável que os ajustes dos semivariogramas com os resíduos de tendência aos dados de contagem de percevejos apresentem sempre a menor variância nugget e nesse estudo o modelo exponencial que apresentou o melhor ajuste aos dados, se considerarmos que obteve menor valor do efeito nugget ou efeito pepita, ($C_0 = 0,87541$) e o alcance amostral de 68,97 metros foi a estrutura de covariância exponencial. Em estudos futuros a equidistância entre pontos georreferenciados devem ser aproximadamente 69 metros como obtidos pelo ajuste deste modelo (Tabela 2, Figuras 4 A, B e C).

Tabela 2. Estimativas dos parâmetros geoestatísticos, coeficiente de determinação e quadrado médio do erro para a variável número de insetos da espécie *Euschistus heros*, no estágio fenológico da soja R5.4.

Modelos	Efeito Pepita (C0)	Patamar (C)	Alcance (a)	Coefficiente de Determinação R ²	Quadrado Médio Residual
Exponencial	0,87541	0,41033	68,97439	0,99846	0,00386
Esférico	0,98116	0,30572	81,00066	0,99877	0,00337
Gaussiano	1,02654	0,25999	68,10704	0,99869	0,00349

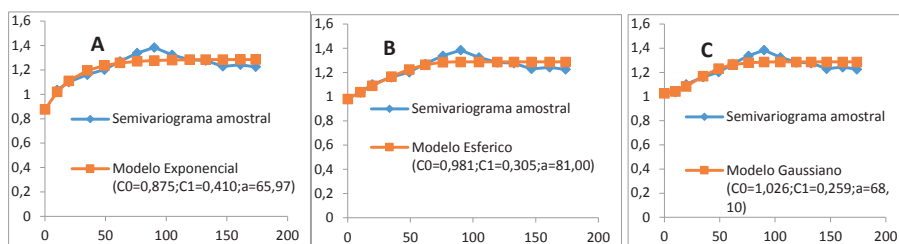


Figura 4. Eixo Y: Semivariâncias dos resíduos. Eixo X: Distâncias em função do número de passos (14). Estruturas de covariâncias pelos modelos: A) Exponencial, B) Esférico e C) Gaussiano, ajustados aos dados de contagem de percevejos, da espécie *Euschistus heros*, na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, Distrito da Maravilha, Ano 2011.

Todos os modelos da Figura 4 apresentaram dependência espacial bem definida, ou seja, houve variância inicial não controlada mínima (0,87, 0,98 e 1,03) e crescimento até certo ponto, estabilizando em patamares variando 0,25 a 0,41 aproximadamente. O alcance onde se determina o final da dependência e inicia-se a aleatorização dos dados variou de 68,10 a 81,00.

Em posse do modelo com os resíduos de tendências e que melhor ajustou aos dados foram gerados os mapas que indicam a dispersão espacial dos percevejos na área experimental antes e após a krigagem ordinária (Figuras 5 A e B). Antes da krigagem o mapa foi realizado conforme as coletas de insetos amostradas de 10 em 10 metros (Figura 5 A) e com as distâncias suavizadas pelo interpolador de krigagem ordinária (Figura 5 B) foram obtidos os novos valores estimados para as coordenadas e o número de insetos.

Observando-se a Figura 5 B foi detectada uma região maior com maior número de insetos oriundos da região da mata.

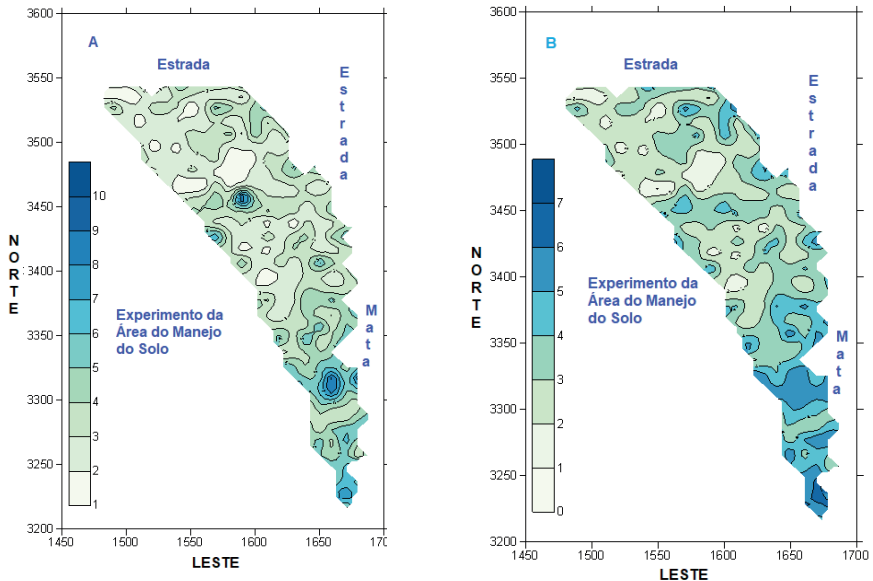


Figura 5. A) Mapa com valores médios de quatro batidas de pano antes da krigagem ordinária e sem retirada de valores discrepantes. B) Mapa com o ajuste aos dados com Estrutura e Covariância Exponencial com interpolação da krigagem ordinária e retirada de *outliers* para a contagem média de percevejos, da espécie *Euschistus heros*, na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, Distrito da Maravilha, Ano 2011.

Conclusão

Foi possível obter continuidade espacial no levantamento de *E. heros*, no estágio reprodutivo da soja (R5.4). A análise exploratória permite identificar *outliers* no conjunto de dados. O maior número de percevejos em (R5.4) migrou da mata para a área experimental. O modelo exponencial ajusta bem aos dados apresentando menor variância estrutural. A determinação dos locais onde a densidade de *E. heros* alcança os níveis de ação permitirá um manejo em áreas bem definidas, com menor impacto ambiental, e mais eficiente de suas populações. Futuramente o pesquisador poderá iniciar novas pesquisas a cada 69 metros.

Agradecimentos

Agradecemos aos colegas Tania Fagundes e Rubson Natal Ribeiro Sibaldelli pela valorosa contribuição na orientação do uso dos programas Geoest e Surfer, bem como a pesquisadora Beatriz Spalding Corrêa-Ferreira e aos revisores do Comitê Local de Publicação.

Referências

- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MINAMI, C. A. **Percevejos e a qualidade da semente de soja - série sementes**. Londrina: Embrapa Soja, 2009. 15p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 67).
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1999. 45p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 24).
- GALILEO, M. H. M.; HEINRICHS, E. A. Efeito dos danos causados por *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) (Hemiptera, Pentatomidae), em diferentes níveis e épocas de infestação, no rendimento de grãos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 7, p. 20-25, 1978.
- HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros Artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 859 p.
- OLIVEIRA, M. C. N. de. **Métodos de estimação de parâmetros em modelos geoestatísticos com diferentes estruturas de covariância: uma aplicação ao teor de cálcio no solo**. 2003. 138 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba.
- SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**, v. 52, p. 591-611, 1965.
- TECNOLOGIAS de produção de soja – Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja 2013. 265p. (Embrapa Soja. Sistema de Produção, 16).
- VIEIRA, S. R.; HATFIELD, J. L.; NIELSEN, D. R.; BIGGAR, J.W. Geoestatistical theory and application to variability of some agronomical properties. **Hilgardia**, Berkeley, v. 5, n. 3, p. 1-75, 1983.

Hospedabilidade do nabo forrageiro (*Raphanus sativus*) a populações de *Aphelenchoides besseyi*

CALANDRELLI, A.¹; SILVA, M. C. M. da¹; FRANÇA, P. P.¹; FAVORETO, L.²; MEYER, M. C.³

¹Unifil, bolsista Faped, Londrina, PR, a.calandrelli@hotmail.com; ²EPAMIG Oeste, Uberaba, MG; ³Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

O nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) é uma planta anual e herbácea da família Brassicaceae, introduzida no Brasil na década de 1980 como fonte de biomassa, principalmente para cobertura do solo, tornando-se uma importante opção para a recuperação da estrutura física e da fertilidade do solo. É empregada na alimentação animal e como planta de cobertura ou adubo verde de inverno, pois permite a ciclagem e a rápida liberação de nutrientes para as culturas sucessoras, apresenta elevada produção de massas verde e seca em sistemas de cultivo conservacionistas, como o plantio direto, e ainda, atua como descompactadora biológica do solo (Crusciol et al., 2005; Sá, 2005).

Esta oleaginosa apresenta-se ainda, como uma excelente e promissora fonte para produção de biodiesel, pois suas sementes possuem um elevado teor de óleo de alta qualidade, com uma maior estabilidade oxidativa, menor degradação e menor quantidade de resíduos sólidos no biodiesel, com relativa facilidade de extração (Silva et al., 2005; Cremonez et al., 2013).

O nabo forrageiro também se destaca como uma espécie utilizada no pré-cultivo de culturas como algodão, feijão, milho e soja por realizar a ciclagem de nutrientes, principalmente o nitrogênio fósforo e potássio (Crochemore; Piza, 1994; Martins; Rosa Junior, 2005; Calegari, 2001; Giacomoni et al. 2003). Desta maneira, a utilização de determinadas espécies vegetais para a cobertura do solo e/ou adubação verde é prática recomendada pela pesquisa e em uso por agricultores há vários anos, principalmente no Sistema Plantio Direto e em sistemas de rotação de culturas (Salton et al., 1995). Porém, há o risco de tais plantas serem hospedeiras de patógenos mesmo na entressafra, podendo ser fonte de inóculo de doenças para as culturas, como é o caso

da palhada de braquiária (*Urochloa ruziziensis*) que pode favorecer a sobrevivência do nematoide foliar *Aphelenchoides besseyi* (Meyer et al., 2017a).

No Brasil, *A. besseyi* é o agente causal da haste verde e retenção foliar, conhecida popularmente como Soja Louca II, causando perdas de produtividade de até 60% na cultura, principalmente em regiões quentes e chuvosas como os estados do Maranhão, Tocantins, Pará e Mato Grosso (Meyer et al., 2017b). Os principais sintomas dessa anomalia são retenção foliar e haste verde, além do abortamento prematuro de vagens. Além da soja, *A. besseyi* pode causar doenças como a ponta branca no arroz, “amachamiento” do feijoeiro na Costa Rica, enfezamento do morangueiro e ainda, é relatado atacando o algodão, plantas ornamentais, algumas plantas daninhas e está associado a sementes de gramíneas forrageiras (Cares et al., 2008; Chaves et al., 2013; Favoreto et al., 2011, 2015; Embrapa, 2017).

Aphelenchoides besseyi é considerado um fitoparasita não obrigatório que se alimenta de órgãos aéreos de plantas de maneira endo ou ectoparasita. Na ausência de hospedeiros pode sobreviver de forma saprofítica no solo ou em plantas em decomposição, através da micofagia, ou ainda, utilizar o mecanismo adaptativo chamado anidrobiose, o qual permite sua sobrevivência e disseminação por longos períodos de tempo (Cares et al., 2008; Jesus, 2015; Lopes, 2015). Diante disso, se faz necessário o estudo do círculo de hospedeiros deste nematoide bem como suas formas de sobrevivência nas plantas e nas lavouras.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a hospedabilidade do nabo forrageiro às populações de *A. besseyi* provenientes de plantas de arroz, soja e algodão, e ainda, confirmar a relação parasitária deste nematoide com a cultura da soja.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na Embrapa Soja, Londrina, PR, em casa de vegetação e nos laboratórios de Nematologia e Fitopatologia.

Inicialmente, os nematoides foram extraídos de plantas de soja, arroz e algodão, coletadas do campo já infectadas com *A. besseyi*, pelo método de Coolen e D’Herde (1972). A multiplicação *in vitro* das populações foi realizada

selecionando os nematoides das suspensões, individualmente, sob microscópio estereoscópico. Um total de 20 indivíduos, 15 fêmeas e 5 machos foram axenizados em solução de ampicilina a 0,1% e inoculados em placas de Petri com colônias de *Fusarium* sp. de cinco dias de crescimento em meio batata-dextrose-ágar (BDA) (Favoreto et al., 2011). Cada população pura de *A. besseyi* foi mantida em câmaras tipo BOD a 25 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$), no escuro, até o momento da inoculação.

O experimento foi realizado em delineamento com blocos casualizados, com plantas de nabo forrageiro (cv. 'IPR 116') e soja (cv. 'BMX Potência'), três populações de *A. besseyi* (provenientes de arroz, soja e algodão) e seis repetições.

Em vasos com capacidade para 3,5 litros de solo, contendo uma mistura de solo e areia (2:1) previamente esterilizados, foram semeadas três sementes por vaso, sendo realizado o desbaste após a emergência das plântulas, restando apenas uma planta por vaso.

A inoculação com as três populações de *A. besseyi* foi feita aos 14 dias após a semeadura. A obtenção dos inóculos das populações puras de nematoides ocorreu por meio da preparação de suspensões dos mesmos em água, coletando-se os nematoides pela lavagem da parte interna das tampas das placas de Petri com jatos d'água de uma pisseta. A concentração das suspensões de nematoides foi ajustada, com auxílio de câmara de contagem de Peters em microscópio óptico para obtenção de uma população inicial de 500 indivíduos por planta.

A inoculação foi realizada com micropipeta (capacidade de 1000 μL), depositando-se uma alíquota do inóculo (500 indivíduos por planta) em um orifício aberto no solo, ao lado do colo da planta, seguida de irrigação leve.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com nebulizações frequentes (15 segundos a cada trinta minutos) e temperatura média de 26 °C ($\pm 2^\circ\text{C}$). Aos 30 dias após a inoculação a parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular, seccionando-a logo abaixo do primeiro nó. As amostras foram colocadas em sacos plásticos, devidamente identificados e levadas ao laboratório de nematologia, onde a massa total da parte aérea de cada planta foi aferida e processada segundo Coolen e D'Herde (1972). A estimativa da

população dos nematoides de cada planta foi feita ao microscópio óptico com uma câmara de contagem de Peters e os dados convertidos em quantidade de nematoide por grama de tecido.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo método de Scott-Knott, com o auxílio do software SASM-Agri (Canteri et al., 2001).

Resultados e Discussão

Os valores das populações finais (PF) encontradas nas espécies estão representadas na Tabela 1. As PFs variaram de 0,0 a 466,9 nematoides/g tecido (Tabela 1).

Tabela 1. População final (PF) de *Aphelenchoides besseyi* encontrados na parte aérea de nabo forrageiro e soja, inoculados com populações de *Aphelenchoides besseyi* provenientes de soja (Pop. Soja), algodão (Pop. Algodão) e arroz (Pop. Arroz).

Cultura	PF (nematoide / g de tecido)						CV (%)
	pop. Soja		pop. Algodão		pop. Arroz		
Nabo forrageiro (IPR 116)	5,7	b A	2,7	b B	0,7	b C	40,3
Soja (BMX Potência)	303,9	a B	466,9	a A	102,0	a C	28,1
CV (%)	50,4		23,9		19,1		

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições.

Considerando-se ainda a cultura da soja, as médias de PF decorrentes da inoculação das três populações de *A. besseyi* formaram diferentes grupamentos estatísticos, com maior média para a população oriunda de algodão, seguida da oriunda da soja e do arroz, com valores de 466,9; 303,9 e 102,0 nematoides/g tecido, respectivamente (Tabela 1).

Para a cultura do nabo forrageiro, o mesmo efeito foi observado, com três grupamentos estatísticos distintos de PF para as populações de *A. besseyi* inoculados, com maior média para a população proveniente de soja, seguido da proveniente de algodão e de arroz, com valores de 5,7; 2,7 e 0,7 nematoides/g tecido, respectivamente (Tabela 1).

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que o nabo forrageiro apresentou médias de PF significativamente inferiores às observadas em soja, independentemente da origem das populações de *A. besseyi* inoculadas (Tabela 1), não representando uma cultura que oferece grande risco à produção de algodão e arroz, se utilizada em sucessão.

Conclusão

O nabo forrageiro IPR 116 pode ser considerado má hospedeira para as populações de *A. besseyi* provenientes de soja e algodão, assim como não hospedeira da população proveniente de arroz, nas condições do ensaio.

Referências

- CALEGARI, A. Sustentabilidade sim. In: ENCONTRO DE PLANTIO DIRETO NO CERRADO, 5., 2001, Dourados. **Anais...** Dourados: UFMS/Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. p. 23-28.
- 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 Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, n. 2, p. 18-24, 2001.
- CARES, J. E.; SANTOS, J. R. P.; TENENTE, R. C. V. Taxonomia de nematoides de sementes, bulbos e caules – parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 16, p. 39-84, 2008. Disponível em: <<http://docentes.esalq.usp.br/sbn/rapp/rapp21.pdf>>. Acesso em: 24 jun. 2018.
- CHAVES, N.; CERVANTES, E.; ZABALGOGEAZCOA, I., ARAYA, C. M. *Aphelenchoides besseyi* Christie (Nematoda: Aphelenchoididae), agente causal del amachamiento del frijol común. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 3, p. 243-252, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762013000300009>. Acesso em: 24 jun. 2018.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agricultural Research Center, 1972. 77 p.
- CREMONEZ, P. A.; FEIDEN, A.; CREMONEZ, F. E.; ROSSI, E. de; ANTONELLI, J.; NADALETI, C.; TOMASSONI, F. Nabo forrageiro: do cultivo a produção de biodiesel. **Acta Iguazu**, v. 2, n. 2, p. 64-72, 2013.
- CROCHEMORE, M. L.; PIZA, S. M. T. Germinação e sanidade de sementes de nabo forrageiro conservadas em diferentes embalagens. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 677-680, 1994.
- CRUSCIOL, C. A. C.; COTTICA, R. L.; LIMA, E. V.; ANDREOTTI, M.; MORO, E.; MARCON, E. Persistência de palhada e liberação de nutrientes do nabo forrageiro no plantio direto. **Pesquisa**

Agropecuária Brasileira, v. 40, n. 2, p. 161-168, 2005. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2005000200009>. Acesso em: 13 jun. 2018.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Feijão e algodão são hospedeiros do nematoide causador da Soja Louca II**. Set. 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/29877986/feijao-e-algodao-sao-hospedeiros-do-nematoide-causador-da-soja-louca-ii>>. Acesso em: 24 jun. 2018.

FAVORETO, L.; MEYER, M. C.; KLEPER, D.; CAMPOS, L. J. M.; PAIVA, E. V. Ocorrência de *Aphelenchoides* sp. em plantas de soja com sintomas de Soja Louca II. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 32, Nematologia: problemas emergentes e perspectivas, 2015, Londrina. **Anais...** Sociedade Brasileira de Nematologia, 2015. p. 82-83.

FAVORETO, L.; SANTOS, J. M.; CALZAVARA, S. A.; LARA, L. A. Estudo fitossanitário, multiplicação e taxonomia de nematoides encontrados em sementes de gramíneas forrageiras no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 35, n. 1-2, p. 20-35, 2011.

GIACOMINI, S. J.; AITA, C.; HÜBNER, A. P.; LUNKES, A.; GUIDINI, E.; AMARAL, E. B. do. Liberação de fósforo e potássio durante a decomposição de resíduos culturais em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1097-1104, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/%0D/pab/v38n9/18288.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

JESUS, D. S. de. **Taxonomia integrativa de espécies de *Aphelenchoides* associadas a sementes de gramíneas forrageiras e desenvolvimento de diagnóstico baseado em PCR em tempo real**. 2015. 79 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LOPES, C. M. L. **Populações de nematoides fitoparasitas em áreas de cultivo de soja, algodão, café e de vegetação nativa do cerrado na região oeste da Bahia**. 2015. 57 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

MARTINS, R. M. G.; ROSA JUNIOR, E. J. Culturas antecessoras influenciando a cultura de milho e os atributos do solo no sistema de plantio direto. **Acta Science Agronomy**, v. 27, n. 2, p. 225-232, 2005.

MEYER, M. C.; FAVORETO, L.; CALANDRELLI, A.; SILVA, M. C. M. da. Efeito da palhada de braquiária em cobertura de solo, na sobrevivência de *Aphelenchoides besseyi*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 50. 50 anos de fitopatologia: Do manejo à edição do genoma, 2017, Uberlândia-MG. **Anais...** 2017a. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/165942/1/Resumo50CBFito-0428.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2018.

MEYER, M. C.; FAVORETO, L.; KLEPKER, D.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C. Soybean green stem and foliar retention syndrome caused by *Aphelenchoides besseyi*. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 5, p. 403-409, 2017b.

SÁ, R.O. **Variabilidade genética entre progênies de meios irmãos de nabo-forrageiro (*Raphanus sativus* L. var. *oleiferus*) cultivar 'CATI AL 1000'**. 2005. 39 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SALTON, J. C.; PITOL, C.; SIEDE, P. K.; HERNANI, L. C.; ENDRES, V. C. **Nabo forrageiro:** sistemas de manejo. Dourados: Fundação MS para pesquisa e difusão de tecnologias agropecuárias, 1995.

SILVA, A. R. B. da; MARTINEZ, M. M.; MAIA, J. C. de S.; SILVA, M. L. L.; SILVA, T. R. B. Comportamento de cultivares de nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.) em função da variação da população de espaçamento entre linhas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 2, Varginha-MG. **Anais...** Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2005. p.113-117.

Hospedabilidade de arroz e aveia branca a populações de *Aphelenchoides besseyi*

CALANDRELLI, A.¹; SILVA, M.C.M. da¹; FRANÇA, P.P.¹; FAVORETO, L.²; MEYER, M.C.³

¹Unifil, bolsista Faped, Londrina, PR, a.calandrelli@hotmail.com; ²EPAMIG Oeste, Uberaba, MG; ³Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

A produção de arroz pode ser afetada por diversos fatores, dentre estes, as doenças reduzem significativamente a produtividade e a qualidade dos grãos. São registradas em diferentes países mais de 80 doenças causadas por patógenos como fungos, bactérias, vírus e nematoides. Destacam-se a brusone, mancha parda, escaldadura, macha estreita, ponta branca, entre outras (Silva-Lobo; Filippi, 2017). Esta última é causada pelo nematoide *Aphelenchoides besseyi* Christie e responsável por expressivas perdas de produtividade da cultura.

Aphelenchoides besseyi é um fitoparasita não obrigatório que se alimenta de forma endo ou ectoparasita de órgãos aéreos de plantas. Na ausência de plantas hospedeiras, este nematoide tem a habilidade de sobreviver alimentando-se de fungos presentes no solo ou, ainda, utilizar o recurso de anidrobiose, o qual garante sua sobrevivência por longos períodos de tempo (Cares et al., 2008; Jesus, 2015; Lopes, 2015). Esta espécie de nematoide é descrita como agente causal de doenças em culturas como feijão, soja, algodão, morango, plantas ornamentais, associado a sementes de gramíneas forrageiras e algumas plantas daninhas (Cares et al., 2008; Chaves et al., 2013; Favoreto et al., 2011, 2015, 2018; Embrapa, 2017; Meyer et al., 2017).

Na cultura do arroz, este nematoide causa a doença chamada ponta branca com sintomas de clorose no ápice das folhas, distorções foliares, raquitismo de plantas, panículas encurtadas, amadurecimento tardio e depreciação dos grãos. No Brasil, os principais danos ocorreram no Rio Grande do Sul, na década de 60, posteriormente, com a introdução de cultivares tolerantes, as perdas tornaram-se praticamente nulas (Cares et al., 2008; Nunes et al., 2015).

Nesse contexto, a aveia branca (*Avena sativa*) merece atenção quanto a esse patógeno devido a sua proximidade botânica e morfofisiológica ao arroz, além de sua importância agrícola como gramínea de inverno. Apesar de apresentar uma produção nacional relativamente pequena, se comparada às demais culturas, a aveia também é usada como alternativa para produção de forragem, alimentação animal e humana além de cobertura de solo para o Sistema Plantio Direto, com vários benefícios como a supressão de plantas daninhas, controle de alguns nematoides e ciclagem de nutrientes. Sua produção nacional representa 750 mil toneladas, destas, 560 mil são concentradas no Rio Grande do Sul, o maior estado produtor brasileiro (Castro et al., 2012; Conab, 2018).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a hospedabilidade da aveia branca e do arroz às populações de *A. besseyi*, provenientes de plantas de arroz, soja e algodão, e ainda, confirmar a relação parasitária deste nematode com a cultura da soja.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação e nos laboratórios de Nematologia e Fitopatologia, na Embrapa Soja, Londrina, PR, de novembro de 2017 a janeiro de 2018.

Os nematoides foram extraídos de plantas de soja, arroz e algodão, advindas do campo já infectadas com *A. besseyi*, pelo método de Coolen e D'Herde (1972). Posteriormente, foi realizada a multiplicação *in vitro* destas populações selecionando os nematoides, um a um, das suspensões sob microscópio estereoscópio. Um total de 20 indivíduos, sendo 15 fêmeas e 5 machos foram axenizados em solução de ampicilina a 0,1% e inoculados em placas de Petri com colônias de *Fusarium* sp. de aproximadamente cinco dias de crescimento em meio batata-dextrose-ágar (BDA) (Favoreto et al., 2011). Cada população pura de *A. besseyi* foi mantida em câmaras tipo BOD a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), no escuro, até o momento da inoculação.

O experimento foi realizado com delineamento em blocos casualizados, com as culturas do arroz 'Iapar 89', aveia 'IPR Afrodite' e soja 'BMX Potência', três populações de *A. besseyi* (arroz, soja e algodão) e seis repetições.

Em vasos com capacidade para 3,5 litros de solo, contendo uma mistura de solo e areia (2:1) previamente esterilizados, foram semeadas três sementes por vaso, sendo realizado o desbaste após a emergência das plântulas, restando apenas uma planta por vaso.

A inoculação com as três populações de *A. besseyi* foi feita aos 14 dias após a semeadura. A obtenção dos inóculos das populações puras de nematoide ocorreu por meio da preparação de suspensões dos mesmos em água, coletando-se os nematoides pela lavagem da parte interna das tampas das placas de Petri com jatos d'água de uma pisseta. A concentração das suspensões de nematoides foi ajustada, com auxílio de câmara de contagem de Peters em microscópio óptico para obtenção de uma população inicial de 500 indivíduos por planta.

A inoculação foi realizada com micropipeta (capacidade de 1000 μ L), depositando-se uma alíquota do inóculo (500 indivíduos por planta) em um orifício aberto no solo, ao lado do colo da planta, seguida de irrigação leve.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com nebulizações frequentes (nebulização de 15 segundos a cada meia hora) e temperatura média de 26°C (\pm 2°C). Aos 30 dias após a inoculação a parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular, seccionando-a logo abaixo do primeiro nó. Foram colocadas em sacos plásticos, devidamente identificados e levadas ao laboratório de nematologia, onde a massa total da parte aérea de cada planta foi aferida e processada segundo Coolen e D'Herde (1972). A estimativa da população dos nematoides de cada planta foi feita ao microscópio óptico com uma câmara de contagem de Peters e os dados convertidos em quantidade de nematoide por grama de tecido.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo método de Scott-Knott, com o auxílio do software SASM-Agri (Canteri et al., 2001).

Resultados e Discussão

Os valores das populações finais (PF) encontradas nas culturas estão representadas na Tabela 1. Todas as espécies testadas apresentaram o nematoide no interior dos seus tecidos. As PFs variaram de 0,2 a 466,9 nematoides/g tecido (Tabela 1).

Tabela 1. População final (PF) de populações de *Aphelenchoides besseyi* provenientes de soja (pop. Soja), algodão (pop. Algodão) e arroz (pop. Arroz), nas folhas de plantas de arroz, aveia branca e soja.

Cultura	PF (nematóide / g de tecido)			CV (%)
	pop. Soja	pop. Algodão	pop. Arroz	
Arroz	0,2 b B	0,3 b B	1,3 c A	15,5
Aveia branca	423,5 a A	371,0 a A	10,0 b B	49,8
Soja	303,9 a B	466,9 a A	102,0 a C	28,1
CV (%)	21,8	27,4	20,9	

*Médias seguidas de mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Médias de seis repetições. Dados transformados em $\sqrt{x+0,5}$ para análises das PFs de populações de *A. besseyi* em arroz (linha) e das populações de *A. besseyi* provenientes de soja e algodão nas três culturas (colunas).

Todas as populações de *A. besseyi*, independentemente da origem, apresentaram valores de PF significativamente menores em plantas de arroz quando comparados às PFs observadas em plantas de soja e aveia. A população de *A. besseyi* proveniente de arroz também gerou valores de PF inferiores às outras populações, formando grupamentos estatísticos distintos nas três culturas inoculadas, com a maior média (102,0 nematoides/g tecido) na cultura da soja e a menor média no arroz, sua cultura de origem (Tabela 1).

A cultura da aveia branca apresentou maior hospedabilidade às populações de *A. besseyi* provenientes de soja e algodão, respectivamente, enquanto que, a cultura da soja apresentou maior concentração de *A. besseyi* proveniente de plantas de algodão.

A cultura da aveia branca mostrou-se uma excelente hospedeira de *A. besseyi* patogênico à soja e algodão, e com maior potencial de multiplicar o nematóide proveniente de arroz do que a própria cultura do arroz. Os dados obtidos no presente trabalho indicam a necessidade de evitar o uso de aveia branca em áreas infestadas com o nematóide.

Conclusão

Aveia é uma excelente multiplicadora de *A. besseyi* patogênico a soja e algodão e uma boa multiplicadora de *A. besseyi* do arroz.

Soja é eficiente na multiplicação das populações de *A. besseyi* utilizadas neste trabalho.

Referências

- 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 Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, n. 2, p. 18-24. 2001.
- CARES, J. E.; SANTOS, J. R. P.; TENENTE, R. C. V. Taxonomia de nematoides de sementes, bulbos e caules – parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 16, p. 39-84. 2008. Disponível em: <<http://docentes.esalq.usp.br/sbn/rapp/rapp21.pdf>>. Acesso em: 24 jun. 2018.
- CASTRO, G. S. A.; COSTA, C. H. M. da; FERRARI NETO, J. Ecofisiologia da aveia branca. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 3, p. 1-15, 2012.
- CHAVES, N.; CERVANTES, E.; ZABALGOGEAZCOA, I., ARAYA, C. M. Aphelenchoides besseyi Christie (Nematoda: Aphelenchoididae), agente causal del amachamiento del frijol común. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 3, p. 243-252, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762013000300009>. Acesso em: 24 jun. 2018.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agricultural Research Center, 1972. 77 p.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Feijão e algodão são hospedeiros do nematoide causador da Soja Louca II**. Set. 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/29877986/feijao-e-algodao-sao-hospedeiros-do-nematoide-causador-da-soja-louca-ii>>. Acesso em 24 jun. 2018.
- FAVORETO, L.; FALEIRO, V.O.; FREITAS, M.A.; BRAUWERS, L.R.; GALBIERI, R.; HOMIAK, J.A.; LOPES-CAITAR, V.R.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; MEYER, M.C. First report of *Aphelenchoides besseyi* infecting aerial part of cotton plants in Brazil. **Plant Disease**, first look. 2018. Available at: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/PDIS-02-18-0334-PDN>
- FAVORETO, L.; MEYER, M. C.; KLEPER, D.; CAMPOS, L. J. M.; PAIVA, E. V. Ocorrência de *Aphelenchoides* sp. em plantas de soja com sintomas de Soja Louca II. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 32, Nematologia: problemas emergentes e perspectivas, 2015, Londrina. **Anais...** Sociedade Brasileira de Nematologia, 2015. p. 82-83.
- FAVORETO, L.; SANTOS, J. M.; CALZAVARA, S. A.; LARA, L. A. Estudo fitossanitário, multiplicação e taxonomia de nematoides encontrados em sementes de gramíneas forrageiras no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 35, n. 1-2, p. 20-35, 2011.

JESUS, D. S. de. **Taxonomia integrativa de espécies de Aphelenchoides associadas a sementes de gramíneas forrageiras e desenvolvimento de diagnóstico baseado em PCR em tempo real.** 2015. 79 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LOPES, C. M. L. **Populações de nematoides fitoparasitas em áreas de cultivo de soja, algodão, café e de vegetação nativa do cerrado na região oeste da Bahia.** 2015. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

MEYER, M. C.; FAVORETO, L.; KLEPKER, D.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C. Soybean green stem and foliar retention syndrome caused by *Aphelenchoides besseyi*. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 5, p. 403-409, 2017.

NUNES, C. D. M.; MAGALHAES JUNIOR, A. M. de; FAGUNDES, P. R. R.; ALVES, Y. S. Efeitos do nematóide, *Aphelenchoides besseyi*, em cultivares de arroz irrigado nas safras 2012/13 e 2013/14. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 9., 2015, Pelotas. Ciência e tecnologia para otimização da orizicultura: **Anais**. Brasília, DF: Embrapa; Pelotas: Sosbai, 2015.

SILVA-LOBO, V. L.; FILIPPI, M. C. C. de. **Manual de identificação de doenças da cultura do arroz.** Brasília, DF: Embrapa, 2017. 45 p.

Ocorrência de *Aphelenchoides besseyi* em espécies de plantas invasoras

SILVA, M. C. M. da¹; CALANDRELLI, A.¹; FRANÇA, P. P.¹; FAVORETO, L.²; MEYER, M. C.³

¹Unifil, bolsista Faped, Londrina, PR, michelecorporato@gmail.com; ²EPAMIG Oeste, Uberaba, MG; ³Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

Apesar do Brasil ser uma potência mundial na produção de grãos, essa prática apresenta fatores de risco que comprometem a produtividade, como o ataque de pragas e doenças, intempéries climáticas e a incidência de plantas invasoras. A ocorrência de plantas daninhas é um dos fatores mais prejudiciais nas culturas de grãos. Os efeitos negativos causados pela presença dessas plantas não devem ser atribuídos exclusivamente à competição por recursos naturais (água, luz, nutrientes e espaço), mas também a uma série de pressões ambientais, podendo ser diretas como a alelopatia, interferência e depreciação na colheita, e indiretas, como hospedeiras de insetos e patógenos, além de vetores de doenças (Ferreira et al., 2011; Karam et al., 2016; Karam, Melhorança, 2018).

Dentro desse contexto, o nematoide foliar *Aphelenchoides besseyi*, patógeno responsável por causar graves distúrbios em culturas de importância econômica, teve seus primeiros relatos de ocorrência em algumas plantas daninhas (Embrapa, 2017). É um fitoparasita não obrigatório, que se alimenta de órgãos aéreos de plantas de forma endo ou ectoparasita. Na ausência de hospedeiros, pode sobreviver de forma micófaga no solo ou utilizar o mecanismo de anidrobiose, garantindo sua sobrevivência por longos períodos de tempo (Cares et al., 2008; Jesus, 2015; Lopes, 2015).

A. besseyi é o causador de doenças como a ponta branca no arroz, “amachamiento” do feijoeiro na Costa Rica, enfezamento do morangueiro e ainda, ataca o algodão, plantas ornamentais e está associado a sementes de gramíneas forrageiras (Cares et al., 2008; Chaves et al., 2013; Favoreto et al., 2011, 2018). No Brasil, significativas perdas em decorrência deste nematoide têm sido observadas na cultura da soja, causando a chamada Soja Louca II, doença responsável por prejuízos de até 60%, nos estados do Pará,

Amapá, Maranhão, Tocantins e Mato Grosso (Favoreto et al., 2015; Meyer et al., 2017). Assim, é de extrema importância o estudo das preferências alimentares desse patógeno e de suas formas de sobrevivência nas lavouras, para possíveis medidas protetivas.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a hospedabilidade de diversas plantas daninhas, de ocorrência em várias regiões do Brasil, ao nematoide *A. besseyi*, proveniente de plantas de soja infectadas.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Soja, Londrina, PR, em casa de vegetação e nos laboratórios de Nematologia e Fitopatologia.

Inicialmente, os nematoides foram extraídos de plantas de soja já infectadas com *A. besseyi*, provenientes do campo, pelo método de Coolen e D'Herde (1972).

Para a multiplicação *in vitro* dos nematoides, foram selecionados um total de 20 indivíduos, sendo 15 fêmeas e 5 machos das suspensões sob microscópio estereoscópico. Estes, foram axenizados em solução de ampicilina a 0,1% e inoculados em placas de Petri com colônias de *Fusarium* sp. de aproximadamente cinco dias de crescimento em meio batata-dextrose-ágar (BDA) (Favoreto et al., 2011). A população pura de *A. besseyi* foi mantida em câmaras tipo BOD a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), no escuro até o momento da inoculação.

O experimento foi realizado com delineamento em blocos casualizados, com quinze espécies de plantas invasoras: joá-de-capote (*Nicandra physaloides*), corda-de-viola (*Ipomoea grandifolia*), picão-preto (*Bidens pilosa*), trapoeraba (*Commelina benghalensis*), caruru (*Amaranthus viridis*), serralha (*Sonchus oleraceus*), falsa-serralha (*Emilia sonchifolia*), amendoim-bravo (*Euphorbia heterophylla*), vassourinha-de-botão (*Spermacoce verticillata*), capim-colônião (*Panicum maximum*), capim-carrapicho (*Cenchrus echinatus*), capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica*), erva-de-santa-luzia (*Euphorbia pilulifera*), cordão-de-frade (*Leonotis nepetaefolia*) e agriãozinho-do-pasto (*Synedrellopsis grisebachii*), uma população pura de *A. besseyi* e oito repetições.

Em vasos com capacidade para 3,5 litros de solo, contendo uma mistura de solo e areia (2:1) previamente esterilizados, foram semeadas as respectivas espécies. O desbaste foi realizado após a emergência das plântulas, restando quatro plantas por vaso.

A inoculação foi realizada aos 15 dias após a semeadura. A obtenção do inóculo da população pura de nematoide ocorreu por meio da preparação de uma suspensão dos mesmos em água, coletando-se os nematoides pela lavagem da parte interna das tampas das placas de Petri com jatos d'água de uma pisseta. A concentração da suspensão de nematoides foi ajustada, com auxílio de câmara de contagem de Peters em microscópio óptico, para obtenção de uma população inicial de 500 indivíduos por planta.

A inoculação foi realizada com micropipeta (capacidade de 1000 μ L), depositando-se uma alíquota do inóculo (500 indivíduos por planta) em um orifício aberto no solo, ao lado do colo da planta, seguida de irrigação leve.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com nebulizações frequentes (nebulização de 15 segundos a cada meia hora) e temperatura média de 26°C (\pm 2°C). Aos 27 dias após a inoculação ocorreu a primeira extração, a parte aérea de duas plantas de cada vaso foi separada do sistema radicular, seccionando-a logo abaixo do primeiro nó. Foram colocadas em sacos plásticos, devidamente identificados e levadas ao laboratório de nematologia, onde a massa total da parte aérea das plantas foi aferida e processada segundo Coolen e D'Herde (1972). As plantas restantes (duas em cada vaso) foram mantidas em casa de vegetação por mais 15 dias, quando ocorreu a segunda extração pelo mesmo método.

A estimativa da população dos nematoides de cada planta foi feita ao microscópio óptico com uma câmara de contagem de Peters e os dados convertidos em quantidade de nematoide por grama de tecido.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo método de Scott-Knott, com o auxílio do software SASM-Agri (Canteri et al., 2001).

Resultados e Discussão

Constatou-se que joá-de-capote, corda-de-violão, picão-preto, serralha, falsa-serralha, amendoim-bravo, vassourinha-de-botão, capim-colonião, capim-carrapicho, capim-pé-de-galinha, erva-de-santa-luzia não foram hospedeiras do *A. besseyi*.

Agriãozinho-do-pasto, cordão-de-frade, caruru e trapoeraba hospedaram o nematoide conforme Tabela 1.

A população final (PF) de *A. besseyi* encontrada no caruru foi maior nas duas épocas avaliadas (26,1 e 37,0 nematoides/g tecido, respectivamente). Na primeira extração, aos 27 dias, as PFs das demais plantas não diferiram entre si. Na segunda extração o agriãozinho-do-pasto e cordão-de-frade apresentaram valores semelhantes e diferiram das demais plantas invasoras. Com exceção do caruru, que manteve sua população estável desde a primeira avaliação, as demais plantas avaliadas apresentaram PF maior na segunda época de avaliação (Tabela 1). A multiplicação da população de nematoides, em cada planta invasora, entre as épocas avaliadas variaram de 0,7 a 8,7 vezes, sendo a maior variação de PF encontrada na trapoeraba (8,7 vezes maior do que o encontrado na primeira avaliação).

Tabela 1. Avaliação da população final (PF) de *Aphelenchoides besseyi* em duas épocas, nas espécies de plantas invasoras que multiplicaram o nematoide.

Hospedeira	Nematoide / g tecido		CV (%)
	1ª Extração	2ª Extração	
Agriãozinho-do-pasto (<i>Synedrellopsis grisebachii</i>)	2,1 b B	7,2 c A	17,8
Cordão-de-frade (<i>Leonotis nepetaefolia</i>)	0,8 b B	4,8 c A	26,5
Caruru (<i>Amaranthus viridis</i>)	26,1 a A	37,0 a A	33,2
Trapoeraba (<i>Commelina benghalensis</i>)	3,0 b B	26,1 b A	27,1
CV (%)	49,8	25,8	

Médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 5\%$). Médias de oito repetições.

Estes resultados indicam que a presença destas espécies invasoras em lavouras de soja, algodão e demais culturas relatadas como hospedeiras de *A. besseyi* (Cares et al., 2008; Chaves et al., 2013; Favoreto et al., 2011, 2015, 2018; Meyer et al., 2017) podem favorecer a infecção pelo nematoide.

De acordo com Meyer e Klepker (2015), a dessecação antecipada à semeadura da soja, o controle de plantas invasoras na entressafra e o cultivo de milho em segunda safra reduzem a incidência de haste verde e retenção foliar da soja, e os resultados do presente trabalho corroboram este efeito.

Novos estudos deverão ser realizados no intuito de definir qual o melhor momento de se avaliar a PF das espécies. Este é o primeiro relato sobre a hospedabilidade destas plantas ao *A. besseyi*.

Conclusão

Agriãozinho-do-pasto, cordão-de-frade, caruru e trapoeraba são hospedeiros do nematoide, podendo manter, alimentar e multiplicar o agente causal da Soja Louca II.

Referências

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 Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, n. 2, p. 18-24. 2001.

CARES, J. E.; SANTOS, J. R. P.; TENENTE, R. C. V. Taxonomia de nematoides de sementes, bulbos e caules – parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 16, p. 39-84. 2008. Disponível em: <<http://docentes.esalq.usp.br/sbn/rapp/rapp21.pdf>>. Acesso em: 24 jun. 2018.

CHAVES, N.; CERVANTES, E.; ZABALGOGEAZCOA, I.; ARAYA, C. M. *Aphelenchoides besseyi* Christie (Nematoda: Aphelenchoididae), agente causal del amachamiento del frijol común. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n 3, p. 243-252, 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1982-56762013000300009>. Acesso em: 24 jun. 2018.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agricultural Research Center, 1972. 77 p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Feijão e algodão são hospedeiros do nematoide causador da Soja Louca II**. Set. 2017. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/29877986/feijao-e-algodao-sao-hospedeiros-do-nematoide-causador-da-soja-louca-ii>>. Acesso em: 24 jun. 2018.

FAVORETO, L.; FALEIRO, V.O.; FREITAS, M.A.; BRAUWERS, L.R.; GALBIERI, R.; HOMIAK, J.A.; LOPES-CAITAR, V.R.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; MEYER, M.C. First report of *Aphelenchoides besseyi* infecting aerial part of cotton plants in Brazil. **Plant Disease**, first look. 2018. Available at: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdfplus/10.1094/PDIS-02-18-0334-PDN>

FAVORETO, L.; MEYER, M. C.; KLEPER, D.; CAMPOS, L. J. M.; PAIVA, E. V. Ocorrência de *Aphelenchoides* sp. em plantas de soja com sintomas de Soja Louca II. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 32, Nematologia: problemas emergentes e perspectivas, 2015, Londrina. **Anais...** Sociedade Brasileira de Nematologia, 2015. p. 82-83.

FAVORETO, L.; SANTOS, J. M.; CALZAVARA, S. A.; LARA, L. A. Estudo fitossanitário, multiplicação e taxonomia de nematoides encontrados em sementes de gramíneas forrageiras no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 35, n. 1-2, p. 20-35, 2011.

FERREIRA, E. A.; ASPIAZÚ, I. A.; GALON, L. L.; CONCENÇO, G. C.; SILVA, A. F.; REIS, L. A. C.; CARVALHO, F. P. Características fisiológicas da soja em relação a espécies de plantas daninhas. **Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 5, n. 1, p. 39, 2011.

JESUS, D. S. de. **Taxonomia integrativa de espécies de *Aphelenchoides* associadas a sementes de gramíneas forrageiras e desenvolvimento de diagnóstico baseado em PCR em tempo real**. 2015. 79f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

KARAM, D.; MELHORANÇA, A. L. **Qual é o impacto das plantas daninhas na produção de grãos**. 2018. Disponível em: <http://rehagro.com.br/qual_e_o_impacto_das_plantas_daninhas_na_producao_de_graos/>. Acesso em: 24 jun. 2018.

KARAM, D.; SILVA, W. T. da.; SILVA, A. F. da.; VARGAS, L.; GAZZIERO, D. L. P. Estudo fitossociológico de plantas daninhas em sistemas de produção de milho no estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. 31, Milho e sorgo: inovações, mercados e segurança alimentar, 2016, Bento Gonçalves. **Anais...** Embrapa: Brasília, DF, 2016.

LOPES, C. M. L. **Populações de nematoides fitoparasitas em áreas de cultivo de soja, algodão, café e de vegetação nativa do cerrado na região oeste da Bahia**. 2015. 57f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF.

MEYER, M. C.; FAVORETO, L.; KLEPKER, D.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C. Soybean green stem and foliar retention syndrome caused by *Aphelenchoides besseyi*. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 5, p. 403-409, 2017.

MEYER, M. C.; KLEPKER, D. Efeito do manejo de solo e sistemas de cultivo na incidência de Soja Louca II. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 48.; CONGRESSO BRASILEIRO DE PATOLOGIA PÓS COLHEITA, 2., 2015, São Pedro. **Fitopatologia de Precisão - Fronteiras da Ciência: anais**. Botucatu: SBF, 2015. 1 CD-ROM.

Reação de cultivares de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) à infecção por populações de *Aphelenchoides besseyi*

FRANÇA, P. P.¹; SILVA, M. C. M. da¹; CALANDRELLI, A.¹; FAVORETO, L.²; MEYER, M. C.³

¹Unifil, bolsista Faped, Londrina, PR, patriciapriscilla@hotmail.com; ²EPAMIG Oeste, Uberaba, MG; ³Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp.) tem sua origem na África. No Brasil, a cultura foi implantada a partir dos colonizadores portugueses na metade do século XVI no estado da Bahia, posteriormente a cultura foi para outras regiões do País, porém as produções se intensificaram nas regiões Norte e Nordeste devido às condições climáticas que a cultura precisa para se desenvolver (Freire Filho, 1988).

O feijão-caupi é rico em proteínas, fibras e mineiras, por isso é uma importante fonte alimentar para populações rurais e urbanas, além de ser um forte gerador de empregos (Frota et al., 2008; Singh, 2007).

Um dos motivos que fez com que o feijão-caupi alcançasse altas produtividades foi o desenvolvimento de novas cultivares que possibilitam o sistema de produção ser totalmente mecanizado. Estas novas cultivares proporcionaram melhor adaptação da cultura ao sistema de produção dos cerrados, alcançando diversos mercados tanto no Brasil quanto no exterior. No Brasil o plantio do feijão-caupi ocorre principalmente na segunda safra ou “safrinha”, substituindo outras culturas, como milho e arroz (Feijão-caupi..., 2016).

Em 2007, o Brasil exportou pela primeira vez o produto para o Canadá, Portugal, Israel, Turquia e Índia. A partir de então, o cultivo do feijão-caupi nos cerrados tornou-se mais fortalecido, principalmente no Mato Grosso e Meio-Norte. Em 2014, A cultivar BRS Guariba foi a primeira a ser exportada, respondendo em 2014 por 85% das exportações de feijão-caupi do Brasil para o Oriente Médio, Ásia e Europa (Feijão-caupi, 2016).

De acordo com dados da Conab (2018), na safra 2017/2018 o feijão-caupi ocupou uma área de 1.042,4 mil hectares, com produção estimada em 570,8 mil toneladas, sendo 28,3% superior à safra anterior.

Face à crescente importância desta cultura no país, os cuidados com a produção requerem atenção, principalmente com relação às perdas provocadas por patógenos, comprometendo a cultura e, conseqüentemente, a quantidade e qualidade da produção. A podridão cinzenta (*Macrophonina phaseolina*) e podridão de esclerócio (*Sclerotium rolfsii*) são importantes doenças causadas por fungos e podem afetar tanto a fase de emergência quanto a floração e pré-colheita, causando redução na produção de vagens viáveis. Além de fungos, as viroses e os nematoides também podem interferir na cultura, podendo ser prejudicial durante todo o ciclo, causando danos severos (Athayde Sobrinho, 2016).

O nematoide do gênero *Aphelenchoides* possui mais 180 espécies, sendo um dos mais importantes causadores de infecções em parte aéreas de plantas, podendo atacar as folhas, inflorescências e semente (Hunt, 1993, 2008).

Aphelenchoides besseyi é o agente causal de doenças como a ponta-branca-do-arroz, o nanismo de verão em morangueiro e o “amachamiento” do feijoeiro na Costa Rica (Cheng et al., 2013; Chaves et al., 2013). No Brasil, *A. besseyi* é causador da nova doença descrita em soja, conhecida como haste verde e retenção foliar (Favoreto et al., 2015; Meyer et al., 2017). Esta doença pode causar redução de até 60% na produção da soja, e é encontrada principalmente nos estados do Pará, Amapá, Maranhão, Tocantins e Mato Grosso, onde a produção de feijão-caupi também tem aumentado significativamente.

Com o intuito de conhecer as preferências alimentares deste nematoide, o objetivo deste trabalho foi avaliar a reação de seis cultivares de feijão-caupi a três populações do nematoide *A. besseyi*.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Soja, Londrina-PR, em casa de vegetação e nos laboratórios de Nematologia e Fitopatologia.

A princípio, extraiu-se o nematoide pelo método de Coolen e D’Herde (1972), de amostras proveniente de áreas naturalmente infestadas pelo *A. besseyi*.

As populações do nematoide utilizadas neste trabalho foram extraídas da parte aérea de plantas de soja e algodão e de sementes de arroz.

Para alcançar quantidades suficientes para a realização do experimento, as populações de *A. besseyi* foram multiplicadas *in vitro*, selecionando-se 20 indivíduos, sendo 15 fêmeas e 5 machos, com auxílio de um microscópio estereoscópico. Os espécimens foram axenizados em solução de ampicilina a 0,1% e transferidos para placas de Petri com colônias de *Fusarium* sp. de aproximadamente cinco dias de crescimento em meio batata-dextrose-ágar (BDA) (Favoreto et al., 2011). A população pura de *A. besseyi* foi mantida em câmaras tipo BOD a 25 °C (+ 1), no escuro até o momento da inoculação (aproximadamente 30 dias).

O experimento foi realizado em delineamento em blocos casualizados, com seis cultivares de feijão-caupi (Imponente, Aracê, Guariba, Tumucumaque, Nova Era e Tracuateua) e três populações puras de *A. besseyi* (provenientes da soja, algodão e arroz), com oito repetições.

Em vasos com capacidade para 3,5 litros de solo, contendo uma mistura de solo e areia (2:1) previamente esterilizados, quatro sementes foram semeadas e o desbaste realizado após a emergência das plântulas, deixando-se uma planta por vaso.

A inoculação foi realizada aos 15 dias após a semeadura. A obtenção de cada população inicial pura de *A. besseyi* se deu coletando-se os nematoides, multiplicados *in vitro*, pela lavagem da parte interna das tampas das placas de Petri com jatos d'água de uma pisseta. A concentração da suspensão de nematoides foi ajustada, com auxílio de câmara de contagem de Peters em microscópio óptico, para uma população inicial de 500 indivíduos por planta.

A inoculação foi realizada com micropipeta (capacidade de 1000 µL), depositando-se uma alíquota do inóculo (500 indivíduos por planta) em um orifício aberto no solo, ao lado do colo da planta, seguida de irrigação leve.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com nebulizações frequentes (nebulização de 15 segundos a cada meia hora) e temperatura média de 26 °C (\pm 2°C). A extração e quantificação dos nematoides foi realizada aos 30 dias após a inoculação, seccionando-as a parte aérea das plantas logo abaixo do primeiro nó. Cada amostra foi acondicionada individualmente

em sacos plásticos, devidamente identificados e levadas ao laboratório de nematologia, onde a massa total da parte aérea das plantas foi aferida e processada segundo Coolen e D'Herde (1972).

A estimativa da população dos nematoides de cada planta foi feita ao microscópio óptico com uma câmara de contagem de Peters e os dados convertidos em quantidade de nematoide por grama de tecido.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias agrupadas pelo método de Scott-Knott, com o auxílio do software SASM-Agri (Canteri et al., 2001).

Resultados e Discussão

As médias das quantidades de nematoides encontradas nas suspensões de cada cultivar de feijão-caupi, para as três populações de *A. besseyi*, estão apresentadas na Tabela 1.

Os valores das populações finais (PF) variaram de 0,0 a 9,0 nematoides/g de tecido. As PFs de *A. besseyi* provenientes de soja foram maiores nas cultivares Aracê, Guariba e Tumucumaque (9,0; 7,3 e 6,9 nematoides/g tecido, respectivamente), as demais cultivares apresentaram menores PFs e não diferiram entre si (Tabela 1).

As PFs de *A. besseyi* provenientes de algodão foram maiores na cultivar Aracê (8,1 nematoides/g de tecido), seguidas pelas cultivares Imponente, Guariba e Tumucumaque (3,4; 4,8 e 3,6 nematoides/g tecido, respectivamente), sendo os menores valores encontrados nas cultivares Nova Era e Tracuateua (1,4 e 2,1, nematoides/g tecido, respectivamente) (Tabela 1).

Devido aos baixos valores de PFs observados com a população de *A. besseyi* proveniente do arroz, as cultivares de feijão-caupi devem ser consideradas como más hospedeiras dessa população (Tabela 1).

Este é o primeiro relato de *A. besseyi* associado ao feijão-caupi.

Tabela 1. População final (PF) de *Aphelenchoides besseyi* encontrados na parte aérea de cultivares de feijão-caupi, inoculadas com populações de *Aphelenchoides besseyi* provenientes de soja (Pop. Soja), algodão (Pop. Algodão) e arroz (Pop. Arroz).

	Feijão-caupi	PF (nematóide / g de tecido)			C.V. (%)
		Pop. Soja	Pop. Algodão	Pop. Arroz	
1	Imponente	5,8 b A	3,4 b B	0,1 a C	11,6
2	Aracê	9,0 a A	8,1 a A	0,0 a B	10,2
3	Guariba	7,3 a A	4,8 b A	0,0 a B	16,9
4	Tumucumaque	6,9 a A	3,6 b B	0,1 a C	10,0
5	Nova Era	3,6 b A	1,4 c B	0,1 a C	14,7
6	Tracuateua	5,3 b A	2,1 c B	0,1 a C	14,2
	C.V. (%)	32,3	28,8	4,0	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e letra maiúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Médias de oito repetições.

Conclusão

A população de *A. besseyi* proveniente do arroz não se multiplica nas cultivares de feijão-caupi. Por outro lado, todas as cultivares de feijão-caupi, avaliadas neste estudo, podem manter e multiplicar as populações *A. besseyi* provenientes da soja e do algodão, comportando-se como potenciais fontes de inóculo do nematóide. Esse fato requer atenção quanto à sequência de culturas, devendo-se evitar o cultivo de espécies suscetíveis ao *A. besseyi*, como soja, algodão, feijão e feijão-caupi, em sucessão na mesma área.

Agradecimentos

Os autores expressam especial agradecimento aos pesquisadores da Embrapa Amazônia Oriental, Dr. Jamil Chaar El-Husny e Dr. Francisco Rodrigues Freire Filho, pela cessão de sementes das cultivares de feijão-caupi utilizadas neste trabalho.

Referências

- ATHAYDE SOBRINHO, C. Principais doenças do feijão-caupi no Brasil. In: BASTOS, E. A. (Coord.). A cultura do feijão-caupi no Brasil. Teresina: Embrapa Meio-Norte; Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Divisão de Análise de Risco de Pragas, 2016. p. 44-67. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156726/1/Feijao-44a67.pdf>> Acesso em: 06 jun.2018.
- 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 Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v. 1, p. 18-24, 2001.
- CHAVES, N.; CERVANTES, E.; ZABALGOGEAZCOA, I.; ARAYA, C. M. *Aphelenchoides besseyi* Christie (Nematoda: Aphelenchoididae), agente causal del amachamiento del frijol común. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 3, p. 243-252, 2013.
- CHENG, X.; XIANG, Y.; XIE, H.; XU, C-L.; XIE, T.F.; ZHANG, C.; LI, Y. Molecular characterization and functions of fatty acid and retinoid binding protein gene (Ab-far-1) in *Aphelenchoides besseyi*. **PLoS ONE**, v. 8, n. 6, e66011, 2013. DOI:10.1371/journal.pone.0066011.
- CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**, v. 5, safra 2017/18, n. 8, oitavo levantamento, mai.2018. 71 p. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info...da.../16780_e7a4a52ee1db76ad1a8cfd9b2343c48>. Acesso em: 4 jun. 2018.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Agriculture Research Center, 1972. 77 p.
- FAVORETO, L.; MEYER, M. C.; KLEPKER, D.; CAMPOS, L. J. M.; PAIVA, E. V. Ocorrência de *Aphelenchoides* sp. em plantas de soja com sintomas de Soja Louca II. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 32., 2015, Londrina. Nematologia: problemas emergentes e perspectivas: anais. Londrina: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2015. p. 82-83. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/129110/1/17.pdf>>. Acesso em: 6 jun. 2018.
- FAVORETO, L.; SANTOS, J. M.; CALZAVARA, S. A.; LARA, L. A. Estudo fitossanitário, multiplicação e taxonomia de nematoides encontrados em sementes de gramíneas forrageiras no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v. 35, n.1-2, p. 20-35, 2011.
- FEIJÃO-CAUPI: melhoria genética para o avanço da cultura. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2016. 11 p. Disponível em < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/144703/1/FeijaoCaupiAvancoCultura2016.pdf> > Acesso em: 02 jun.2018.
- FREIRE FILHO, F. R. Origem, evolução e domesticação do caupi. In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E. E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Brasília, DF: IITA: EMBRAPA, 1988. p. 32-40.
- FROTA, K. M. G.; MENDONÇA, S.; SALDIVA, P. H. N.; CRUZ, R. J.; ARÊAS, J. A. G. Cholesterol-lowering properties of whole cowpea seed and its protein isolate in hamsters. **Journal of Food Science**, v. 73, n. 9, p. H235-H240, 2008.
- HUNT, D. J. A checklist of the Aphelenchoidea (Nematoda: Tylenchina). **Journal of Nematode Morphology and Systematics**, v. 10, n. 2, p. 99-135, 2008.

HUNT, D. J. **Aphelenchida, Longidoridae and Trichodoridae**: their systematic and bionomics. Wallingford, UK: CAB International, 1993. 368 p.

MEYER, M. C.; FAVORETO, L.; KLEPKER, D.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C. Soybean green stem and foliar retention syndrome caused by *Aphelenchoides besseyi*. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, n. 5, p. 403-409, 2017.

SINGH, B. B. Recent progress in cowpea genetics and breeding. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON INDIGENOUS VEGETABLES AND LEGUMES, Hyderabad, India, 2007. Proceedings... **Acta Horticulturae**, n. 752, p. 69-76, 2007. Disponível em: <http://www.actahort.org/books/752/752_7.htm>. Acesso em: 6 jun. 2018.

Efeito do estresse hídrico nas fases vegetativa e reprodutiva da soja sobre o rendimento de grãos

CORREIA, A. R.¹; MERTZ-HENNING, L. M.²; FARIAS, J. R. B.²; NEPOMUCENO, A. L.²; NEUMAIER, N.²

¹Unifil - Centro Universitário Filadélfia Londrina, Bolsista PIBIC/CNPq, alessandra.correiaa82@gmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

O primeiro registro de soja no Brasil é de 1882. Desde 1960, quando teve início os plantios em escala comercial, até os dias atuais a sojicultura teve sua produção global aumentada em cerca de 1.300%, sendo o 4º principal grão produzido no mundo (Gazzoni; Dall’Agnol, 2018).

Um dos principais problemas abióticos que inibe a produtividade de ser ainda maior em âmbito nacional é a escassez de chuvas em algumas regiões devido a fatores climáticos que são imprevisíveis e não controláveis (Farias et al., 2007).

Para minimizar os danos causados por intempéries climáticas as empresas de pesquisas têm papel fundamental neste cenário, pois é através delas que são desenvolvidos cultivares adaptado para cada clima e solo brasileiros.

As secas severas no período vegetativo são menos prejudiciais que no período reprodutivo, caso ocorra o déficit hídrico na fase vegetativa haverá uma assimetria na população de plantas, reduzindo a área foliar e o rendimento dos grãos. Ocorrendo escassez hídrica na fase reprodutiva, principalmente na fase de enchimento de grãos, devido a alterações fisiológicas e fechamento dos estômatos sofridos pela planta, terá como consequência o abortamento das vagens. E o número de vagens abortadas não é compensado pelo número de grãos/vagem e peso de grãos (Farias et al., 2007).

O presente trabalho objetivou determinar a influência da disponibilidade hídrica e seu déficit no desenvolvimento de genótipos de soja com e sem genes de tolerância à seca, submetidas a distintos regimes hídricos em condição de campo.

Material e Métodos

Os dados do presente trabalho foram obtidos a campo, na área experimental da Equipe de Ecofisiologia (localizada nas coordenadas 23° 11' 44''S e 51° 11' 35''O, com altitude de 598 m), na Fazenda Experimental da Embrapa Soja. A semeadura foi feita a mão, na manhã do dia 18/10/2017. O delineamento experimental foi o de blocos completos ao acaso com parcelas subdivididas, com quatro blocos e espaçamento de 0,5 m entre linhas. Os tratamentos Estresse Hídrico no período Vegetativo (EHV) e Estresse Hídrico no período Reprodutivo (EHR) foram atribuídos às parcelas, sendo estas, dispostas sob abrigos móveis contra a chuva (*rain-out shelters*). Os genótipos foram atribuídos às subparcela. O tratamento EHV teve duração de 28 dias com início em 20 de novembro e término em 19 de dezembro, 2017; já o tratamento EHR, teve duração variando entre 65 e 67 dias, com início em 19 de dezembro, perdurando até a colheita, o que ocorreu entre os dias 20 e 22 de fevereiro de 2018. Foram utilizados cinco genótipos, sendo, duas cultivares: BR 16 e BRS 184, (controles, sem transformação genética) e as linhagens: 1Ea15, 2Ha11 e 2Ia4, as quais possuem os genes de tolerância à seca AREB1, NCED e GOLS, introduzidos por transformação genética em BR 16, BRS 184 e BRS 184, respectivamente. Ao atingirem a maturação, as parcelas tiveram seus grãos colhidos para a determinação do rendimento.

Na maturação, um ou dois dias antes da colheita total das subparcelas, cinco plantas de soja por subparcela foram coletadas do campo experimental e levadas ao Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da Embrapa Soja, para aferição da altura das plantas e separação das partes das plantas, secagem a 60 °C até peso constante e pesagem para a determinação da massa seca dessas partes.

No laboratório de Agrometeorologia da Embrapa Soja, foram realizados os cálculos do Balanço Hídrico Decendial (BHD), através dos dados obtidos na estação agrometeorológica da sede da Embrapa Soja (Figura 1). O cálculo do rendimento foi realizado no Laboratório de Ecofisiologia Vegetal da Embrapa Soja, levando em conta o peso e a umidade dos grãos produzidos pelos genótipos e colhidos da área útil das parcelas, em que a área útil dos tratamentos EHV e EHR e foi de 6 m².

Os dados foram submetidos ao teste Kolmogorov-Smirnov de normalidade e foi realizada a ANOVA, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

O regime hídrico ao qual o experimento esteve submetido na safra 2017/2018 foi caracterizado por intensas chuvas durante todo o ciclo da soja. Somente após o experimento atingir o estágio R8 (Fehr; Caviness, 1977) e já ter sido colhido, é que houve déficit hídrico (Figura 1).

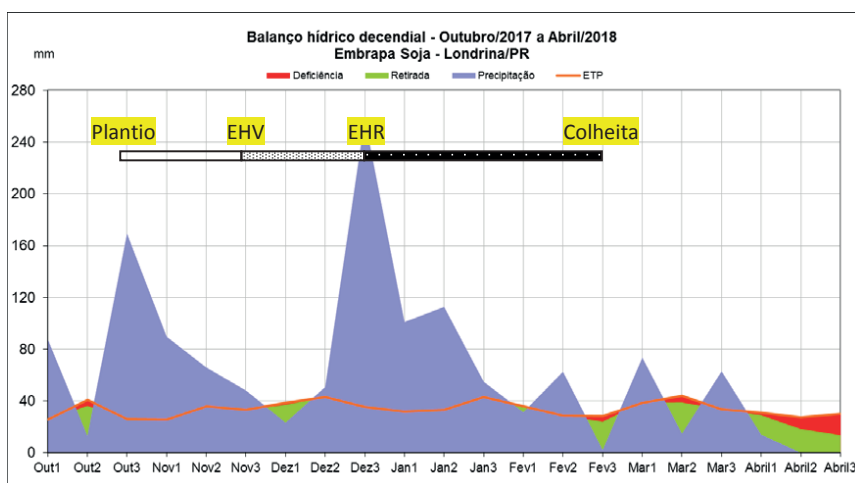


Figura 1. Balanço Hídrico Sequencial (CAD 75mm), segundo Thornthwaite e Mather (1955), do período compreendido entre outubro de 2017 a abril de 2018, na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, Londrina, PR.

A análise de variância mostrou significância para os efeitos de tratamento, de genótipo e da interação tratamento x genótipo sobre o rendimento (kg/ha) (Tabela 1).

Tabela 1. Médias de rendimento (kg/ha) de 5 genótipos de soja submetidos a tratamentos de déficit hídrico na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, Londrina, PR.

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRAT	1	71991383,0064	71991383,0064	165,287	0,0010
BLOCO	3	1393967,8338	464655,9446	1,067	0,4794
erro 1	3	1306662,2281	435554,0760		
GENÓTIPO	4	1764935,1370	441233,7843	9,975	0,0001
TRAT*GENÓTIPO	4	1312949,3296	328237,3324	7,421	0,0005
erro 2	24	1061576,1888	44232,3412		
Total corrigido	39	78831473,7238			
CV 1 (%) =	21,51				
CV 2 (%) =	6,85				
Média geral:	3068,6010	Número de observações:	40		

O tratamento EHR teve o rendimento reduzido significativamente em relação ao tratamento EHV (Tabela 2). Isso já era esperado, pois a fase reprodutiva da soja é a mais exigente em água. Processos fisiológicos como fixação biológica do nitrogênio, fotossíntese, trocas gasosas, translocação de fotossintatos, etc., são drasticamente afetados por estresses hídricos, principalmente na fase reprodutiva da soja. Por exemplo, no estágio de enchimento dos grãos (R5-R6), a exigência hídrica da soja pode chegar a 7 ou 8 mm de água por dia (FARIAS et al., 2007). O rendimento não foi tão afetado pelo EHV, possivelmente porque, além do estresse ter sido aplicado na fase vegetativa da soja, quando a exigência hídrica é menor, a duração do estresse foi menor (28 dias) do que no EHR (56 dias) e a reserva hídrica do solo foi capaz de sustentar a demanda hídrica que ainda não era muito grande. Entre os genótipos estudados a cultivar BRS 184 foi o que apresentou o maior rendimento de grãos, diferindo estatisticamente da cultivar BR 16 e do genótipo transgênico 1Ea15, mas com rendimentos semelhantes aos genótipos transgênicos 2Ha11 e 2Ia4 (Tabela 2).

Tabela 2. Médias de rendimento (kg/ha) de 5 genótipos de soja submetidos a tratamentos de déficit hídrico na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, Londrina, PR.

Genótipo	Tratamento		MÉDIA GENÓTIPO (kg/ha)	DIFERENÇA ² (kg/ha)	REDUÇÃO ³ (%)
	EHV (kg/ha)	EHR (kg/ha)			
1Ea15	4163 bA1	1319 cB	2741 c	2844 b	-0,68 b
2Ha11	4163 bA	2173 aB	3168 ab	1990 a	-0,47 a
2Ia4	4536 abA	1760 abB	3148 ab	2776 b	-0,61 b
BR 16	4461 abA	1410 bcB	2935 bc	3051 b	-0,68 b
BRS 184	4727 aA	1974 aB	3350 a	2753 b	-0,58 ab
Média tratamento	4410 A	1727 B			

¹Letras minúsculas comparam médias de rendimento entre genótipos, dentro de tratamento, e letras maiúsculas comparam médias de rendimento entre tratamentos, dentro de genótipos. Teste Tukey (p=0,05). ²Diferença e ³porcentagem de redução de rendimento de genótipos quando submetidos ao EHR, em comparação aos rendimentos obtidos no EHV.

O efeito da interação genótipo x tratamento foi significativo, sendo que no tratamento EHV a cultivar BRS 184 superou significativamente o rendimento dos genótipos 1Ea15 e 2Ha11 e não diferiu de BR 16 e 2Ia4. Já no tratamento EHR, a BRS 184 e 2Ha11 foram os genótipos mais produtivos e o 1Ea15 o menos produtivo (Tabela 2). A redução significativa no rendimento da BR 16 sob EHR confirma que essa cultivar (controle sensível à seca) é realmente mais sensível do que a BRS 184 (controle tolerante à seca). Também, é possível notar que o genótipo 2Ha11, que é BRS 184 com o gene NCED apresentou um rendimento ligeiramente superior ao da BRS 184 (sem o gene de tolerância à seca) (Tabela 2).

Conclusão

O estresse no período reprodutivo reduz significativa e drasticamente o rendimento de todos os genótipos estudados, porém essa redução é menor no genótipo 2Ha11, indicando que o gene NCED confere tolerância à seca em soja. A cultivar BRS 16 é mais sensível ao déficit hídrico do que a BRS 184 quando sob estresse no período reprodutivo. Dos genótipos testados, o genótipo 1Ea15 é o menos produtivo, tanto sob estresse no período vegetativo quanto no reprodutivo.

Referências

FARIAS, J. R. B.; NEPOMUCENO, A. L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 8 p. (Embrapa Soja. Circular técnica, 48).

FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report, 80).

GAZZONI, D. L.; DALL'AGNOL, A. A. **A saga da soja: de 1050 a.C a 2050 d.C**. Londrina: Embrapa Soja, 2018. 199 p.

THORNTON, C. W.; MATHER, J. R. **The water balance**. New Jersey: Drexel Institute of Technology, 1955. 104 p. (Climatology, v. 8, n. 1).

Patogenicidade de isolados de *Glomerella/Colletotrichum* associados à soja

JANUARIO, N. C. G.¹; ALMEIDA, A. M. R.²; HENNING, A. A.²; SEIXAS, C. D. S.²

¹Unifil, Bolsista PIBIC/CNPq, Londrina, PR, nathguize_@hotmail.com; ²Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum* spp., é uma das doenças que podem limitar o rendimento da cultura da soja. No Brasil duas espécies foram associadas à doença, *Colletotrichum truncatum* (Rogério et al. 2017) e *C. cliviae* (Barbieri et al., 2017). Mas há outras espécies relatadas associadas à antracnose, *C. coccodes* (Riccioni et al., 1998), *C. gloeosporioides* (teleomorfo *Glomerella cingulata*) (Chen et al., 2006), *C. incanum* (Yang et al., 2014), *C. capsici* (Ghosh et al., 2016), *C. destructivum* (teleomorfo *G. glycines*), *C. graminicola* (teleomorfo *G. graminicola*), *C. chlorophyti* (Yang; Hartman, 2015).

O fungo pode sobreviver em restos de cultura e sementes. Sementes infectadas podem dar origem a plântulas com necrose nos cotilédones. Essa necrose pode se estender para o hipocótilo e resultar em tombamento pré- ou pós-emergência. Várias partes das plantas podem ser infectadas (haste, pecíolos, folíolos, vagens) em qualquer estágio de desenvolvimento das plantas. Pode ocorrer queda de vagens e/ou deterioração das sementes. Vagens infectadas no início da formação [estádios R3-R4 (Fehr; Caviness, 1981)] ficam castanho-escuras a negras e retorcidas. Se infectadas em estádios mais avançados podem ocorrer lesões escuras nas vagens. Em períodos de alta umidade podem ser visualizadas pontuações negras que são as frutificações do fungo. Nas hastes e nas nervuras dos folíolos podem ocorrer lesões negras e deprimidas (Godoy et al., 2016).

A doença é favorecida por condições de temperatura e umidade altas. Ocorre mais comumente nas regiões Centro-Oeste e Norte do Brasil (Henning et al., 2014), mas tem sido comum produtores da região Sul do Brasil citarem essa doença como uma das mais comuns em suas lavouras e realizarem aplicações de fungicidas para controle.

Em amostras de hastes, folhas e/ou vagens, coletadas e recebidas pelo Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Soja, com ou sem sintomas que poderiam ser atribuídos a antracnose, tem sido frequente a obtenção de isolados de *Colletotrichum* ou de *Glomerella* (teleomorfo de *Colletotrichum*), o que indicou a necessidade de caracterização e identificação desses isolados, para verificar se há a ocorrência de espécies diferentes daquelas já relatadas associadas à antracnose na soja.

O objetivo deste trabalho foi verificar a patogenicidade (capacidade de causar doença) dos isolados de *Glomerella/Colletotrichum* obtidas de amostras de plantas de soja, em várias safras e de diversos locais.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido em laboratório e casa de vegetação da Equipe de Fitopatologia, na Embrapa Soja, em Londrina-PR, no período de outubro de 2017 a maio de 2018.

Para esse estudo foram utilizados 58 isolados de *Glomerella/Colletotrichum* depositados na Coleção de Microrganismos de Interesse para a Agricultura da Embrapa Soja (CMES), obtidos de amostras de hastes, folhas e/ou vagens de soja de vários estados (Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, Distrito Federal, Maranhão, Tocantins, Pará, Roraima), com ou sem sintomas típicos da doença. Também foram incluídos quatro isolados já identificados por Rogério et al. (2017) como *C. truncatum* [CMES 286 (MT), CMES 1055 (PR), CMES 1075 (PA) e CMES 1080 (RR)], dois de *C. cliviae* [CMES 1900 (MT) e CMES 1901 (MT)] (Barbieri et al., 2017) e dois de *C. sublineola* (CMES 1906 e CMES 1907 ambos de MG), num total de 66 isolados. Os dois isolados de *C. sublineola*, obtidos de sorgo, foram cedidos pela Embrapa Milho e Sorgo.

Todos os isolados foram testados quanto à patogenicidade à soja. O método utilizado foi baseado no proposto por Manandhar et al. (1988) e por Yang e Hartman (2015). Os 66 isolados foram cultivados em meio BDA (batata-dextrose-ágar) para preparação de inóculo. A cultivar Potência RR foi semeada em vasos, com seis sementes por vaso, deixando três plantas por vaso. Quando as plantas atingiram o estágio V2-V3 [(primeira folha trifoliolada com-

pletamente desenvolvida - segunda folha trifoliolada completamente desenvolvida (Fehr; Caviness, 1981] foram inoculadas com suspensão de esporos e/ou micélio dos isolados. Cada isolado foi inoculado em plantas de quatro vasos. Por causa da diferença na produção de esporos entre os isolados, nesse teste a concentração de esporos foi determinada, mas não foi padronizada. O isolado CMES 1906 (*Colletotrichum sublineolum*) não produziu esporos, então a suspensão foi preparada a partir do micélio. A suspensão de esporos, de outros 16 isolados, teve concentração menor que 3×10^6 esporos por mL, concentração mínima usada por Manandhar et al. (1988), entre eles os dois isolados de *C. cliviae* (CMES 1900, CMES 1901), um isolado de *C. truncatum* (CMES 286) e um isolado de *C. sublineolum* (CMES 1907).

Após a inoculação, os vasos com as plantas inoculadas foram colocados em câmara úmida por 72 horas, utilizando sacos plásticos transparentes, umedecidos internamente, para envolver os vasos e assim favorecer a infecção. A temperatura da casa de vegetação foi ajustada para se manter entre 18 °C (mínima) e 28 °C (máxima). Após as 72 horas, os sacos plásticos foram retirados e foi mantida nebulização por 30 segundos, de quatro em quatro horas.

A avaliação foi feita observando as plantas a partir do quinto dia após a inoculação e registrando quando do aparecimento de lesões na haste, no pecíolo e/ou na nervura dos trifólios. Aos 70 dias após a inoculação haste e pecíolo de nove plantas inoculadas com cada isolado, com ou sem sintomas, foram coletadas e levadas para o laboratório onde foi realizado isolamento indireto para recuperar o fungo.

As sementes das três plantas restantes inoculadas com cada isolado foram coletadas para análise, a fim de verificar a presença do fungo. Para isso utilizou-se o método do papel de filtro (Blotter Test), com 200 sementes de cada amostra. As sementes foram distribuídas, colocando-se 20 sementes, por caixa plástica (gerbox), desinfestada com hipoclorito de sódio a 1,05%, contendo quatro folhas de papel de filtro umedecidas com água autoclavada. Os gerbox contendo as sementes foram colocados em câmara de incubação a 20 °C \pm 2 °C. Após sete dias foi feita a leitura, com auxílio de microscópio estereoscópio, observando cada semente e registrando a presença de *Colletotrichum*.

Resultados e Discussão

Os isolados, juntamente com sua procedência, ano de coleta e os resultados obtidos no teste de patogenicidade, no reisolamento e na análise de sementes estão apresentados na Tabela 1. O período para observação dos primeiros sintomas foi nove dias, diferente do observado por Manandhar et al. (1988) e por Yang e Hartman (2015). Nos dois trabalhos, sintomas severos, e até morte de plantas foram observados já aos três dias após a inoculação. A diferença no método em relação ao trabalho de Manandhar et al. (1988) foi a maneira de fazer a câmara úmida. Os autores utilizaram câmara de nebulização por 10 horas com ciclos por 15 minutos a cada hora, e no presente trabalho foi feita com saco plástico. O objetivo da câmara úmida é favorecer a germinação dos esporos do fungo e a infecção do hospedeiro e ambos os métodos são indicados para isso (Alfenas et al., 2016). A concentração do inóculo também foi diferente, nos dois trabalhos a concentração mínima foi 3×10^6 esporos mL^{-1} e nesse trabalho não foi possível padronizar. Mas, considerando que mesmo o isolado que produziu mais esporos (CMES 938, 10×10^6 esporos mL^{-1}) provocou sintomas após 16 dias, a concentração da suspensão não parece ter sido um fator limitante. De qualquer maneira, o objetivo era verificar a capacidade dos isolados de infectar as plantas de soja, portanto, mesmo com essas diferenças foi possível alcançar o objetivo.

Dos 66 isolados, a maioria, 55 isolados (83,3%), causou sintomas, incluindo os quatro isolados já identificados como *C. truncatum* (CMES 286, CMES 1055, CMES 1075, CMES 1080), os dois isolados de *C. cliviae* (CMES 1900 e CMES 1901) (Barbieri et al., 2017) e os dois isolados de *C. sublineolum* (CMES 1906 e CMES 1907), esses dois últimos obtidos de sorgo. Porém, os isolados CMES 286, CMES 1075 (*C. truncatum*) e CMES 1906 (*C. sublineolum*), apesar de terem causado sintomas, não foram recuperados na tentativa de reisolamento, mas foram detectados nas sementes e o CMES 1901 foi reisolado, mas não detectado nas sementes.

Tabela 1. Código dos isolados utilizados, município, estado e ano da coleta; resultado da patogenicidade, do reisolamento e da análise da semente para os isolados de *Glomerella/Colletotrichum* avaliados.

Isolado	Município	Estado	Ano da Coleta	Sintoma	Reisolamento	Presença na semente (%)
CMES 286-Ct1,4	Rondonópolis	MT	1992	S6	n7	4,5
CMES 929	Cascavel	PR	2011	S	S	2,5
CMES 934	Rolândia	PR	2011	S	S	1,5
CMES 935	Londrina	PR	2011	S	n	2,9
CMES 938	Bela Vista do Paraíso	PR	2011	S	S	2,5
CMES 991	Jataizinho	PR	2012	S	S	1,9
CMES 1055-Ct1	Londrina	PR		S	S	0,5
CMES 1075-Ct1	Santarém	PA		S	n	3,5
CMES 1080-Ct1	Boa Vista	RR		S	S	1,9
CMES 1167	Borrazópolis	PR	2013	n	n	0,0
CMES 1168	Borrazópolis	PR	2013	n	n	0,0
CMES 11704	Guapirama	PR	2013	n	S	0,0
CMES 1172	Nantes	SP	2013	n	S	0,0
CMES 1176	Londrina	PR	2013	S	S	0,0
CMES 1177	Londrina	PR	2013	S	S	1,7
CMES 1179	Bela Vista do Paraíso	PR	2013	S	S	0,0
CMES 1180	São Gotardo	MG		S	S	0,0
CMES 11814	Chapadão do Sul	MS	2006	n	n	1,0
CMES 1183	Londrina	PR		S	n	2,0
CMES 1184	Taquarituba	SP		S	S	0,5
CMES 11904	Lucas do Rio Verde	MT	2013	S	n	2,0
CMES 1191	Lucas do Rio Verde	MT	2013	S	S	1,5
CMES 1433	Bonfim	RR	2013	S	n	1,0
CMES 1468	Sinop	MT	2014	S	n	1,5
CMES 1626	Riachão	MA	2016	S	S	1,0
CMES 1630	Cambé	PR	2016	S	S	0,0
CMES 1631	Planaltina	DF	2016	S	S	0,0
CMES 1632	Planaltina	DF	2016	S	S	1,3

continua...

continuação

CMES 16354	Campo Mourão	PR	2016	S	n	1,0
CMES 1636	Planaltina	DF	2016	S	S	1,0
CMES 1637	Planaltina	DF	2016	S	S	1,0
CMES 1638	Cornélio Pro- cópio	PR	2016	n	n	1,5
CMES 1639	Planaltina	DF	2016	S	S	0,5
CMES 1647	Planaltina	DF	2016	S	S	1,5
CMES 1648	Cambé	PR	2016	S	S	1,5
CMES 16494	São Jorge de Ivaí	PR	2016	n	S	1,5
CMES 1660	Cambé	PR	2016	S	n	1,0
CMES 1791	Planaltina	DF	2016	S	S	0,0
CMES 1794	Maracaju	MS	2016	S	S	1,4
CMES 18044	Cornélio Pro- cópio	PR	2016	S	n	0,5
CMES 1809	Cândido Mota	SP	2017	n	S	0,5
CMES 1810	Itaberá	SP	2017	S	S	1,0
CMES 1812	Astorga	PR	2017	S	S	1,5
CMES 1813	Astorga	PR	2017	S	S	1,0
CMES 18144	Astorga	PR	2017	S	n	2,5
CMES 1815	Astorga	PR	2017	n	n	0,0
CMES 1819	Astorga	PR	2017	S	n	2,0
CMES 1824	Iguaraçu	PR	2017	S	S	1,0
CMES 1862	Iguaraçu	PR	2017	S	n	5,5
CMES 1864	Cascavel	PR	2017	S	n	1,0
CMES 18654	Laranjeiras do Sul	PR	2017	n	n	1,5
CMES 1872	Paragominas	PA	2017	n	S	2,0
CMES 18884	Ponta Porã	MS	2017	n	n	1,0
CMES 1889	Nova Mutum	MT	2017	S	S	2,5
CMES 1893	Palmas	TO	2017	n	S	0,0
CMES 1894	Palmas	TO	2017	S	n	1,0
CMES 18954	Palmas	TO	2017	S	S	1,5
CMES 1896	Palmas	TO	2017	S	n	0,5
CMES 1897	Palmas	TO	2017	S	n	5,5
CMES 18984	Palmas	TO	2017	S	n	3,5
CMES 1899	Marmeieiro	PR	2017	n	n	1,5

continua...

continuação

CMES 1900-Cc2,4	Peixoto de Azevedo	MT	2014	S	S	0,5
CMES 1901-Cc2,4	Americana do Norte	MT	2013	S	S	0,0
CMES 1906-Cs3,4,5	Sete Lagoas (sorgo)	MG	2014	S	n	1,0
CMES 1907-Cs3,4	Sete Lagoas (sorgo)	MG	2014	S	S	2,5

¹*Colletotrichum truncatum*; ²*C. cliviae*; ³*C. sublineolum*; ⁴Concentração da suspensão com menos de 30.000 esporos mL⁻¹; ⁵Suspensão preparada com micélio, ausência de esporos; ⁶S: presença de sintoma; ⁷n: ausência de sintoma.

Entre os 11 isolados restantes, que não causaram sintomas, três foram recuperados no reisolamento e detectados nas sementes; cinco foram apenas detectados nas sementes. O teste deve ser repetido, mas de qualquer forma, há relatos de infecção de folhas, vagens e hastes sem que a planta mostre sintomas (Yang; Hartman, 2015).

Apenas três isolados não provocaram sintomas visíveis, não foram recuperados por reisolamento e nem detectados nas sementes (CMES 1167, CMES 1168 e CMES 1815). A ausência de sintomas e do fungo na haste, pecíolo e semente pode ser devida ao fato do isolado não ser, de fato, patogênico à soja. Nem todas as espécies de *Colletotrichum* são fitopatogênicas (Cannon et al., 2012).

Embora *C. sublineolum* tenha sido obtido de amostras de sorgo, infectou a soja também. Essa situação não é incomum. A infecção da soja por espécies que causam antracnose em outras plantas tem sido relatada como já mencionado (Riccioni et al., 1998; Chen et al., 2006; Yang et al., 2014; Ghosh et al., 2016).

As próximas etapas do trabalho serão a repetição do teste de patogenicidade, utilizando um método de inoculação que independa da produção de esporos; a caracterização morfológica dos isolados e a identificação dos isolados por técnica molecular.

Conclusão

A maioria dos isolados foi patogênica à soja, mostrando que o fungo está presente ainda que sintomas de antracnose não estejam sendo visualizados.

Referências

- ALFENAS, A. C.; FERREIRA, F. A.; ALFENAS, R. F. Inoculação de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.) **Métodos em fitopatologia**. 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2016. p.123-143.
- BARBIERI, M. C. G.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; MORAES, S. R. G.; BONALDO, S. M.; ROGÉRIO, F.; LINHARES, R. R.; MASSOLA JÚNIOR, N. S. First report of causing anthracnose on soybean in Brazil. **Plant Disease**, v. 101, 2017. Disponível em: <<https://apsjournals.apsnet.org/doi/abs/10.1094/PDIS-07-16-0963-PDN>>. Acesso em: 20 jun. 2018.
- CANNON, P. F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P. R.; WEIR, B. S. *Colletotrichum* - current status and future directions. **Studies in Mycology**, v. 73, p. 181-213, 2012.
- CHEN, L. S.; CHU, C.; LIU, C. D.; CHEN, R. S.; TSAY, J. G. PCR-based detection and differentiation of anthracnose pathogens, *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. truncatum*, from vegetable soybean in Taiwan. **Journal of Phytopathology**, v. 154, p. 654-662, 2006.
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stage of soybean development**. Ames: Iowa State University, 1981. 12 p. (Iowa Cooperative Extensive Service. Special Report, 80).
- GHOSH, R.; BHADRA, S.; BANDYOPADHYAY, M. Morphological and molecular characterization of *Colletotrichum capsici* causing leafspot of soybean. **Tropical Plant Research**, v. 3, n. 3, p. 481-490, 2016.
- GODOY, C. V.; ALMEIDA, A. M. R.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C.; DIAS, W. P.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; HENNING, A. A.; YORINORI, J. T.; FERREIRA, L. P.; SILVA, J. F. V. Doenças da soja. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino: Agrônômica Ceres, 2016. v. 2. p. 657-675.
- HENNING, A. A.; ALMEIDA, A. M. R.; GODOY, C. V.; SEIXAS, C. D. S.; YORINORI, J. T.; COSTAMILAN, L. M.; FERREIRA, L. P.; MEYER, M. C.; SOARES, R. M.; DIAS, W. P. **Manual de identificação de doenças de soja**. 5. ed. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 76 p. (Embrapa Soja. Documentos, 256).
- MANANDHAR, J. B.; HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B. Soybean germ plasm evaluation for resistance to *Colletotrichum truncatum*. **Plant Disease**, v. 72, p. 56-59, 1988.
- RICCIONI, L.; CONCA, G.; HARTMAN, G. L. First report of *Colletotrichum coccodes* on soybean in the United States. **Plant Disease**, v. 82, p. 959, 1998.
- ROGÉRIO, F.; CIAMPI-GUILLARDI, M.; BARBIERI, M. C. G.; BRAGANÇA, C. A. D.; SEIXAS, C. D. S.; ALMEIDA, A. M. R.; MASSOLA, N. S. Phylogeny and variability of *Colletotrichum truncatum* associated with soybean anthracnose in Brazil. **Journal of Applied Microbiology**, v. 122, n. 2, p. 402-415, 2017.

YANG, H. C.; HARTMAN, G. L. Methods and evaluation of soybean genotypes for resistance to *Colletotrichum truncatum*. **Plant Disease**, v. 99, p. 143-148, 2015.

YANG, H. C.; HARTMAN, G.L. Anthracnose. In: HARTMAN, G. L.; RUPE, J. C.; SIKORA, E. J.; DOMIER, L. L.; DAVIS, J. A.; STEFFEY, K. L. (Ed.). **Compendium of soybean diseases and pests**. 5. ed. Saint Paul: APS Press, 2015. p. 31-34.

YANG, H. C.; HAUDENSHIELD, J. S.; HARTMAN, G. L. *Colletotrichum incanum* sp. nov., a curved-conidial species causing soybean anthracnose in USA. **Mycologia**, v. 106, p. 32-42, 2014.

Biologia e morfometria de *Trissolcus urichi* (Hymenoptera: Platygasteridae) em ovos de *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae)

SILVA, N. R. A.¹; QUEIROZ, A. P.²; BUENO, A. de F.³; LUSKI, P. G. G.⁴; DINIZ, N. F.¹; GRANDE, M. M. G.⁴

¹Unifil, Londrina, PR, naty_rafa2@hotmail.com; ²UFPR, Pós-graduanda; ³Pesquisador, Embrapa Soja; ⁴UEL, Pós-graduanda.

Introdução

Os percevejos são um dos grupos mais importantes de insetos que causam prejuízos na produção de soja na América do Sul. Por se alimentarem diretamente dos grãos, eles afetam seriamente o seu rendimento e a sua qualidade (Corrêa-Ferreira; Panizzi, 1999; Panizzi et al., 2012). Entre as diferentes espécies, o percevejo-marrom, *Euschistus heros* (Fabricius, 1974) (Hemiptera: Pentatomidae) merece destaque por ser atualmente a espécie mais frequente e com participação acima de 90% no complexo de percevejos sugadores em várias regiões produtoras de grãos do Brasil (Corrêa-Ferreira, 2005; Panizzi et al., 2012). Mais recentemente, o percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Hemiptera: Pentatomidae) vêm também causando prejuízos as lavouras, aumentando sua importância na cultura da soja e milho. Isso é devido principalmente ao sistema produtivo adotado como o cultivo da soja na safra de verão seguido imediatamente do milho na segunda safra, o que favorece o desenvolvimento e a sobrevivência dessa espécie ao longo do ano (Smaniotto; Panizzi, 2015).

O controle de percevejos-praga é realizado prioritariamente com aplicação de inseticidas químicos (van Lenteren; Bueno, 2003), muitas vezes, aplicado de forma abusiva. Além disso, atualmente, as populações de percevejos estão chegando com maior intensidade e mais cedo nas lavouras de soja e milho. Isso tem levado os agricultores a aumentar o uso de inseticidas, muitas vezes, sem obter resultados satisfatórios (Bueno et al., 2015). Agravando ainda mais esse cenário, a falta de conhecimento por parte de técnicos e produtores sobre os possíveis danos e também sobre a tolerância da planta ao ata-

que, aumentando ainda mais o uso abusivo dos produtos químicos que são altamente tóxicos (Corrêa-Ferreira, 2005). Sendo assim, o desenvolvimento de métodos mais sustentáveis de manejo dessas pragas como o controle biológico, deve ser priorizado, para redução do impacto dessas pragas nos sistemas produtivos.

Neste contexto, parasitoides de ovos, são importantes inimigos naturais de percevejos da família Pentatomidae. Pesquisas em diferentes países referem-se principalmente a *Trissolcus basalís* (Wollaston) e *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Platygasteridae) parasitando ovos de pentatomídeos que atacam a soja (Corrêa-Ferreira; Moscardi, 1994; Cividanes, 1996; Torres et al., 1997). Entretanto, outras espécies de parasitoides podem contribuir para controle desses percevejos como é o caso de *Trissolcus urichi* (Hymenoptera: Platygasteridae), a qual é menos estudada, existindo pouca informação a respeito de sua biologia. Segundo Laumann et al. (2008) as espécies de *Trissolcus* são potenciais agentes de controle de percevejos, devido ao alto parasitismo e rápido aumento populacional dessas espécies. Esses autores sugerem a inclusão de diferentes espécies desse gênero em programas de manejo de percevejos para várias regiões do Brasil. Portanto, estudos com propósito de avaliar aspectos biológicos de espécies do gênero *Trissolcus* em diferentes hospedeiros, são importantes para a escolha das melhores espécies de parasitoides e para o sucesso da criação e estabelecimento desses agentes de controle biológico em programas de controle biológico aumentativo. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é avaliar a biologia e os caracteres morfométricos de *T. urichi* em ovos de *E. heros* e *D. melacanthus*.

Material e Métodos

Criação dos hospedeiros e parasitoide

Os percevejos e parasitoide foram criados em condições controladas de laboratório conforme metodologias descritas por Panizzi et al. (2000) e Peres e Corrêa-Ferreira (2004), respectivamente.

Os adultos dos percevejos foram mantidos em caixas de plástico (20 x 20 x 24 cm de altura), forradas com papel filtro e colocado um pedaço de tecido (algodão cru), para servir de substrato de postura. Para a alimentação dos adultos de *D. melacanthus*, ofereceram-se vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), grãos de soja (*Glycine max* L.), amendoim-cavalo (*Arachis hypogaea* L.), sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) e frutos de ligustro (*Ligustrum lucidum* Ainton). O processo de criação foi realizado em salas climatizadas [temperatura: $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade: $70\pm 10\%$ e fotoperíodo: 14/10h (C/E)]. A cada 48h realizou-se a manutenção das caixas e a troca dos alimentos. As posturas eram retiradas diariamente e, uma parte era destinada para a manutenção das colônias de percevejos e outra parte era armazenada em galões de nitrogênio líquido (-196°C) para posterior utilização nos experimentos.

O parasitoide *T. urichi* foi mantido em ovos de *D. melacanthus* utilizando cartelas de cartolina branca (10 cm de largura x 12 cm de comprimento) para fixação dos ovos com cola branca (30%) (Tenaz®). Assim, cada cartela foi introduzida em potes plásticos (2 L) por um período de 24 horas. No momento da introdução das cartelas foram dispostas gotículas de mel na parede interna do pote de plástico para alimentação dos adultos. Após esse procedimento, os potes foram vedados com filme plástico PVC. Após 24h, essa cartela foi retirada e colocada em um pote plástico novo (2 L), contendo gotículas de mel na parede do recipiente para alimentação dos adultos. O pote foi vedado com filme plástico para que os insetos não escapassem.

Biologia de *T. urichi* em ovos de *E. heros* e *D. melacanthus*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com dois tratamentos (ovos de *E. heros* e *D. melacanthus*) e vinte repetições. Fêmeas emergidas (com até 48h) de *T. urichi*, foram individualizadas em tubos de Duran e alimentadas com uma gotícula de mel. Foram colados aproximadamente 40 ovos em cartelas de cartolina branca (0,8 cm x 6,0 cm) identificadas de acordo com os tratamentos. As cartelas foram colocadas nos tubos juntamente com as fêmeas de *T. urichi* e vedadas com filme PVC, por um período de 24 horas. Após esse período as fêmeas foram retiradas e as cartelas mantidas em BODs para posterior avaliação. Todo o experimento ocorreu em câmara climatizada tipo BOD, com temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $80\pm 10\%$ e fotoperíodo de 14/10 h [C/E].

Os parâmetros biológicos avaliados foram: período de desenvolvimento ovo-adulto (dias), número de ovos parasitados, porcentagem de emergência e razão sexual. Para determinar o período do ovo-adulto foram realizadas observações diárias da emergência da progênie.

Morfometria de *T. urichi* em ovos de *E. heros* e *D. melacanthus*

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2 x 2, parasitoides sendo de dois hospedeiros (*E. heros* e *D. melacanthus*) x dois gêneros do parasitoide (macho e fêmea) e 10 repetições. Foram analisados 10 fêmeas e 10 machos de *T. urichi* para cada hospedeiro. Para cada parasitoide 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 desses caracteres morfológicos, primeiramente cada exemplar foi fotografado com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Leica Application Suite - Version 1.6.0). Após este procedimento, os caracteres dos indivíduos foram medidos utilizando-se o programa Image J - Version 1.47.

Análises dos dados

Os resultados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise exploratória para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (Shapiro & Wilk, 1965), homogeneidade de variância dos tratamentos e aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA (Burr & Foster, 1972). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro, utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (Sas Institute, 2009).

Resultados e Discussão

O período ovo-adulto (dias) foi menor para *T. urichi* em ovos de *E. heros* (13,15) quando comparado com os parasitoides em ovos de *D. melacanthus* (14,30) ($F = 66,68$; $p = 0,0004$). O maior parasitismo (n) de *T. urichi* foi observado em ovos de *E. heros* (16,15) em relação ao parasitismo em ovos de *D. melacanthus* (14,30) ($F = 8,01$; $p = 0,0293$). Orr (1988), destacou que as espécies do gênero *Trissolcus* são potencialmente eficazes como inimigos

naturais de *E. heros*. Assim como o número de ovos parasitados, a emergência também foi maior de parasitoides provenientes de ovos de *E. heros* (93,41%) e menor para parasitoides de ovos de *D. melacanthus* (82,84%) ($F = 6,98$; $p = 0,1758$). Diferentemente, a razão sexual da progênie não apresentou diferenças significativas quanto aos hospedeiros estudados ($F = 2,35$; $p = 0,1758$) (Tabela 1).

Tabela 1. Biologia de *Trissolcus urichi* em ovos dos hospedeiros *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus*. Ensaio realizado sob condições controladas com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de $80 \pm 10\%$ e fotoperíodo de 14/10 h [C/E].

Hospedeiro	Período ovo-adulto (dias) ¹	Ovos parasitados (n) ¹	Emergência (%) ¹	Razão sexual ¹
<i>E. heros</i>	13,15 \pm 0,05 b	16,15 \pm 1,09 a	93,41 \pm 1,38 a	0,78 \pm 0,02 ^{ns}
<i>D. melacanthus</i>	14,30 \pm 0,15 a	11,63 \pm 1,16 b	82,84 \pm 3,76 b	0,72 \pm 0,03
CV (%)	1,35	16,19	6,43	7,4
p	0,0004	0,0293	0,0387	0,1758
F	66,68	8,1	6,96	2,35

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna, não diferiu estatisticamente (Teste de Tukey, $P \leq 0,05$). nsANOVA não significativo.

Com relação aos caracteres morfológicos de *T. urichi*, a análise fatorial não detectou interação entre os fatores hospedeiro e gênero em relação a morfologia do comprimento do corpo ($p_{\text{hospedeiro} \times \text{Gênero}} = 0,1278$; $F_{\text{hospedeiro} \times \text{Gênero}} = 2,43$); comprimento da asa ($p_{\text{hospedeiro} \times \text{Gênero}} = 0,2097$; $F_{\text{hospedeiro} \times \text{Gênero}} = 1,63$); largura da asa ($p_{\text{hospedeiro} \times \text{Gênero}} = 0,1103$; $F_{\text{hospedeiro} \times \text{Gênero}} = 2,68$) e comprimento da tíbia ($p_{\text{hospedeiro} \times \text{Gênero}} = 0,7519$; $F_{\text{hospedeiro} \times \text{Gênero}} = 0,10$) (Tabela 2). O comprimento do corpo diferiu entre os hospedeiros ($p_{\text{hospedeiro}} = <0,0001$; $F_{\text{hospedeiro}} = 34,33$) com maior comprimento (0,11 mm) observado para *T. urichi* que emergiu de ovos de *E. heros*. Da mesma forma, também foram observadas diferenças entre o comprimento do corpo de fêmeas e machos, sendo que o comprimento do corpo das fêmeas (1,18 mm) foi maior que o do macho (1,11) ($p_{\text{gênero}} = 0,0012$; $F_{\text{gênero}} = 12,38$).

O comprimento das asas também diferiu entre os hospedeiros ($p_{\text{hospedeiro}} = 0,0004$; $F_{\text{hospedeiro}} = 15,35$). *Trissolcus urichi* que emergiu de ovos de *E. heros*

teve maior comprimento das asas (1,19 mm) quando comparado ao parasitoide que emergiu de ovos de *D. melacanthus* (1,10 mm). Diferentemente, o comprimento da asa foi o mesmo para ambos os gêneros (1,14 mm) ($p_{\text{gênero}} = 0,9491$; $F_{\text{gênero}} = 0,0$) (Tabela 2). Em relação à largura das asas, houve diferença entre os hospedeiros ($p_{\text{hospedeiro}} = 0,0354$; $F_{\text{hospedeiro}} = 4,78$) com valores maiores para os parasitoides que emergiram de ovos de *E. heros* (0,42 mm). O parâmetro morfológico largura das asas foi o mesmo entre os gêneros (0,41) ($p_{\text{gênero}} = 0,9205$; $F_{\text{gênero}} = 0,01$).

Diferentemente, dos parâmetros relatados anteriormente, o comprimento da tibia não diferiu entre os hospedeiros ($p_{\text{hospedeiro}} = 0,4853$; $F_{\text{hospedeiro}} = 0,5$), apresentando comprimento semelhante para ambos os hospedeiros, *E. heros* (0,34 mm) e *D. melacanthus* (0,33 mm). Igualmente, não foram observadas diferenças entre os gêneros, fêmeas (0,33 mm) e machas (0,35 mm) ($p_{\text{gênero}} = 0,1667$; $F_{\text{gênero}} = 1,99$) (Tabela 2).

Tabela 2. Caracteres morfológicos (mm) de *Trissolcus urichi* criados em ovos de *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus* sob condições controladas (T 25 ± 2 °C, 80 ± 10% UR e fotoperíodo de 14/10 horas [C/E]).

Parâmetros	Caracteres morfológicos (mm) ¹			
	Comprimento corpo	Comprimento asa	Largura da asa	Comprimento tibia
Hospedeiro				
<i>E. heros</i>	1,20 ± 0,02 a	1,19 ± 0,01 a	0,42 ± 0,01 a	0,34 ± 0,01 ^{ns}
<i>D. melacanthus</i>	1,09 ± 0,02 b	1,10 ± 0,02 b	0,39 ± 0,01 b	0,33 ± 0,01
Gênero				
Fêmea	1,18 ± 0,02 A	1,14 ± 0,02 A	0,41 ± 0,01 A	0,33 ± 0,01
Macho	1,11 ± 0,02 B	1,14 ± 0,02 A	0,41 ± 0,01 A	0,35 ± 0,01
Estatística				
CV (%)	5,26	6,22	5,27	13,76
phospedeiro	<0.0001	0,0004	0,0354	0,4853
pgênero	0,0012	0,9491	0,9205	0,1667
phospedeiro*gênero	0,1278	0,2097	0,1103	0,7519
phospedeiro	34,33	15,35	4,78	0,5
Fgênero	12,38	0,0	0,01	1,99
Fhospedeiro*gênero	2,43	1,63	2,68	0,10

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna de cada parâmetro (letras minúsculas para hospedeiro e letras maiúsculas para o gênero do parasitoide) não diferem significativamente entre si (Teste de Tukey, P≤0,05). nsANOVA não significativo.

Conclusão

Pode-se concluir que *E. heros* é um hospedeiro para *T. urichi* superior a *D. melacanthus*, apesar do parasitoide ter boa capacidade de parasitismo e desenvolvimento em ambos os hospedeiros avaliados.

Referências

- BUENO, A. F., CORRÊA-FERREIRA, B. S., ROGGIA, S., BIANCO, R. Silenciosos e daninhos. **Revista Cultivar**, v. 196, p. 25-27, 2015.
- BUENO, R. C. O.; PARRA, J. R. P.; BUENO, A. F. Biological characteristics and thermal requirements of a Brazilian strain of the parasitoid *Trichogramma pretiosum* reared on eggs of *Pseudoplusia includes* and *Anticarsia gemmatalis*. **Biological Control**, v. 51, p. 355-361, 2009.
- BURR, I. W.; FOSTER, L. A. **A test for equality of variances**. West Lafayette: Purdue University, 1972. 26p. (Mimeo series, 282).
- CIVIDANES, F. J. Development and emergence of *Trissolcus brochymenae* (Ashmead) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae) at different temperatures. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 25, p. 207-211, 1996.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, p. 1067-1072, 2005.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. Temperature effect on the biology and reproductive performance of the egg parasitoid *Trissolcus basalis* (Woll.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 23, n. 3, p. 399-399, 1994.
- CORRÊA-FERREIRA, B. S.; PANIZZI, A. R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: EMBRAPA-CNPSo, 1999. 45p. (EMBRAPA-CNPSo. Circular Técnica, 24).
- LAUMANN, R. A.; MORAES, M. C. B.; PAREJA, M.; ALARCAO, G. C.; BOTELHO, A. C.; MAIA, A. H. N.; BORGES, M. Comparative biology and functional response of *Trissolcus* spp. (Hymenoptera: Scelionidae) and implications for stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) biological control. **Biological Control**, v. 44, p. 32-41, 2008.
- ORR, D. B. Scelionid wasps as biological control agents: a review. **Florida Entomologist**, v. 71, p. 506-528, 1988.
- PANIZZI, A. R.; BUENO, A. F.; SILVA, F.A.C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C. B.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; MOSCARDI, F. (Ed.). **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. p. 335-418.
- PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R. P.; SANTOS, C. H.; CARVALHO, D. R. Rearing the southern green stink bug using artificial dry diet and artificial plant. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 1709-1715, 2000.
- PERES, W. A. A.; CORRÊA-FERREIRA B.S. Methodology of mass multiplication of *Telenomus podisi* Ashmead and *Trissolcus basalis* (Hymenoptera: Scelionidae) on eggs of *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 33, p. 457-462, 2004.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT**: user's guide. Version 9.2. Cary: SAS Institute, 2009.

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

SMANIOTTO, L. F.; PANIZZI, A. R. Interactions of selected species of stink bugs (Hemiptera: Heteroptera: Pentatomidae) from leguminous crops with plants in the Neotropics. **Florida Entomologist**, v. 98, p. 7-17, 2015.

TORRES, J. B.; ZANUNCIO, J. C.; PICANCO, M. C., OLIVEIRA, A. C. Parametros poblacionales de tres parasitoides (Hymenoptera: Scelionidae, Encyrtidae) utilizando el depredador *Podisus nigrispinus* (Hemiptera; Pentatomidae) como hospedero. **Revista de Biología Tropical**, v. 40, p. 233-240, 1997.

van LENTEREN, J. C.; BUENO V. H. P. Augmentative biological control of arthropods in Latin America. **Biocontrol**, v. 48, p. 123-139, 2003.

Colágeno hidrolisado como aditivo para inoculação de *Bradyrhizobium* em sementes de soja

PINTO, D.B.B.¹; FERREIRA, E.²; HUNGRIA, M.³ NOGUEIRA, M.A.³

¹Centro Universitário Filadélfia de Londrina - Unifil, Londrina, PR, deborabpp@hotmail.com;

²Laboratório de Biotecnologia do Solo, Embrapa Soja; ³Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

A soja é uma das principais culturas no agronegócio brasileiro e uma das oleaginosas mais cultivadas no mundo. Devido seu alto teor de óleo e proteína é bastante empregada na alimentação humana e na produção de ração animal, além de aplicações em indústrias cosméticas, farmacêutica, veterinária, etc.

A cultura da soja tem elevada demanda por nitrogênio (N) devido ao alto teor de proteínas nos grãos. Para produzir 1000 kg de grãos, são necessários 15 kg de N para o desenvolvimento estrutural da planta e mais 65 kg para os grãos, resultando em uma demanda de aproximadamente 80 kg de N (Hungria et al., 1997). Essa demanda tornaria inviável a produção de soja se o suprimento de N fosse realizado por meio de fertilizantes químicos, frente ao seu elevado custo de produção. Porém, essa demanda pode ser suprida por meio de bactérias do gênero *Bradyrhizobium* ao realizarem o processo de fixação biológica do N (FBN).

Os *Bradyrhizobium* presentes no solo geralmente levam mais tempo para estabelecer a simbiose com a planta hospedeira, sendo que, pelo uso de inoculantes, é possível aumentar o número de bactérias ativas viáveis aplicadas via sementes, o que aumenta a velocidade de estabelecimento da simbiose e também a ocupação nodular por bactérias mais eficientes em realizar a FBN. A inoculação de sementes de soja em áreas sem população estabelecida de *Bradyrhizobium* é essencial para a cultura, mas mesmo em áreas com alta no solo, a inoculação tem levado a um ganho médio de produtividade de 8% (Hungria et al., 2017).

Muitos setores da indústria utilizam couro para fabricação de produtos, como fábricas de sapatos, roupas, indústria automobilística, artefatos, com geração cada vez maior de resíduos, o que demanda estudos sobre seu reaproveitamento e redução dos impactos ambientais. Para produzir 200 kg de couro para comercialização, cerca de uma tonelada de pele precisa ser beneficiada, o que produz cerca de 250 kg de resíduos sólidos de couro não curtido e 200 kg de resíduos curtos, além de 50 mil kg de águas residuárias (Erdem; Ozverdi, 2008). Entretanto, esses resíduos podem ser reaproveitados no sistema de produção ou na geração de subprodutos, como o uso de águas residuárias como fonte de nutrientes na agricultura ou a extração de colágeno para aplicação agroindustrial a partir dos resíduos de couro, respectivamente.

As células de *Bradyrhizobium* aplicadas sobre sementes de soja podem perder sua viabilidade rapidamente por meio de ressecamento, altas temperaturas ou estresse osmótico produzido por substâncias aplicadas concomitantemente às sementes, como micronutrientes e produtos fitossanitários. Entretanto, várias substâncias, geralmente polímeros, têm sido testadas como aditivos para inoculantes, visando aumentar a sobrevivência das células inoculadas e conseqüentemente manter seu potencial de inóculo por mais tempo. Nesse aspecto, o colágeno tem potencial para uso como protetor celular para inoculação de sementes de soja.

O objetivo desse trabalho foi empregar o colágeno proveniente da indústria curtumeira como aditivo para a inoculação de *Bradyrhizobium* em sementes de soja e avaliar seu efeito na sobrevivência das bactérias aplicadas às sementes.

Material e Métodos

Os testes foram desenvolvidos no Laboratório de Biotecnologia do Solo da Embrapa Soja, em Londrina, PR. Empregaram-se nos testes sementes de soja da cultivar BRS1010, que foram inoculadas com inoculante comercial contendo as estirpes SEMIA 5079 e SEMIA 5080, em combinações com a adição do colágeno hidrolisado, cujo pH era 7,8.

Primeiramente realizou-se teste para determinar qual seria a melhor concentração de colágeno para se trabalhar, que não interferisse na distribuição das

sementes. Testaram-se as concentrações de 25%, 50%, 75% e 100% do colágeno, cuja concentração final foi obtida pela diluição em água deionizada, em alíquotas de 10 mL. As misturas foram aplicadas sobre as sementes da dose de 6 mL/kg de sementes e homoganeamente distribuídas. Após a homogeneização as sementes foram deixadas a secar por XX min em condição ambiente, observando-se quanto à ocorrência de adesão entre as sementes tratadas. Observou-se que a aplicação de 6 mL/kg de sementes da concentração 50% foi a maior concentração em que não havia adesão entre as sementes.

Definida a melhor concentração para se trabalhar, testou-se a compatibilidade com *Bradyrhizobium* proveniente de um inoculante comercial contendo protetor celular. Duas alíquotas de 500 g de sementes foram tratadas, sendo a primeira recebendo 1 mL de inoculante líquido mais 2 mL de colágeno 50%, enquanto a segunda recebeu apenas 1 mL do inoculante. O inoculante empregado é um produto comercial que apresenta protetor celular. Após duas horas de tratamento, foram coletadas três alíquotas de 100 sementes de cada tratamento, suspensas em solução fisiológica 0,85%, diluídas em série e plaqueadas em triplicata em meio YMA para a recuperação das células de *Bradyrhizobium*. O ensaio de recuperação de células foi realizado de acordo com as metodologias e especificações das Instruções Normativas n. 30, de 12 de dezembro de 2010 e n. 13, de 24 de março de 2001 (Brasil, 2010, 2011).

Com base no desempenho da recuperação de células de *Bradyrhizobium* com o uso do colágeno como aditivo, foram realizados testes de sobrevivência em sementes em diferentes tempos de armazenamento. Utilizaram-se três alíquotas de 500 g de sementes, sendo uma tratada com 1 mL de inoculante sem protetor celular e 2 mL de colágeno na diluição de 50%; a segunda alíquota foi tratada com 1 mL de inoculante com protetor celular; a terceira com 1 mL de inoculante sem protetor, que foram avaliados nos tempos de: 2 h, 1 dia, 2 dias, 6 dias, 12 dias, 19 dias após a inoculação. As sementes foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em temperatura ambiente ao longo do período do teste. Para o primeiro teste com 2 h, três alíquotas de 100 sementes de cada tratamento foram suspensas em solução salina, diluídas em série e plaqueadas em triplicata em meio YMA para a recuperação das células de *Bradyrhizobium*, e assim sucessivamente para cada período

de recuperação de células. O ensaio foi realizado de acordo com as metodologias e especificações das Instruções Normativas n. 30, de 12 de dezembro de 2010 e n. 13, de 24 de março de 2011 (Brasil, 2010, 2011).

Resultados e Discussão

A concentração de 50% colágeno foi a escolhida para os testes seguintes porque após sua aplicação às sementes resultou em cobertura homogênea, formando uma fina película sobre o grão, sem que ocorresse aderência entre as sementes, fato que ocorreu nas concentrações de 75 e 100% colágeno. A aderência das sementes causaria implicações no mecanismo de distribuição de sementes, o que prejudicaria o processo de semeadura. Todos os tratamentos respeitaram o volume máximo de calda, que não deve ultrapassar 600 mL/100 kg de sementes (Henning, 2004), já que volumes maiores de solução aquosa podem causar danos à semente, prejudicando a germinação (Tecnologias..., 2013).

Com o intuito de saber qual o comportamento das bactérias de *Bradyrhizobium* com o colágeno, realizou-se o teste de sobrevivência de células. As sementes que receberam o colágeno mais inoculante tiveram uma recuperação de células três vezes maior em relação às sementes tratadas somente com inoculante (Figura 1).

Constatado que o colágeno não prejudica a recuperação de células de *Bradyrhizobium*, avaliou-se a sobrevivência das bactérias ao longo de 19 dias de armazenamento. Tal qual o teste anterior, as sementes tratadas com colágeno apresentaram maior recuperação de células quando comparadas às sementes que receberam somente inoculante sem protetor celular e inoculante com protetor (Figura 2). Na recuperação de células no dia do tratamento das sementes, todas estiveram acima do limite mínimo, uma vez que devem ser recuperadas de 80-100 mil células no momento da semeadura, sendo este número considerado o ideal para ocorrer uma boa nodulação na soja (Hungria et al., 2017). Após um dia de armazenamento, somente as sementes que receberam o colágeno ainda estavam dentro do aceitável como uma boa recuperação de células; já no sexto dia de armazenamento, nenhum tratamento apresentava recuperação de células adequada para uma boa nodulação, com uma taxa de sobrevivência próxima a 10.000 células nos

tratamentos com inoculante comum + colágeno ou inoculante comercial com protetor celular, enquanto o inoculante comum praticamente não resultou em recuperação de células.

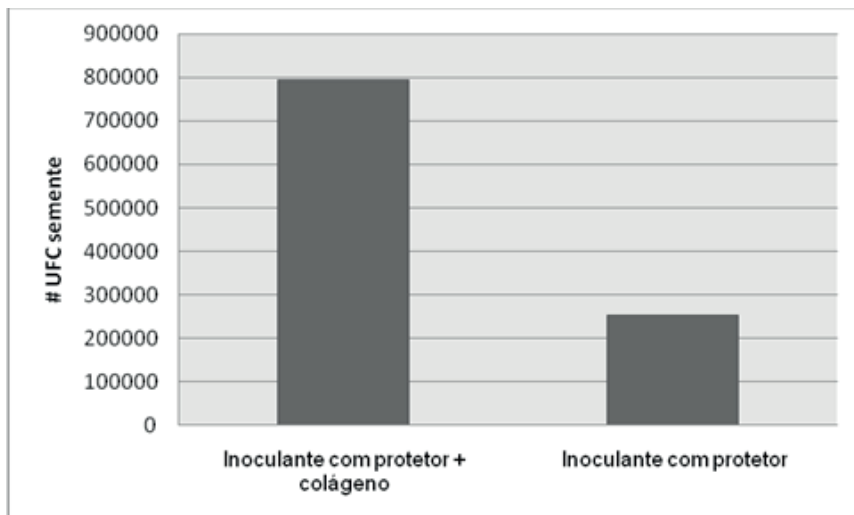


Figura 1. Número de células de *Bradyrhizobium* (UFC semente⁻¹) recuperadas de sementes de soja que recebeu inoculante com protetor celular, na presença ou ausência de colágeno.



Figura 2. Número de células de *Bradyrhizobium* (UFC semente⁻¹) recuperadas de sementes de soja inoculadas com inoculante comum, inoculante comum + colágeno, e inoculante com protetor celular, em função do tempo de armazenamento.

Conclusão

O uso de colágeno como aditivo para inoculação de *Bradyrhizobium* pode ser promissor para aumentar a sobrevivência de células inoculadas sobre as sementes de soja, beneficiando a fixação biológica do nitrogênio na cultura.

Referências

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 13, de 24 de março de 2011. Aprovar as normas sobre especificações, garantias, registro, embalagem e rotulagem dos inoculantes destinados à agricultura, bem como as relações dos micro-organismos autorizados e recomendados para produção de inoculantes no Brasil. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 58, p.1-24, 25 mar. 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 30, de 12 de novembro de 2010. Estabelecer os métodos oficiais para análise de inoculantes, sua contagem, identificação e análise de pureza na forma desta Instrução Normativa. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 219, p. 4-10, 17 nov. 2010.
- ERDEM, M.; OZVERDI, A. Leaching behavior of chromium in chrome shaving generated in tanning process and its stabilization. **Journal of Hazardous Materials**, v. 56, p. 51-55, 2008.
- HENNING, A. A. **Patologia e tratamento de sementes: noções gerais**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 51 p. (Embrapa Soja. Documentos, 235).
- HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S.; SILVA JUNIOR, E. B.; ZILLI, J. E. Inoculum rate effects on the soybean symbiosis in new or old fields under tropical conditions. **Agronomy Journal**, v. 109, n. 3, p. 1-7, 2017.
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; CAMPO, R. J.; GALERANI, P. R. **Adubação nitrogenada na soja?**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1997. 4p. (EMBRAPA-CNPSO. Comunicado Técnico, 57).
- TECNOLOGIAS de produção de soja - Região Central do Brasil 2014. Londrina: Embrapa Soja, 2013. 265 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 16).

Criopreservação de isolados de feijoeiro e caupi coletados em regiões do Mato Grosso do Sul

MOURA, F.M.¹; DELAMUTA, J.R.M.¹; CHUEIRE, L.M.O.²; RIBEIRO, R.A.²; NOGUEIRA, M.A.³, HUNGRIA, M.³

¹CNPq, Londrina, PR, fernanda.moura@colaborador.embrapa.br; ²Embrapa Soja, Laboratório de Biotecnologia do Solo; ³Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

O feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) é uma leguminosa de grande expressividade econômica e social, representando a principal fonte de proteínas para a população brasileira de baixa renda. A exemplo de outras leguminosas possui a capacidade de formar associações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio, também conhecidas como diazotróficas ou rizóbios, resultando em estruturas especializadas nas raízes, os nódulos. Nesses órgãos ocorre a transformação do N₂ atmosférico em amônia, que de imediato passa a íons amônio, que serão distribuídos para a planta e incorporados em componentes nitrogenados (Hungria et al., 1997, 2007).

As coleções de culturas de microrganismos têm como intuito conservá-los e preservá-los, através de técnicas já estabelecidas para cada grupo, a fim de garantir sua sobrevivência, estabilidade e pureza por um longo período de tempo, conservando características genéticas e propriedades morfofisiológicas. Nas coleções, os microrganismos estarão disponíveis, para fins experimentais, trabalhos de rotinas laboratoriais, estudos comparativos, entre outros (Romeiro, 1996).

Um método eficiente de conservação se dá pela criopreservação, que consiste em preservar a célula por armazenamento em temperaturas ultra baixas (-80°C e -150°C). À medida que a temperatura se aproxima de 0°C, a atividade metabólica celular é reduzida. Sendo assim, a criopreservação interrompe a atividade celular, mas permite que suas funções sejam retomadas após o descongelamento (Barbas; Mascarenhas, 2009).

Para que não ocorra a morte da célula devido à baixa temperatura submetida, são utilizados protetores celulares, sendo o glicerol amplamente utilizado como agente crioprotetor, auxiliando a mitigar os efeitos do choque térmico,

pela redução dos estresses físicos e químicos resultantes do congelamento e degelo das células (Lima, 2011). O objetivo deste trabalho foi verificar a pureza de bactérias isoladas de nódulos de feijoeiro coletado em diversos locais do Mato Grosso do Sul, a fim de armazená-las pelo método de criopreservação.

Material e Métodos

As estirpes foram isoladas pelo pesquisador Dr. Fábio Martins Mercante e pertencem à Coleção de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Agropecuária Oeste (CCMAO) (Dourados, MS), totalizando cerca de 1260 isolados. Essas bactérias foram isoladas de nódulos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) e feijão caupi (*Vigna unguiculata*) oriundos de diversos locais no Mato Grosso do Sul. As estirpes estavam armazenadas em tubos contendo o meio de cultura YMA modificado (*yeast, manitol, agar*; extrato de levedura, manitol e ágar) (Hungria; Araujo, 1994) e cobertas com vaselina líquida esterilizada.

Até o presente momento, a caracterização morfofisiológica foi realizada em 444 estirpes, observando-se o tamanho e forma das colônias, textura, produção e consistência da massa de crescimento em YMA contendo o corante vermelho Congo (VG). O crescimento foi realizado em estufa BOD a 28°C ($\pm 2^\circ\text{C}$), sendo que a manifestação de crescimento foi de 2 a 4 dias. As estirpes que exibiram algum tipo de contaminante ou não cresceram foram eliminadas. Algumas estirpes precisaram ser repicadas novamente no meio YMA contendo VC, para confirmar sua pureza (Hungria; Araujo, 1994).

As estirpes autenticadas como puras foram armazenadas em criotubos de 2 mL contendo o meio YM líquido e 30% de glicerol, com três cópias mantidas em ultra freezer -80°C. Assim, elas estão aptas para adentrarem na “Coleção de Culturas de Microrganismos Multifuncionais da Embrapa Soja: Bactérias Diazotróficas e Promotoras do Crescimento de Plantas”, no Laboratório de Biotecnologia do Solo (Londrina, PR).

Resultados e Discussão

Das 444 estirpes, 212 foram criopreservadas e 232 eliminadas, seja pela falta de crescimento, ou por apresentarem algum tipo de contaminação. Esse número elevado de estirpes eliminadas pode ser resultado do tempo de armazenamento das mesmas, em torno de 12 anos, em temperatura ambiente. O trabalho está no início, restando cerca de 800 estirpes para serem avaliadas. A seguir, as estirpes que foram armazenadas a -80°C serão preparadas para a criopreservação a -150°C e, também, por liofilização. O trabalho continuará com as remanescentes 800 estirpes da coleção inicial.

Visando o estabelecimento de um sistema reconhecido de qualidade da Coleção de Culturas da Embrapa Soja, a metodologia de criopreservação do Laboratório de Biotecnologia do Solo já possui um Procedimento Operacional Padrão (POP) estabelecido, sendo a viabilidade das estirpes verificada por amostragem a cada dois anos; até o presente momento, as bactérias armazenadas há vários anos e analisadas continuam viáveis. Abreu e Tutunji (2004) analisaram 1500 amostras de espécies bacterianas e fúngicas armazenadas em microtubos a 20°C , e observaram que, de um modo geral, os microrganismos apresentaram boa recuperação proporcionada pelo agente crioprotetor glicerol (10%); contudo, sempre há células que são mais sensíveis e não sobrevivem ao ultracongelamento, ou a longos períodos de armazenamento. No caso da Coleção da Embrapa Soja, resultados positivos estão sendo conseguidos com glicerol a 30%.

Conclusão

A criopreservação é um método eficiente para conservação e preservação de microrganismos e, quando os procedimentos são aplicados adequadamente, mantém a viabilidade após o descongelamento. No caso de bactérias diazotróficas e promotoras do crescimento de plantas, a criopreservação a -80°C com 30% de glicerol como crioprotetor tem-se apresentado como uma alternativa viável.

Agradecimento

O trabalho foi parcialmente financiado pelo Projeto INCT- Microrganismos Promotores do Crescimento de Plantas Visando à Sustentabilidade Agrícola e à Responsabilidade ambiental – MPCPAgro - (CNPq 465133/2014-4, Fundação Araucária-STI, CAPES).

Referências

- ABREU, M. M. V.; TUTUNJI, V. L. Implantação e manutenção da coleção de culturas de microorganismos do UniCEUB. **Universitas: Ciências da Saúde**, Brasília, DF, v. 2, n. 2, p. 236-251, 2004.
- BARBAS, J. P.; MASCARENHAS, R. D. Cryopreservation of domestic animal sperm cells. **Cell Tissue Bank**, v. 10, p. 49-62, 2009.
- HUNGRIA, M.; ARAUJO, R. S. (Ed.). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília, DF: EMBRAPA-SPI, 1994 p 156-160. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 46).
- HUNGRIA, M.; CAMPO, R. J.; MENDES, I. C. **A importância do processo de fixação biológica do nitrogênio para a cultura da soja**: componente essencial para a competitividade do produto brasileiro. Londrina: Embrapa Soja, 2007. 80 p. (Embrapa Soja. Documentos, 283).
- HUNGRIA, M.; VARGAS, M. A. T.; ARAUJO, R. S. Fixação biológica do N₂ na cultura do feijoeiro. In: VARGAS, M. A. T.; HUNGRIA, M. (Ed.). **Biologia dos solos de Cerrados**. Planaltina, DF: EMBRAPA-CPAC, 1997. p. 187-294.
- LIMA, D. T. **Efeito crioprotetor de lactose e glicose em células fúngicas imobilizadas em alginato de sódio como método de preservação de culturas**. 2011. 120 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Médica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- ROMEIRO, R. S. **Preservação de culturas de bactérias fitopatogênicas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1996. 11 p. Mimeografado.



Soja

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

CGPE 14669