



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

LUCIANA VERARDINO MACHADO

**TIOXAZAFEN NO CONTROLE DOS NEMATOIDES  
*Pratylenchus brachyurus* E *Meloidogyne incognita*  
NA CULTURA DO MILHO**

LUCIANA VERARDINO MACHADO

**TIOXAZAFEN NO CONTROLE DOS NEMATOIDES**  
***Pratylenchus brachyurus* E *Meloidogyne incognita***  
**NA CULTURA DO MILHO**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador: Prof. Dr. Amarildo Pasini

Co-orientadora: Profa. Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado

Londrina  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Verardino Machado, Luciana.

Tioxazafen no controle dos nematoides *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita*, na cultura do milho. / Luciana Verardino Machado. - Londrina, 2019.

64 f. : il.

Orientador: Amarildo Pasini.

Coorientador: Andressa C.Z. Machado.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2019.

Inclui bibliografia.

1. nematoide das lesões radiculares - Tese. 2. nematoide das galhas - Tese. 3. controle químico - Tese. 4. Zea mays - Tese. I. Pasini, Amarildo. II. C.Z. Machado, Andressa. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

LUCIANA VERARDINO MACHADO

**TIOXAZAFEN NO CONTROLE DOS NEMATOIDES**  
***Pratylenchus brachyurus* E *Meloidogyne incognita***  
**NA CULTURA DO MILHO**

Dissertação apresentada no Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientador: Prof. Dr. Amarildo Pasini  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Profa. Dra. Débora Cristina Santiago  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Donizeti Aparecido Fornaroli  
Universidade Filadélfia – UNIFIL

Londrina, 28 de fevereiro, 2019

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Estadual de Londrina – UEL, ao programa de Pós-Graduação em Agronomia e a todos os professores que eu convivi durante o período de curso;

Ao professor e orientador Amarildo Pasini pelos ensinamentos, amizade, tutoria e paciência durante os anos de pós-graduação;

À professora, pesquisadora do IAPAR e co-orientadora, Andressa C.Z. Machado, pela orientação, ensinamentos, dedicação e amizade durante o curso e condução do projeto;

Ao Pesquisador do IAPAR Santino A. Silva por todo o auxílio, ensinamentos, troca de experiências e pela ajuda nas análises estatística dos dados;

Aos colegas de trabalho Thiago Nascimento e Paulo Carneiro pelo companheirismo e ajuda durante a condução dos experimentos;

Aos colegas e estagiários do IAPAR pelo apoio e suporte durante a condução dos experimentos;

Aos Engenheiros Agrônomos Dr. Geraldo Berger e Dra. Marcia Ometto José, pela oportunidade de crescimento pessoal e profissional;

A Bayer Crop Science (ex-Monsanto do Brasil) por proporcionar que eu desenvolvesse a pesquisa com esse produto;

A minha querida família por todo o suporte e apoio durante todo o período do mestrado;

Ao meu esposo Odair Machado da Silva Filho, por todo o incentivo para que ingressasse e concluísse o mestrado, pela compreensão durante esses anos e por ser um pai sempre presente, principalmente nas épocas mais corridas!!

Aos meus filhos, Nicolas Verardino Machado e Miguel Verardino Machado, que apesar de pequenos, entenderam a minha ausência em muitos finais de semana!!

MACHADO, Luciana Verardino. **Tioxazafen no controle dos nematoides *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita* na cultura do milho.** 2019. 64 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

## RESUMO

Dentre as doenças bióticas que afetam a produtividade agrícola destacam-se os nematoides, atuando como parasitas, sendo a aplicação de produtos químicos ou biológicos uma das estratégias utilizadas no seu manejo. O tioxazafen consiste em uma nova molécula química nematicida, recomendada no tratamento de sementes nas culturas da soja, milho e algodão. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do nematicida tioxazafen no controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita*, isolado ou combinado com inseticidas utilizados em tratamentos de sementes de milho, bem como possíveis efeitos fitotóxicos nas plantas do híbrido DKB390 PRO3. Foram conduzidos quatro ensaios em casa de vegetação, sendo dois para cada espécie de nematoide, em 2018. Foram testadas as doses de tioxazafen de 60 e 120 mL/65.000 sementes, equivalente a 0,5 e 1,0 mg i.a./ semente, isolado ou combinado com inseticidas (imidacloprido + thiodicarbe clotianidina, clorantraniliprole clotiniadina + clorataniliprole) utilizados no tratamento de sementes de milho. Nos quatro ensaios, *P. brachyurus* e *M. incognita* foram extraídos das raízes para quantificação e cálculo do fator de reprodução (FR), número de nematoide por grama de raiz, além da massa fresca de raízes (MFR), massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA), em uma única época de avaliação por ensaio, que variou de 42 a 80 dias após inoculação. Para verificar uma possível fitotoxicidez, ocasionada em decorrência dos tratamentos e verificar se as sementes tratadas permaneceriam com boa emergência e crescimento inicial das plantas, foram avaliadas a porcentagem de emergência e MSPA aos 0, 40, 80, 120 e 200 dias após o tratamento das sementes em um ensaio sem a presença dos nematoides. Os resultados indicam que o produto tioxazafen nas duas doses testadas, bem como a combinação com outros produtos, atuam de forma efetiva na redução de *P. brachyurus* e *M. incognita* nas raízes de milho, sem ocasionar efeitos significativos na emergência ou no crescimento das plantas (MFR, MFPA e MSPA).

**Palavras-chave:** *Zea mays*. Nematoide das lesões radiculares. Nematoide das galhas. Controle químico.

MACHADO, Luciana Verardino. **Tioxazafen to control *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne incognita* in maize crop.** 2019. 64 p. Dissertation (Master's degree in Agronomy) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

### ABSTRACT

Among the biotic diseases that affect agricultural productivity, nematodes are acting as a plant parasites, and chemical or biological products could be one of the strategies used in the management of nematodes. Tioxazafen consists of a new nematicidal chemical molecule used as seed treatment in soybean, maize and cotton crops. The objective of this study was to evaluate the efficacy of the nematicide tioxazafen for *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne incognita* control, alone or combined with insecticide, as well as a fitotoxicity on DKB390 PRO3 corn hybrid. Four studies were carried out under greenhouse conditions, two for each specie of nematode, in 2018. The rates of tioxazafen of 60 and 120 mL / 65.000 seeds, equivalent to 0.5 mg and 1.0 mg / seed, were tested isolated or combined with insecticide (imidacloprido + thiodicarbe clotianidina, clorotraniliprole clotiniadina + clorotraniliprole) used in corn seeds. For the four trial, one evaluation were made for *P. brachyurus* and *M. incognita* from 42 to 80 days after inoculation. The nematodes were extracted from the roots and quantified to further calculation of the reproduction factor (RF) and number of nematode / g of root, fresh root weight (FRW) and fresh and dry shoot weight (FSW, DSW). In order to verify a possible phytotoxicity caused by treatments and also to verify if the treated seed would remain with good emergence and plant growth, the percentage of emergence and DSW at 0, 40, 80, 120 and 200 days after seed treatment were evaluated in a study without the presence of nematode. The results indicate that the product tioxazafen at 60 and 120 mL/65.000 seed as well as the combination with others products, reduced *P. brachyurus* and *M. incognita* on corn roots, without causing significant effects on emergence and plant growth development (MFR, FSW and DSW).

**Keywords:** *Zea mays*. Root-lesion nematode. Root-knot nematode. Chemical control

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1:	Aplicação do inóculo de ovos e juvenis de nematoides nos recipientes de isopor, contendo uma planta de milho (logo após a emergência), dividindo-se a concentração de inóculo em dois orifícios no colo da plântula.....	34
Figura 2:	Plantas de milho no momento da avaliação dos ensaios de <i>Meloidogyne incognita</i> aos 46 dias (Área 1- esquerda) e aos 70 dias (Área 2 - direita).....	34
Figura 3:	Plantas de milho no momento da avaliação dos ensaios de <i>Pratylenchus brachyurus</i> aos 75 dias (Área 1 - esquerda) e aos 80 dias (Área 2 - direita).....	34
Figura 4:	Disposição dos tratamentos na bandeja para ensaios de emergência de milho.....	38
Figura 5:	Plantas de milho dos respectivos tratamentos no momento da avaliação da massa seca de parte aérea (21 DAS), aos 40 dias após o tratamento das sementes.....	38
Figura 6:	Plantas de milho dos respectivos tratamentos, no momento da avaliação da massa seca da parte aérea (21 DAS), aos 120 dias após o tratamento das sementes.....	38

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 3.1.** Descrição dos tratamentos, concentração e dose dos produtos utilizados para controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita* em plantas de milho, safra 2017/2018. ....31
- Tabela 3.2.** Número de *Pratylenchus brachyurus* por grama de raiz (nematóide/g. raiz), fator de reprodução (FR) e porcentagem de controle (%CTLR) em plantas de milho sob diferentes tratamentos. Avaliação realizada aos 75 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018. ....40
- Tabela 3.3.** Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea de plantas de milho, sob diferentes tratamentos, quando inoculadas com *Pratylenchus brachyurus*. Avaliação aos 75 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018. ....41
- Tabela 3.4.** Número de *Pratylenchus brachyurus* por grama de raiz (nematóide/g. raiz), fator de reprodução (FR) e porcentagem de controle (%CTLR) em plantas de milho sob diferentes tratamentos. Avaliação realizada aos 80 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Londrina, PR, 2018. ....43
- Tabela 3.5.** Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea de plantas de milho sob diferentes tratamentos, quando inoculadas com *Pratylenchus brachyurus*. Avaliação aos 80 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Londrina, PR, 2018. ....44
- Tabela 3.6.** Número de *Meloidogyne incognita* por grama de raiz (nematóide/g.raiz), fator de reprodução (FR) e porcentagem de controle (%CTLR) em plantas de milho sob diferentes tratamentos. Avaliação realizada aos 46 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018. ....46
- Tabela 3.7.** Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea de plantas de milho sob diferentes tratamentos, quando inoculadas com *Meloidogyne incognita*.

	Avaliação aos 46 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018. ....	47
<b>Tabela 3.8.</b>	Número de <i>Meloidogyne incognita</i> por grama de raiz (nematóide/g.raiz), fator de reprodução (FR) e porcentagem de controle (%CTLR) em plantas de milho sob diferentes tratamentos. Avaliação realizada aos 70 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Londrina, PR, 2018. ....	49
<b>Tabela 3.9.</b>	Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea de plantas de milho sob diferentes tratamentos, quando inoculadas com <i>Meloidogyne incognita</i> . Avaliação aos 70 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Londrina, PR, 2018. ....	50
<b>Tabela 3.10 -</b>	Massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de milho sob diferentes tratamentos, sem a presença de nematoides. Avaliação aos 21 dias após a semeadura para as datas de 0, 40, 80, 120 e 200 dias após o tratamento das sementes (DAT). Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018 .....	54
<b>Tabela 3.11 -</b>	Porcentagem de sementes de milho emergidas, em diferentes tratamentos, até 200 dias de armazenamento. Rolândia, PR, 2018 .....	56

## SUMÁRIO

1.	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
2.	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	12
2.1.	<b>Aspectos Gerais Sobre Nematoides</b> .....	12
2.2.	<b>Nematoides na Cultura do Milho</b> .....	13
2.3.	<b>Nematoide das Lesões – Gênero <i>Pratylenchus</i></b> .....	14
2.4.	<b>Nematoide das Galhas – Gênero <i>Meloidogyne</i></b> .....	16
2.5.	<b>Manejo Integrado de Nematoides</b> .....	18
2.5.1.	<b>Controle Biológico e Químico</b> .....	21
3.	<b>ARTIGO: EFICÁCIA DO TRATAMENTO DE SEMENTES DE MILHO COM TIOXAZAFEN NO CONTROLE DE <i>PRATYLENCHUS BRACHYURUS</i> E <i>MELOIDOGYNE INCOGNITA</i></b> .....	25
3.1.	<b>Resumo</b> .....	25
3.2.	<b>Abstract</b> .....	26
3.3.	<b>Introdução</b> .....	27
3.4.	<b>Material e métodos</b> .....	29
3.4.1.	<b>Ensaio para avaliação de eficácia</b> .....	29
3.4.1.1.	<b>Semeadura, Obtenção do Inóculo e Inoculação</b> .....	31
3.4.1.2.	<b>Análise dos dados</b> .....	35
3.4.2.	<b>Ensaio para Avaliação da Fitotoxicidade Inicial e Germinação</b> .....	35
3.5.	<b>Resultados e Discussão</b> .....	39
3.5.1.	<b>Avaliação de eficácia</b> .....	39
3.5.1.1.	<b><i>Pratylenchus brachyurus</i> – Área 1 (Rolândia, PR)</b> .....	39
3.5.1.2.	<b><i>Pratylenchus brachyurus</i> – Área 2 (Londrina, PR)</b> .....	42
3.5.1.3.	<b><i>Meloidogyne incognita</i> – Área 1 (Rolândia, PR)</b> .....	44
3.5.1.4.	<b><i>Meloidogyne incognita</i> – Área 2 (Londrina, PR)</b> .....	47
3.5.2.	<b>Avaliação da Fitotoxicidade Inicial e Germinação</b> .....	53
3.6.	<b>Conclusões</b> .....	57
4.	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58

## 1. INTRODUÇÃO

A produção de grãos no Brasil na safra 2017/2018 foi de 228,5 milhões de toneladas, com redução de 3,9% em relação à safra anterior. A área plantada foi de 61,6 milhões de hectares, sendo 56,7% da área com a cultura da soja e 27,1% com a cultura do milho (CONAB, 2018). A produção de soja aumentou em relação à safra anterior, chegando a 118,9 milhões de toneladas, porém a produção de milho reduziu para 82,9 milhões de toneladas, diferença de cerca de 13 milhões em relação ao ano anterior (CONAB, 2018). Segundo FIESP (2017), o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, ficando atrás dos Estados Unidos e China.

Para suprir uma demanda crescente por alimento, são utilizadas técnicas que melhoram a produtividade, tais como melhoramento genético, biologia molecular, através dos organismos geneticamente modificados, agricultura de precisão, entre outras (FERRAZ; BROWN, 2016). Aliado a esses avanços tecnológicos, a planta precisa ter sua sanidade garantida, para que consiga atingir as produtividades esperadas.

Dentre as causas bióticas que afetam a produtividade agrícola, encontram-se os nematoides, atuando como parasitas. Existem aproximadamente 4100 espécies de nematoides parasitas de plantas. Estes dependem da umidade do solo para se locomoverem, além da estrutura do solo, que, geralmente, permite melhor movimentação dos nematoides em solos arenosos (DECRAEMER; HUNT, 2013). O ciclo de vida é de aproximadamente 30 dias nas regiões tropicais, podendo variar de acordo com a espécie, contemplando quatro formas juvenis entre o ovo e o adulto (BRIDGE; WILLIAMS, 2002).

Nas diversas culturas agrícolas, foram estimadas perdas ocasionadas por nematoides na ordem de 80 bilhões de dólares mundialmente (NICOL et al., 2011), sendo estas, provavelmente, subestimadas pela dificuldade de diagnose. O parasitismo nas raízes reflete em sintomas na parte aérea, que podem ser confundidos com sintomas causados por outros patógenos, bem como deficiência de nutrientes e excesso ou falta de água (GOULART, 2008).

Várias são as técnicas para manter a população de nematoides abaixo do nível de dano econômico, sendo que a integração dessas medidas tende a ter um sucesso maior do que se aplicadas isoladamente, destacando-se: rotação de

culturas, uso de cultivares resistentes, controle biológico e controle químico (MACHADO et al., 2016, FERRAZ; BROWN, 2016).

O uso do controle químico de nematoides iniciou-se na década de 1930, com produtos de ação fumigante altamente tóxicos ao ambiente e ao homem. A partir da década de 1970, outros produtos à base de carbamatos e organofosforados também foram registrados para aplicação no solo, porém ainda com alta toxicidade para humanos (MACHADO et al., 2016). Nos últimos dez anos, o tratamento de sementes vem se tornando uma importante opção de manejo para controle de fitonematoides, tendo como vantagem a diminuição de dose, aplicação localizada e a facilidade para aplicação, sendo muitas vezes possível a compra de sementes já tratadas na indústria. Tal tratamento possibilita uma maior proteção do sistema radicular na fase inicial da cultura, sendo muito importante para o estabelecimento e desenvolvimento da mesma (SIKORA et al., 2005; STARR et al., 2007, MACHADO et al., 2016).

Entretanto, poucas são as opções de produtos registrados para tratamento químico de sementes no controle de nematoides (AGROFIT, 2018). O tioxazafen é uma molécula nematicida ainda em fase de registro no Brasil, podendo ser mais uma opção para o tratamento de sementes. É um nematicida de amplo espectro para controle de fitonematoides, sendo testado nas culturas da soja, milho e algodão. Compreende um novo mecanismo de ação, diferente dos produtos disponíveis no mercado.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do nematicida tioxazafen no controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita*, isolado ou combinado com inseticidas utilizados em tratamentos de sementes de milho, bem como possíveis efeitos fitotóxicos em plantas do híbrido DKB390 PRO3.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos Gerais Sobre Nematoides

Os nematoides pertencem ao filo Nematoda, sendo os invertebrados mais abundantes da Terra, onde 50% são espécies marinhas, 25% de vida livre, 15% parasitas de animais e humanos e 10% são considerados parasitas de plantas (DECRAEMER; HUNT, 2007; RITZINGER et al., 2010; BROWN et al., 2015; MITIKU, 2018).

Podem ser classificados como de vida livre (onívoros, micófagos, bacteriófagos), zooparasitas e fitoparasitas. Vivem em vários habitats, porém necessitam de água para sua sobrevivência e locomoção, ou seja, umidade do solo, umidade relativa e outros fatores ambientais afetam diretamente a sua sobrevivência (DECRAEMER; HUNT, 2007). Algumas espécies possuem mecanismos com os quais conseguem sobreviver por longos períodos em umidades muito baixas, retomando sua atividade na presença de água (FERRAZ; BROWN, 2016).

São citados também como bioindicadores da microfauna edáfica do solo, se alimentando de outros animais, raízes de plantas e microorganismos, atuando como estimuladores da mineralização de nutrientes e no controle de outros organismos presentes na biota do solo (BROWN et al., 2015). Os nematoides de vida livre podem influenciar na reciclagem de carbono, compostos nitrogenados e nutrientes minerais, melhorando a fertilidade do solo e, conseqüentemente, a produtividade (FERRAZ; BROWN, 2016). Podem ser utilizados em estudos de ecossistemas, devido à sua abundância, diversidade e resposta a distúrbios ambientais (RITZINGER et al., 2010).

Os fitonematoides são microscópicos (0,2 a 3,0 mm de comprimento), parasitando preferencialmente raízes, mas podendo atacar tubérculos, rizomas e frutos hipógeos (amendoim), além de algumas espécies parasitarem a parte aérea da planta, porém sendo bem menos comuns do que nas raízes (FERRAZ; BROWN, 2016).

Os danos ocasionados pelos nematoides no sistema radicular podem refletir-se em uma série de sintomas na parte aérea da planta, como clorose, nanismo, murchamento, que são facilmente confundidos com deficiência de nutrientes,

estresse por seca e ataque de pragas e outras doenças (NICOL et al., 2011). Os danos são maiores em áreas tropicais e subtropicais (14,6%) do que em temperadas (8,8%) (NICOL et al., 2011).

Os fitonematoides estão presentes em diversas culturas de valor econômico, como as espécies perenes, cereais, plantas oleaginosas, hortaliças, frutíferas e fibrosas. As espécies encontradas no Brasil, com relevância econômica para soja, milho e algodão, são *Heterodera glycines* Ichinohe (soja), *Pratylenchus brachyurus* Filipjev & Schuurmans Stekhoven, (soja, milho e algodão), *Pratylenchus zeae* Graham (milho), *Meloidogyne incognita* Chitwood (soja, milho e algodão), *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood (soja e milho) e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (soja e algodão) (INOMOTO, 2015; GALBIERI; ASMUS, 2016; FERRAZ; BROWN, 2016).

Em levantamento de fitonematoides realizado na região de Jataí, GO, foi verificado que 96,7% das amostras apresentavam *H. glycines*, 77,3% *P. brachyurus* e 47% o nematoide do gênero *Helicotylenchus* (SILVA, 2007). Em outro levantamento realizado em 2009 no Mato Grosso, verificou-se 23,5% das amostras com *Meloidogyne* spp., 96% com *P. brachyurus*, 35% com *H. glycines* e 3,7% com *R. reniformis* (RIBEIRO; DIAS, 2009).

Um estudo sistemático, em áreas de algodão, realizado no Mato Grosso entre 2011 e 2015, demonstrou que 24,4% das áreas apresentaram *M. incognita*, 12,8% *R. reniformis* e 96,2% *P. brachyurus*, sendo que muitas das áreas tinham ocorrência simultânea desses nematoides. As perdas mais expressivas de produtividade ocorreram nas áreas infestadas por *M. incognita* e *R. reniformis* (GALBIERI et al., 2016).

## 2.2. Nematoides na Cultura do Milho

Foram identificadas mais de 60 espécies de nematoides em plantas de milho (*Zea mays* L.) em todo o mundo, sendo as principais as dos gêneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus* e *Heterodera* (MCDONALD; NICOL, 2005; NICOL et al., 2011), porém, este último não tem sido encontrado no Brasil em milho. Em 1994, nos Estados Unidos, foram diagnosticadas perdas na cultura do milho de 5 a 20% em produtividade, ocasionadas pela ocorrência de diversos gêneros, incluindo

*Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp. (KOENNING, 1999). O estabelecimento do nível de dano econômico torna-se complexo devido às diferentes espécies de nematoides, relação planta-hospedeiro, cultivares e condições ambientais tais como: estresse hídrico, fertilidade do solo, tipo de solo e mato-competição (NORTON, 1983), além de que a variabilidade sazonal e diferenças na metodologia de extração, dificultam a comparação entre estudos (MCDONALD; NICOL, 2005). O ideal seria que as amostragens de solo e raiz para análise nematológica fossem realizadas durante a fase reprodutiva da cultura anual (soja, milho, algodão) (DICKERSON et al., 2000).

No Brasil, ainda são poucos os relatos de perdas por nematoides na cultura do milho. Este fato diminui a preocupação do agricultor, que deixa de fazer o manejo quando a população ainda se encontra em níveis mais baixos, projetando um problema maior nos anos seguintes. O milho é suscetível a cinco espécies encontradas no Brasil: *Pratylenchus zae*, *P. brachyurus*, *P. jaehni*, *M. incognita* e *M. javanica* (INOMOTO, 2015). No caso de *M. javanica*, cerca de 20-30% dos híbridos comercializados no Brasil são resistentes. Neste caso, o milho é uma boa opção de rotação ou sucessão de culturas em áreas de soja com alta infestação de *M. javanica*, desde que utilizados híbridos resistentes, além de ser uma opção também para áreas infestadas por *H. glycines* ou *R. reniformis*, por não ser hospedeiro desses nematoides (INOMOTO, 2015). Até o momento não se conhece híbridos com alta resistência para *P. brachyurus* e *M. incognita* (PINTO et al., 2006). Dentre as espécies que parasitam o milho, as do gênero *Pratylenchus* são as mais frequentes e que podem acarretar maiores danos (LORDELLO, 1984).

### **2.3. Nematóide das Lesões Radiculares– Gênero *Pratylenchus***

O nematóide das lesões radiculares, do gênero *Pratylenchus*, está presente em diversas culturas e regiões do Brasil, principalmente no Cerrado e nas culturas da soja, milho, feijão, algodão e pastagem (GOURLART, 2008). Existem mais de 70 espécies deste gênero, sendo que no Brasil as mais importantes são *P. brachyurus*, *P. zae* e *P. coffeae* Filipjev & Schuurmans Stekhoven.

Apresentam tamanho entre 0,3 a 0,9 mm, sendo considerados endoparasitas migradores, causando uma abertura nas raízes durante a penetração e predispondo

a colonização por fungos e bactérias (AGRIOS, 2005; GOULART, 2008; FERRAZ, 1999). Sua ação parasita causa um rompimento da parede celular, causando lesões necróticas no sistema radicular, reduzindo a absorção de água e nutrientes pela planta (WAELE; ELSEEN, 2002). Os sintomas na parte aérea podem ser vistos pela diminuição no porte das plantas, cloroses e reboleiras no campo (DUNCAN; MOENS, 2006). O ciclo de vida compreende o ovo, quatro estádios juvenis e a forma adulta, sendo as fases infectivas representadas pelos três últimos estádios juvenis e os adultos (FERRAZ; BROWN, 2016). O ciclo varia de quatro a oito semanas, dependendo das condições de temperatura, umidade e planta hospedeira (JENKINS; TAYLOR, 1967).

*Pratylenchus brachyurus* é um nematoide polífago, presente na maioria das culturas de interesse comercial. Sua dispersão pode envolver vários fatores, como a indisponibilidade de cultivares resistentes, poucas opções para rotação de plantas que não sejam hospedeiras, temperaturas favoráveis ao seu desenvolvimento e reprodução (25-30°C), expansão das áreas cultivadas para locais com solos arenosos e áreas de plantio direto onde as culturas que entram em rotação ou sucessão, geralmente, são suscetíveis a esse nematoide (INOMOTO, 2015; FERRAZ et al., 2016). Os danos causados por *P. brachyurus* são mais evidentes em solos de textura arenosa (DIAS et al., 2010).

Nos Estados Unidos, foram verificadas reduções de até 30% na produtividade de soja, em condições experimentais na presença de *P. brachyurus*. No Brasil, há relatos de prejuízos em lavouras comerciais de soja no Mato Grosso, com queda de produtividade de até 50% (GOULART, 2008). Em estudo conduzido na safra 2011/12, no município de Vera, no Estado do Mato Grosso, foi estimada perda de produtividade de 1 saca de soja a cada 82 *P. brachyurus*/g de raiz (ANTONIO et al., 2012). Para milho, resultados demonstraram que o controle químico de nematoides aumentou a produtividade em 39%, em áreas infestadas com *P. zaeae* (CASELA, et al., 2006).

A cultura do milho é severamente atacada por *P. brachyurus* e *P. zaeae*. Perdas causadas por *P. zaeae* têm sido registradas em lavouras de milho, porém, por ser um nematoide específico de poáceas, seu manejo é mais eficiente com rotação de culturas. Porém, este fato não é verdadeiro para *P. brachyurus*, que é capaz de

se reproduzir e causar danos em diversas espécies de plantas, como algodão, amendoim, feijão e soja (INOMOTO, 2015).

Por ser um hospedeiro polífago, migrador e que não se fixa à planta hospedeira, o melhoramento genético voltado para resistência a *P. brachyurus* tem sido um desafio (GOULART, 2008). Ainda não foram verificados híbridos de milho que sejam resistentes a *P. brachyurus*. Inomoto et al. (2006), avaliando diferentes coberturas vegetais, verificaram fator de reprodução (FR) de *P. brachyurus* em milho na ordem de 4,75, sinalizando suscetibilidade ao mesmo. Rios et al. (2016) observaram que o híbrido de milho Agromen 30A06 reduziu a população em um segundo momento de avaliação, sendo considerado moderadamente resistente.

Para o plantio em áreas infestadas, é importante levar em consideração a quantidade de *P. brachyurus* encontrada, tendo um risco maior em quantidades acima de 200 espécimes por 200 cm<sup>3</sup> de solo (INOMOTO, 2015). Para a cultura do milho em estágio reprodutivo, Dickerson et al. (2000), consideram nível baixo de *Pratylenchus* spp. até 200 nematoides por 100 cm<sup>3</sup> de solo, nível intermediário entre 200 e 500 e nível alto acima de 500 *Pratylenchus* spp. por 100 cm<sup>3</sup> de solo. Sabe-se que níveis intermediários já podem causar danos à cultura, justificando manejo cultural e controle químico ou biológico.

#### **2.4. Nematóide das Galhas Radiculares – Gênero *Meloidogyne***

O gênero *Meloidogyne*, também conhecido como nematóide das galhas, compreende espécies endoparasitas sedentárias e é o grupo de maior importância econômica. Atualmente, existem mais de 100 espécies descritas deste gênero, sendo as mais comuns *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica*, representando 95% do total de perdas causadas por este gênero, sendo as duas últimas as mais importantes mundialmente (HUSSEY; JANSSEN, 2002; FERRAZ; BROWN, 2016).

Apresenta as fases de ovo, quatro estádios juvenis e a fase adulta, completando o ciclo em 3 a 4 semanas (GALBIERI; ASMUS, 2016). A fêmea deposita seus ovos em uma massa gelatinosa, na parte externa das galhas ou, com menos frequência, dentro das galhas, sendo que a temperatura ótima para eclosão dos juvenis está entre 23 e 30 °C. O juvenil de segundo estágio (J2) eclode dos ovos

com estímulo de temperatura, não sendo necessária a presença de raízes de plantas. Se não houver presença de raiz hospedeira, o J2 permanece no solo, consumindo suas reservas, sendo que sua infectividade é reduzida na ausência de alimento (MOENS; KARSEEN, 2006). A fase infectiva é somente o J2, que se move até o sítio de alimentação, formando um tecido nutridor (cenócito). A partir desta fase, o nematoide fica imóvel e ocorrem reações de hiperplasia e engrossamento das células, ocasionando o sintoma conhecido como galhas (AGRIOS, 2005; FERRAZ; BROWN, 2016). Uma fêmea pode produzir, em média, de 200 a 500 ovos (BRIDGE; WILLIAMS, 2002).

O parasitismo de *Meloidogyne* é favorecido em solos arenosos e sua atividade é mais acentuada com umidade entre 40 e 60% da capacidade de campo. Em condições de baixa umidade, a massa gelatinosa protege os ovos do ressecamento (FERRAZ; BROWN, 2016). São encontrados na zona da raiz, entre 5 e 25 cm de profundidade (AGRIOS, 2005).

As raízes de plantas parasitadas por *Meloidogyne* spp., na maioria das vezes, apresentam galhas, que podem variar de número e tamanho, dependendo da infestação e suscetibilidade do hospedeiro. Tubérculos como batata, inhame e cenoura, sofrem deformação e maior depreciação de mercado (AGRIOS, 2005). O ataque nas raízes reflete sintomas na parte aérea, sendo observadas plantas de menor porte, clorose e murchamento em dias mais quentes mesmo com umidade adequada do solo, em forma de reboleiras no campo. Quando a infecção ocorre na fase de plântula, pode acarretar perda total da cultura. Em soja, pode ocorrer ainda o abortamento de vagens (DIAS et al., 2010).

A cultura do algodão é extremamente sensível a *M. incognita* e, mesmo baixas populações (10 juvenis por 200 cm<sup>3</sup> de solo), podem ocasionar queda de produtividade (INOMOTO; ASMUS, 2006). Outra problemática que ocorre no algodão, em áreas infestadas por *M. incognita*, é a predisposição à maior incidência de fusariose, ocasionada por *Fusarium oxysporum*, já que cultivares resistentes ao fungo, na presença do nematoide, perdem sua capacidade de resistir aos danos causados por aquele. O uso de técnicas integradas de manejo, como rotação ou sucessão de culturas e aplicação de nematicidas, tem ajudado a diminuir a população de nematoides e assegurar a produtividade do algodão. Cultivares

resistentes podem ser uma alternativa, porém, se a infestação inicial for alta, a produtividade se iguala às de cultivares suscetíveis (INOMOTO; ASMUS, 2006).

Para a cultura do milho, considera-se nível baixo de *Meloidogyne* spp. até 150 nematoides por 100 cm<sup>3</sup> de solo, nível intermediário entre 150 e 300 e nível alto acima de 300 *Meloidogyne* por 100 cm<sup>3</sup> de solo, sendo que níveis intermediários já podem causar danos à cultura (DICKERSON et al., 2000).

## 2.5. Manejo Integrado de Nematoides

O manejo tem como premissa manter a população de nematoides abaixo de um nível que não cause danos econômicos ou com danos em níveis aceitáveis. Até meados do século passado, a principal técnica de controle era a utilização de produtos químicos. A partir da segunda metade do século XX, começou-se a empregar o MIN (Manejo Integrado de Nematoides), agregando diversas técnicas de controle (FERRAZ; BROWN, 2016).

O método da exclusão e prevenção da entrada de novas espécies de nematoides é a estratégia mais efetiva, porém, quando a espécie já está instalada, a utilização de outras medidas de manejo é essencial, tais como revolvimento do solo, rotação de culturas, uso de cultivares resistentes e controle biológico e/ou químico (SIKORA et al., 2005; MACHADO et al., 2016).

O controle biológico consiste no manejo dos nematoides pela presença de organismos que possam interferir na sua sobrevivência. Pesquisas com controle biológico iniciaram mais fortemente na década de 1980, sendo assunto de diversos trabalhos (MANKAU, 1980, 1981, SAYRE, 1981, TRIBE 1980, KERRY, 1987, apud CARNEIRO, R.M.D.G, 1992). O controle químico iniciou-se mais fortemente na década de 1940, com o brometo de metila, seguido pelos organofosforados e carbamatos a partir da década de 1970 e, após o ano 2000, com o uso de outros mecanismos de ação, utilizado em tratamento de sementes ou no sulco de plantio (FERRAZ; BROWN, 2016).

Estratégias de controle que ofereçam proteção da infecção até 4-5 semanas após a germinação são consideradas suficientes para assegurar um bom crescimento do sistema radicular e garantir produtividade de culturas anuais (SIKORA et al., 2005; STARR et al., 2007).

Como alternativa de controle, utilizam-se também plantas que não são hospedeiras, como armadilhas, para atrair o nematoide e que são posteriormente destruídas, causando a morte dos espécimes, além da utilização de plantas que são antagônicas a nematoides, produzindo substâncias tóxicas (plantas do gênero *Tagetes* spp., por exemplo) (SIKORA et al., 2005).

O milho pode ser recomendado para rotação em áreas infestadas por *M. javanica*, pela disponibilidade de híbridos resistentes a esta espécie, ou seja, fator de reprodução menor que 1. Porém, para *P. brachyurus* e *M. incognita*, não há genótipos ainda com alta resistência (PINTO et al., 2006). Para *P. brachyurus*, foi verificado a suscetibilidade de todos os 12 híbridos de milho testados, com FR entre 4 e 77, sendo que o milheto (ADR-300), mostrou-se resistente com  $FR < 1$  (INOMOTO, 2011). Em trabalho conduzido pela Embrapa, com 16 híbridos de milho, não foi possível observar genótipos resistentes à raça 3 de *M. incognita* e somente dois foram resistentes a *M. javanica* (DIAS et al., 2006). A elevada suscetibilidade de milho a *M. incognita* também foi constatada em outros trabalhos (LORDELO et al., 2001; RIBEIRO et al., 2002). Casela et al. (2006), relatam a suscetibilidade de 107 genótipos de milho à *M. incognita*, raças, 1, 2, 3 e 4, com fator de reprodução variando de 5,3 a 34,8. Para *M. javanica*, os ensaios comprovam que o milho apresenta maior resistência (RIBEIRO et al., 2002, CASELA et al., 2006). Em 2010, foi relatada a existência de cerca de 80 cultivares de soja com certos níveis de resistência a *M. incognita* e/ou *M. javanica* (DIAS, 2010). O uso de controle químico e biológico em variedades de soja resistente a *M. incognita* e *M. javanica* não auxiliou na redução desses nematoides, porém proporcionaram incrementos significativos no crescimento da planta (ARAUJO et al., 2012). Nesse mesmo estudo, foi verificado que a variedade suscetível tratada com os produtos químico (carbofurano) e biológico (*Bacillus subtilis*) proporcionaram controle de *Meloidogyne* spp., porém em níveis inferiores quando comparado ao controle genético.

A rotação de culturas é uma das técnicas que mais auxiliam na diminuição da população de nematoides, porém, deve-se conhecer a espécie dos mesmos e a cultura em cobertura que será utilizada no sistema de rotação ou sucessão. Isso se justifica, por exemplo, pelo fato de que *P. brachyurus* e as espécies do gênero *Meloidogyne* são polípagas e, dependendo da cultura, poderá haver aumento da população previamente existente. Outra dificuldade na escolha da cultura a ser

instalada é que, em muitos casos, *P. brachyurus* e *Meloidogyne* spp. estão presentes na mesma área (INOMOTO; ASMUS, 2005; RIBEIRO, 2009).

Vários trabalhos têm sido realizados para verificar possíveis espécies vegetais para formar coberturas que apresentem resistência a nematoides. A utilização de *Crotalaria spectabilis* e *C. ochroleuca* tem demonstrado bons resultados na redução da população de *P. brachyurus*, bem como o revolvimento do solo (DEBIASI et al., 2011). Inomoto et al. (2006) constataram que plantas de sorgo são multiplicadoras de *P. brachyurus*, não sendo uma boa opção de rotação de culturas, porém milho cultivar BRS 1501, aveia preta, girassol e nabo forrageiro afetaram pouco a população existente, sendo, portanto, melhores opções. O plantio de milho consorciado com espécies de coberturas, como a crotalária, também está sendo estudado na tentativa de diminuir a população de nematoides e aumentar a matéria orgânica do solo (RAMOS; RAMOS, 2017). Gramíneas como *Brachiaria decumbens*, *B. brizantha* e *Panicum maximum* foram identificadas como redutoras de *M. incognita* e *M. javanica* (ARIEIRA et al., 2003), bem como cultivares de milho e sorgo (RIBEIRO et al., 2002).

O manejo da acidez do solo também tem sido foco de estudo com nematoides. A calagem com  $\text{CaCO}_3$  e  $\text{MgCO}_3$  e o aumento da V%, resultaram na diminuição da população de *P. brachyurus*, contribuindo na redução dos danos do nematoide na soja (FRANCHINI et al., 2014). Em trabalho conduzido por duas safras consecutivas em áreas de produtores de algodão do Mato Grosso, verificou-se que as áreas com menores produtividades estão relacionadas a *M. incognita*, com menor relação para *P. brachyurus* e *R. reniformis*. Nesse mesmo trabalho foram verificados parâmetros químicos e físicos do solo, onde constataram aumento de população de nematoides em áreas mais arenosas e com maior grau de compactação do solo, resultando em uma menor produtividade (GALBIERI, et al., 2014).

Starr et al. (2007) citam a importância dos nematoides limitando a produção de algodão nos Estados Unidos e, apesar da rotação de culturas ser efetiva para diminuição da população, na maioria dos casos, é inviável economicamente.

Técnicas de transformação genética de plantas, através do silenciamento gênico (RNA interferente) também vêm sendo testadas com sucesso no controle de nematoides como *H. glycines* e *M. incognita* em soja, resultando em reduções de 71 a 91% no número de ovos/g raiz, porém ainda não estão disponíveis cultivares

comerciais com essa característica (FERREIRA et al., 2012; LOURENÇO et al., 2014).

### 2.5.1. Controle Biológico e Químico

O controle biológico consiste no manejo dos nematoides pela presença de organismos que possam interferir na sua sobrevivência, sendo baseado em uma relação antagônica entre microrganismo e patógeno. São encontrados normalmente nos solos, parasitando ovos, juvenis, adultos ou cistos (JATALA, 1986, STIRLING, 1991, apud MACHADO et al. 2016), podendo ser utilizados no programa de Manejo Integrado de Pragas, (FERRAZ; BROWN, 2016). Podem ser fungos predadores, capazes de capturar os nematoides móveis no solo através das hifas (*Arthrobotrys* e *Monascrosporium*); fungos endoparasitas, produzindo pequenos esporos que ficam dormente até o contato com o nematoide (*Hirsutella rhossiliensis*, *Catenaria auxiliaris*, *Nematophthora gynophila* etc); fungos ovicidas, que parasitam e consomem todo o conteúdo dos ovos (*Paecilomyces* e *Pochonia*) e os fungos produtores de metabólitos tóxicos, que produzem toxinas, matando os nematoides (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* etc.). Com relação as bactérias, estas podem ser parasitas de nematoides, produzirem toxinas, interferir no reconhecimento da planta pelo nematoide além de promover maior sanidade nas plantas (*Pasteuria*, *Pseudomonas* e *Bacillus*) (FERRAZ; BROWN, 2016; MACHADO et al, 2016). Apesar de ser testado e estudado há décadas, o primeiro registro de um produto biológico para nematoides no Brasil ocorreu em 2013, sendo um produto a base do fungo *Paecilomyces lilacinus* (AGROFIT, 2018). Atualmente, existem produtos biológicos registrados para tratamento de sementes ou para aplicação no solo, à base de bactérias e fungos parasitas de nematoides. Nunes et al. (2010) e Araujo et al. (2012), constataram que a utilização de produtos à base dos fungos *Pochonia chlamydosporia* e *Paecilomyces lilacinus*, possuem ação efetiva na redução do número de ovos de *M. incognita* em soja. A utilização da bactéria *Bacillus subtilis* também foi destaque na redução de *Meloidogyne* spp., em ensaio conduzido em casa de vegetação com cultivares de soja resistente e suscetível a esses nematoides (ARAUJO et al., 2012). Bortolini, et al. (2013), verificaram maior efetividade na redução de *Pratylenchus brachyurus* em soja quando utilizaram os

produtos químicos a base de abamectina (Avicta 500 FS) e imidaclopride + thiodicarbe (Cropstar), comparado ao produto biológico *Paecilomyces lilacinus* (Nemat), porém todos reduziram a quantidade de nematoides em relação à testemunha.

O controle químico com nematicidas iniciou-se nas décadas de 1940-1950, para controle dos nematoides das galhas, primeiramente com os nematicidas fumigantes e, posteriormente, com os granulados (FERRAZ, 1999; MACHADO et al., 2016). O brometo de metila, produto de ação fumigante altamente prejudicial à camada de ozônio e à saúde humana, além de ser caro para aplicação, foi amplamente utilizado oferecendo ótimo controle para pragas na agricultura, como nematoides, pragas de solo, doenças e plantas daninhas (STARR et al., 2007; EPA, 2017). Noling; Becker (1994) já mostravam preocupação com o controle de nematoides e outras pragas após a retirada do brometo de metila do mercado, o que aconteceu em 2005 nos Estados Unidos e, no Brasil, em 2015, sendo permitida apenas em pragas quarentenárias nas operações de importação ou de exportação (DOU, 2015).

Nematicidas não fumigantes foram introduzidos no mercado nos anos de 1970, podendo ser granulados ou líquidos. Compreendem os carbamatos e organofosforados, considerados nematostáticos, sendo que seu mecanismo de ação está associado à supressão da mobilidade no período que o ingrediente ativo está presente na solução do solo. Os granulados são aplicados na superfície do solo e incorporados ao mesmo ou podem ser aplicados no sulco de plantio. Os líquidos são aplicados na superfície ou utilizados em irrigação por gotejo, neste caso podendo ser aplicado durante o ciclo da cultura (HAYDOCK et al., 2006).

Os nematicidas inibem a ação dos nematoides por um período limitado, porém essa proteção inicial é essencial para garantir o desenvolvimento adequado do sistema radicular e garantir a produtividade. Quando o produto perde a ação, os nematoides voltam a se desenvolver e se multiplicar e, em alguns casos, no final do ciclo da cultura, sua população pode ser igual à do local que não recebeu o tratamento (SIKORA et al., 2005), no entanto, como ocorre um melhor estabelecimento das plantas devido a proteção inicial, é comum observar incremento de produtividade na ordem de 3 a 5 sacas por hectare, em soja (ARAÚJO, 2018).

O uso de nematicidas químicos continua sendo uma importante estratégia no manejo de nematoides. O mercado global de nematicidas é da ordem de 250 mil toneladas de ingrediente ativo por ano, com os Estados Unidos utilizando 33% desse volume. O tempo entre o desenvolvimento e lançamento do produto varia de 8 a 10 anos, com custo aproximado de 60 milhões de dólares (HAYDOCK et al., 2006).

Starr et al. (2007) reconhecem que o uso de nematicidas é importante, porém têm um custo elevado e, dependendo da infestação, sua eficácia é limitada. Os autores citam que são necessárias novas estratégias para aplicação de nematicidas considerando-se a dose e aplicação na região onde o nematoide se encontra.

Na última década, o tratamento de sementes e a aplicação do produto direcionado ao sulco de plantio vêm substituindo os produtos à base de carbamatos e organofosforados (MACHADO et al., 2016). O tratamento de sementes promove um menor risco para o aplicador, utiliza doses mais baixas e é mais barato em comparação aos fumigantes (WHEELER et al., 2014). Além disso, é de fácil aceitação pelo agricultor e possibilita a compra de sementes tratadas industrialmente.

Poucos são os produtos químicos atualmente registrados para aplicação no solo ou via tratamento de sementes. Em 2006, a Bayer lançou o Cropstar no Brasil, mistura de imidacloprido + tiodicarbe, com ação inseticida e nematicida, utilizado para tratamento de sementes na lavoura. Em 2007, a Syngenta lançou o Avicta 500 FS, formulação à base de abamectina, com ação inseticida e nematicida, utilizada para tratamento de sementes industrial. Em 2018, a ADAMA registrou o Nimitz TS, princípio ativo fluensulfone, para tratamento de sementes, com ação nematicida na cultura da soja e milho (Agrofit, 2018).

Vários trabalhos foram conduzidos com tratamento de sementes à base de abamectina ou em associação a outros produtos, mostrando a redução da população de nematoides como *P. brachyurus*, *M. incognita* e *R. reniformis*, nas culturas de milho e algodão (BESSI et al., 2010; CABRERA et al., 2009; KUBO et al., 2012). Ensaio em casa de vegetação e microplots com abamectina demonstraram redução do número de galhas e da população de *M. incognita* em algodão e redução da penetração do nematoide até os 14 dias após o plantio (MONFORT et al., 2006).

O produto thiametoxan, inseticida do grupo químico dos neonicotinoides, apesar de não possuir registro para controle de nematoides, demonstrou redução da quantidade de *P. brachyurus*, *M. incognita* e *M. javanica* na cultura do feijão (JUNIOR et al., 2013), além de reduzir a eclosão e aumentar a mortalidade de juvenis de *M. incognita* (ABBAS et al., 2015). Nesse mesmo trabalho, Abbas et al. (2015) observaram sinergismo do thiametoxan com clorantraniliprole, aumentando a eficiência do produto no controle de *M. incognita* em aproximadamente 15% quando comparado ao thiametoxan sozinho.

Novas moléculas vêm sendo estudadas, sendo que em 2017 a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, EPA, anunciou o registro de uma nova molécula, o tioxazafen, para o tratamento de sementes visando o controle de nematoides. Trata-se de um nematicida do grupo químico phenyl oxadiazole, que afeta a tradução mitocondrial do nematoide. Possui amplo espectro e é recomendado para controle de fitonematoides nas culturas da soja, milho e algodão, compreendendo um novo mecanismo de ação (SLOMCZYNSKA et al., 2015). O produto é altamente seletivo, não mostrando atividade como inseticida, bactericida ou fungicida. Testes *in vitro* indicam que o produto apresenta ação nematicida contra *M. incognita* e *H. glycines*. Ensaio com carbono marcado em sementes de soja tratadas com tioxazafen indicou que o produto fica distribuído no sistema radicular e não se locomove para a parte aérea da planta. Ensaio conduzidos pela Monsanto Company nos Estados Unidos constataram melhores resultados no controle do nematoide de cisto (*H. glycines*) e nematoide das lesões (*Pratylenchus* spp.) em soja, quando comparado a dois produtos padrões do mercado. Além disso, ensaios em faixa com híbridos de milho constataram aumento na produtividade, comparado a dois padrões do mercado (SLOMCZYNSKA et al., 2015).

Uzuele (2016) verificou a eficiência do tioxazafen para controle dos nematoides *H. glycines*, *M. javanica* e *P. brachyurus* em soja, *M. incognita* e *P. zae* em milho e *M. incognita* na cultura do algodão, obtendo resultados iguais ou superiores ao produto padrão, não sendo observada fitotoxicidade nas culturas.

O tioxazafen ainda está em fase de registro no Brasil, sendo mais uma opção de tratamento de sementes industrial para o controle de nematoides.

### **3. ARTIGO: TIOXAZAFEN UTILIZADO NO TRATAMENTO DE SEMENTES DE MILHO PARA O CONTROLE DE *PRATYLENCHUS BRACHYURUS* E *MELOIDOGYNE INCOGNITA*, ISOLADO OU COMBINADO COM INSETICIDAS**

#### **3.1. Resumo**

O tioxazafen consiste em uma nova molécula química nematicida recomendada para o tratamento industrial de sementes nas culturas da soja, milho e algodão e em fase de registro no Brasil. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do nematicida tioxazafen no controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita*, isolado ou combinado com inseticidas utilizados em tratamentos de sementes de milho, bem como possíveis efeitos fitotóxicos nas plantas do híbrido DKB390 PRO3. Os ensaios foram realizados em casa de vegetação no IAPAR, em Londrina, PR, e na estação experimental da Monsanto do Brasil Ltda, em Rolândia, PR, sendo conduzido um ensaio de cada espécie por local. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 13 tratamentos e 6 a 7 repetições, dependendo do ensaio. Os tratamentos consistiram de duas testemunhas (sem nematoide e com nematoide), tioxazafen; imidacloprido + tiodicarbe (Cropstar); tioxazafen com imidacloprido + tiodicarbe (Cropstar); tioxazafen com clotianidina (Poncho); tioxazafen com clorantraniliprole (Dermacor); tioxazafen com clotianidina (Poncho) e clorantraniliprole (Dermacor), com variações de doses de tioxazafen de 60 e 120 mL / 65.000 sementes para todas as combinações. Calculou-se o fator de reprodução (FR) das duas espécies e o número de nematoides por grama de raiz em cada tratamento, bem como a massa fresca de raízes (MFR) e massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) da parte aérea das plantas. Para verificar uma possível interferência na emergência e crescimento das plantas, foram avaliados os mesmos tratamentos, porém sem a inoculação dos nematoides, sendo avaliadas, em casa de vegetação, a porcentagem de emergência e a massa seca da parte aérea aos 0, 40, 80, 120 e 200 dias após o tratamento das sementes. Os resultados indicaram que tioxazafen, nas duas doses testadas, bem como em combinação com os demais produtos, atua de forma efetiva na redução de *P. brachyurus* e *M. incognita*, sem ocasionar efeitos significativos no desenvolvimento das plantas (MFR, MFPA e MSPA). A emergência e crescimento das plantas até 200

dias de armazenamento das sementes tratadas não foram afetados pelos diferentes tratamentos.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, nematoide das lesões radiculares, nematoide das galhas, controle químico

### 3.2. Abstract

Tioxazafen consists of a new nematicidal chemical molecule used as industrial seed treatment in soybean, maize and cotton crops. The objective of this experiment was to evaluate the efficacy of tioxazafen for *Pratylenchus brachyurus* and *Meloidogyne incognita* control, alone or combined with insecticide, as well as the toxicity that may occur in maize plants. The studies were carried out under greenhouse conditions at IAPAR in Londrina, PR and at Monsanto's experimental station in Rolândia, PR and, one trial of each specie was conducted by site. The experimental design were the completely randomized design with 13 treatments and 6-7 replicates. The treatments consisted of a two controls (no nematode and with nematode); tioxazafen; Imidacloprid + thiodicarb (Cropstar); tioxazafen with imicacloprid + thiodicarb (Cropstar); tioxazafen with clothianidin (Poncho); tioxazafen with clorantraniliprole (Dermacor); tioxazafen with clothianidin (Poncho) and clorantraniliprole (Dermacor), with rate variation of tioxazafen of 60 and 120 mL/65.000 seed for all combination. It was calculated the reproduction factor (RF) for the four experiment as well as the number of nematode per gram of root, fresh root weight (FRW), fresh shoot weight (FSW) and dry shoot weight (DSW) of plants. To verify the possible interference in germination and development of plants, the same treatments were evaluated, but without inoculation of nematode and were evaluated the % of emergence and DSW at 0, 40, 80, 120 and 200 days after seed treatment. The results indicated that tioxazafen at 60 and 120 mL/65.000 seed as well as the combination with others products, reduced *P. brachyurus* and *M. incognita* without causing significant effects on the development of plants (MFR, FSW and DSW). The germination and plant growth up to 200 storage day, was not affected by treatments.

**Key words:** *Zea mays*, root-lesion nematode, root-knot nematode, chemical control.

### 3.3. Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor de milho do mundo, com 82,9 milhões de toneladas, sendo cultivado em 27,1% da área agricultável do país (CONAB, 2018). Para suprir uma demanda crescente por alimento, são utilizadas técnicas que permitem melhorar a produtividade, tais como melhoramento genético, biologia molecular, através dos organismos geneticamente modificados, agricultura de precisão, entre outras (FERRAZ; BROWN, 2016). Aliado a esses avanços tecnológicos, a planta precisa ter sua sanidade garantida, para que consiga atingir as produtividades esperadas. Dentre as doenças bióticas que afetam a produtividade agrícola, encontram-se os nematoides, atuando como parasitas das plantas.

Além de parasitarem as plantas, os nematoides facilitam a entrada de patógenos e outros microorganismos, aumentando a perda de produtividade. Os sintomas ocasionados não são específicos, podendo ser confundidos com outras doenças e estresses ocasionados pela deficiência hídrica e de nutrientes (SINGH et al., 2015; NICOL et al., 2011). Mais de 60 espécies de fitonematoides foram relatadas na cultura do milho em todo o mundo (NICOL, 2011). As espécies encontradas no Brasil com relevância econômica são *Pratylenchus brachyurus*, *P. zaeae*, *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* (INOMOTO, 2015; GALBIERI, ASMUS, 2016; FERRAZ; BROWN, 2016; ).

Estima-se que perdas em produtividade ocasionadas pelos nematoides cheguem a 12,3% (\$157 bilhões de dólares) em todo o mundo (SINGH et al., 2015). Para milho, as perdas podem variar de 5 a 20% em função da ocorrência de diversos gêneros, incluindo *Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp. (KOENNING et al., 1999).

*Pratylenchus brachyurus*, também conhecido como nematoide das lesões radiculares, é polífago e está associado à maioria das culturas de interesse comercial. Foi constatado em cerca de 96% das áreas analisadas na região de Jataí, GO, e no Mato Grosso (SILVA, 2007; GALBIERI et al., 2016). A falta de cultivares resistentes e poucas opções de espécies para rotação, além da intensificação do cultivo em áreas arenosas, contribuíram para aumentar a dispersão e o impacto desse nematoide na agricultura nacional (INOMOTO, 2015; FERRAZ et al., 2016).

O gênero *Meloidogyne*, também conhecido como nematoide das galhas, compreende endoparasitas sedentários, sendo o grupo de maior importância econômica. Cerca de 20-30% dos híbridos comercializados no Brasil apresentam resistência a *M. javanica*. Neste caso, o milho é uma boa opção de rotação ou sucessão de cultura em áreas de soja com alta infestação desta espécie, desde que utilizados híbridos recomendados (INOMOTO, 2015). No caso de *M. incognita*, não se conhece até o momento híbridos de milho que sejam resistentes a esse nematoide.

O manejo de nematoides pode ser realizado pela combinação de diferentes técnicas. Dentre elas, a rotação de culturas, o uso de cultivares resistentes, além dos controles biológico e químico (MACHADO et al., 2016). Estratégias que ofereçam uma proteção contra a infecção até 4-5 semanas após a germinação de culturas anuais, também podem garantir um bom crescimento radicular e produtividade (SIKORA et al., 2005; STARR et al., 2007). Dentre as estratégias envolvendo o controle químico para o manejo de nematoides, o tratamento de sementes é uma opção mais econômica, de fácil aplicação e considerado mais seguro ao homem e ao ambiente, visto que a aplicação é localizada na semente e, muitas vezes, é feita pela própria indústria (HENNING, 2004; WHEELER et al., 2014).

Face à grande demanda do mercado agrícola, o nematicida tioxazafen, ainda em fase de registro no Brasil e utilizado no tratamento de sementes, aparece como uma opção para controle de nematoides nas culturas da soja, milho e algodão. Ele afeta a tradução mitocondrial do patógeno, compreendendo um novo mecanismo de ação. Pela avaliação de carbono marcado, em sementes de soja tratadas com tioxazafen, indicou que o produto fica distribuído no sistema radicular e não se locomove para a parte aérea da planta, conferindo proteção concentrada nas raízes (SLOMCZYNSKA et al., 2015). O potencial do produto também foi relatado em ensaios conduzidos na Monsanto nos Estados Unidos, apresentando controle satisfatório de *Heterodera glycines* e *Pratylenchus* spp. em soja e aumento da produtividade em milho, em até 300 kg.ha<sup>-1</sup>, na dose de 60 mL / 65.000 sementes (0,5 mg / semente) (SLOMCZYNSKA et al., 2015).

Para as condições brasileiras, em ensaio conduzido por UZUELE (2016), verificou-se a eficiência de tioxazafen no controle dos nematoides *H. glycines* (dose

de 0,5 mg / semente ou 240 mL / 260.000 sementes), *M. javanica* e *P. brachyurus* (0,25 mg / semente ou 120 mL / 260.000 sementes) em soja, *M. incognita* (0,5 mg / semente ou 60 mL / 65.000 sementes) e *P. zaeae* (1,0 mg / semente ou 120 mL / 65.000 sementes) em milho e *M. incognita* (0,75 mg / semente) em algodão, com resultados iguais ou superiores ao produto padrão utilizado. Nestes ensaios, não foi observada fitotoxicidade nas culturas com as doses testadas, assim como não foi verificado efeito adverso nas variáveis de desenvolvimento vegetal, como altura de plantas, massa seca de parte aérea e massa fresca de raízes.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia do tioxazafen no controle dos nematoides *M. incognita* e *P. brachyurus* no híbrido de milho DKB390 PRO3, via tratamento de sementes, isolado ou combinado com inseticidas, bem como avaliar efeitos fitotóxicos oriundos da combinação desses produtos.

### **3.4. Material e métodos**

#### **3.4.1. Ensaio para avaliação de eficácia**

Os ensaios foram conduzidos de fevereiro a agosto de 2018, na Estação Experimental da Monsanto do Brasil Ltda, em Rolândia, PR, (23°16'12.6"S, 51°28'53,1"W), considerada como ÁREA 1, e no Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), em Londrina, PR, (23°18'36"S, 51°09'46"W), considerada como ÁREA 2, com aproximadamente 45 km de distância entre as mesmas. Ambas as áreas possuem credenciamento junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para condução de ensaios com novas formulações, conforme RET (Registro Especial Temporário) 1045/2017 aprovado.

Para avaliar a eficiência dos produtos no controle de *P. brachyurus* e *M. incognita* em milho, foi instalado um ensaio para cada espécie, em cada local (IAPAR e Monsanto), conduzidos em condição de casa de vegetação. O híbrido de milho utilizado foi o DKB390 PRO3, produzido na safra de 2017, sendo considerado suscetível a ambas espécies de nematoides (INOMOTO, 2011).

Para o produto tioxazafen, código MON 102133 (produto em fase de registro), as doses utilizadas foram de 60 mL / 65.000 sementes (0,5 mg i.a. / semente) e 120 mL / 65.000 sementes (1,0 mg i.a. / semente). Os tratamentos (Tabela 1) foram

distribuídos de forma inteiramente casualizada, com seis a sete repetições (depedendo do ensaio) e em parcela experimental composta por recipiente de isopor de 946 mL, contendo uma semente cada. Todas as sementes receberam o tratamento fungicida com (fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol) (Maxim Advanced). As demais combinações de produtos inseticidas foram escolhidas pela sua crescente utilização no tratamento de sementes, ação contra as principais pragas iniciais do milho e com registro para a cultura. No caso do Cropstar (Imidacloprid+thiodicarbe), inseticida pertencente ao grupo químico dos neonicotinoides + metilcarbamato de oxima, optou-se pelo fato de ser um produto químico para o controle de nematoides e de pragas iniciais do milho, como percevejo-barriga-verde (*Dichelops furcatus / melacanthus*), tripes (*Frankliniella williamsi*), broca-do-colo (*Elasmopalpus lignosellus*), pulgão (*Rhopalosiphum maidis*) e lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*). O Poncho (clotianidina), inseticida pertence ao grupo químico dos neonicotinoides, é utilizado para o controle de cigarrinha (*Dalbulus maidis*), percevejo-barriga-verde, tripes, pulgão e coró (*Phyllophaga cuyabana*); já o Dermacor (clorantraniliprole), inseticida pertencente ao grupo químico das antranilamida, é utilizado para o controle de lagarta rosca (*Agrotis ipsilon*), lagarta do cartucho do milho, elasmó e coró.

**Tabela 3.1.** Descrição dos tratamentos, concentração e dose dos produtos utilizados para controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita* em plantas de milho, safra 2017/2018.

Tratamentos*	Concentração (g do i.a.**/ L)	Dose*** (mg do i.a./ semente)	Dose Produto (mL/ 65.000 sementes)
1. Testemunha sem nematoide	-		
2. Testemunha com nematoide	-		
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	(150 + 450)	(0,86 + 2,62)	380
4. Tioxazafen	541	0,5	60
5. Tioxazafen	541	1	120
6. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	541 / (150 + 450)	0,5 / (0,86 + 2,62)	60 / 380
7. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	541 / (150 + 450)	1,0 / (0,86 + 2,62)	120 / 380
8. Tioxaxafen / clotianidina	541 / 600	0,5 / 0,72	60 / 85
9. Tioxaxafen / clotianidina	541 / 600	1,0 / 0,72	120 / 85
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	541 / 625	0,5 / 0,5	60 / 52
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	541 / 625	1,0 / 0,5	120 / 52
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	541 / 600 / 625	0,5 / 0,72 / 0,5	60 / 85 / 52
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	541 / 600 / 625	1,0 / 0,72 / 0,5	120 / 85 / 52

\*todos os tratamentos receberam fungicida à base de (fludioxonil + metalaxil-M + tiabendazol) (Maxim Advanced) na dose de 150 mL/ 100 kg sementes;

\*\*ingrediente ativo;

\*\*\* a dose por mg i.a./ semente corresponde à dose comercial dos produtos: (Imidacloprido+thiodicarb) (Cropstar): 350 mL/ 60.000 sementes; Clotianidina (Poncho): 400 mL/ 100 kg sementes; clorantraniliprole (Dermacor): 48 mL/ 60.000 sementes. Tioxazafen: produto ainda não registrado no Brasil, em fase de teste.

As sementes foram tratadas manualmente, na Monsanto do Brasil, unidade de Rolândia, PR, onde os produtos foram individualmente dosados sobre a semente e uniformizados com auxílio de saco plástico. Foram tratadas 1000 sementes por tratamento.

#### 3.4.1.1. Semeadura, Obtenção do Inóculo e Inoculação

A semeadura do ensaio com *M. incognita* ocorreu no dia 21/02/2018, na Monsanto (Área 1), e 17/05/2018 no IAPAR (Área 2). Para *P. brachyurus* a

semeadura ocorreu no dia 21/02/2018 na Monsanto e 27/02/2018 no IAPAR. Para ambas as espécies, utilizou-se uma única semente por recipiente de isopor com capacidade 946 mL, cotendo substrato autoclavado por 2,5 horas a 120 °C na proporção 3:1 (três partes de areia para uma parte de solo), ajustando para 70% a 80% de areia. No dia da semeadura, o substrato foi adubado com 3,0 g de Osmocote® Plus por recipiente (15 % N, 9 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 12 % K<sub>2</sub>O – formulação IAPAR e 14 % N, 14 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 14 % K<sub>2</sub>O – formulação Monsanto). As plantas foram irrigadas diariamente, conforme demanda.

Os inóculos de *P. brachyurus* e *M. incognita*, obtidos no dia da inoculação, foram provenientes de populações mantidas em casa de vegetação no IAPAR, em Londrina, PR, multiplicadas em hospedeiros preferenciais (quiabo, milho, sorgo, algodão e soja). O inóculo foi obtido através da trituração de raízes em liquidificador (BONETI; FERRAZ, 1981), resultando em suspensão aquosa contendo ovos e juvenis dos nematoides.

A inoculação foi realizada logo após a emergência das plântulas (Figura 1), dividindo-se o inóculo em dois orifícios localizados lateralmente ao colo das plântulas, pela pipetagem de suspensão contendo 1000 ovos + juvenis para os ensaios com *P. brachyurus* e 2000 ovos + juvenis para *M. incognita*.

As avaliações dos ensaios com *M. incognita* foram feitas aos 46 e 70 (Figuras 2) dias após inoculação (DAI), nos ensaios conduzidos na Área 1 e Área 2, respectivamente. Em função dos baixos valores de FR obtidos no ensaio conduzido na Área 1, decidiu-se por conduzir o segundo ensaio por mais tempo, para maior multiplicação de *M. incognita*. Para *P. brachyurus*, as avaliações ocorreram aos 75 e 80 DAI (Figuras 3), nos ensaios conduzidos na Área 1 e Área 2, respectivamente. Ovos e juvenis dos nematoides foram quantificados em câmara de Peters, sob microscópio de luz, após extração dos mesmos das raízes pela metodologia descrita por BONETI; FERRAZ (1981). Para a extração de *M. incognita*, as raízes foram trituradas em liquidificador, com solução contendo 1,0 % de hipoclorito de sódio, enquanto que para *P. brachyurus*, apenas com água.

A partir da quantificação do número de ovos e juvenis de *P. brachyurus* e *M. incognita* por planta, foram obtidos o número de nematoides por grama de raiz e o fator de reprodução (FR), calculado a partir da população final (Pf) de cada nematoide, encontrada na raiz, dividida pela quantidade inicial de inóculo (Pi)

(FR=Pf/Pi). Além disso, determinou-se o percentual de eficiência ou controle (% CTRL) com base nos valores de nematoide por grama de raiz, através da fórmula de Abbott (1925):  $CTRL (\%) = \{[1 - (nT / nC)] * 100\}$ , onde nT = quantidade de nematoide do tratamento, nC = quantidade de nematoide da testemunha e CTRL (%) = Percentual de controle ou eficiência de controle. Nas mesmas datas, também foram avaliadas a massa fresca de raiz (MFR) e a massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) da parte aérea das plantas.

As plantas foram irrigadas diariamente e as médias das temperaturas mínima e máxima, durante a condução dos ensaios, estão descritas no Quadro 1.

**Quadro 1:** Média da temperatura mínima e máxima na casa de vegetação durante a condução dos ensaios para avaliação de eficácia dos tratamentos de sementes em *Pratylenchus brachyurus* (Pb) e *Meloidogyne incognita* (Mi). Londrina e Rolândia, PR, 2018.

Espécie / local	Média da temperatura (°C)	
	Mínima	Máxima
Pb / Rolândia (Área 1)	21,0	31,2
Pb / Londrina (Área 2)	18,0	42,0
Mi / Rolândia (Área 1)	20,5	30,9
Mi / Londrina (Área 2)	15,0	39,0

Fonte: Monsanto do Brasil Ltda (Área 1), IAPAR (Área 2).

Figura 1: Aplicação do inóculo de ovos e juvenis de nematoides nos recipientes de isopor, contendo uma planta de milho (logo após a emergência), dividindo-se a concentração de inóculo em dois orifícios no colo da plântula.



Figura 2: Plantas de milho no momento da avaliação dos ensaios de *Meloidogyne incognita* aos 46 dias (Área 1- esquerda) e aos 70 dias (Área 2 - direita).



Figura 3: Plantas de milho no momento da avaliação dos ensaios de *Pratylenchus brachyurus* aos 75 dias (Área 1 - esquerda) e aos 80 dias (Área 2 - direita).



### 3.4.1.2. Análise dos dados

Todas as variáveis foram submetidas à análise de variância, ao teste de normalidade dos resíduos de Shapiro-Wilk e ao teste de homogeneidade das variâncias de Bartlett, utilizando-se o software R v. 3.4.3. (R CORE TEAM, 2017). A necessidade de transformação dos dados, para atendimento dos pressupostos do modelo, foi verificada através do procedimento Box-Cox. Para as análises, foram utilizados os pacotes MASS (RIPLEY et al., 2017), ExpDes (FERREIRA et al., 2018) e Agricolae (MENDIBURU, 2017).

Para os ensaios com *P. brachyurus*, os dados de FR e nematoide/g.raiz foram transformados por  $\log x + 0,01$ , nos ensaios conduzidos em ambas as áreas; os dados de MFR foram transformados em  $\log x + 0,01$  no ensaio conduzido na Área 2, não sendo necessária a transformação no ensaio conduzido na Área 1. As variáveis MFPA e MSPA foram transformadas em lambda, no ensaio conduzido na Área 1, não havendo necessidade de transformação para o ensaio realizado na Área 2. Em seguida, foi efetuado o teste de agrupamento de médias de Scott-Knott a 5% de significância, para todas as variáveis.

Para o ensaio com *M. incognita* conduzido na Área 1, o FR não atendeu os pressupostos para aplicação do teste de análise de variância, sendo realizado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, a 5% de significância. A variável nematoide/g.raiz foi transformada em  $\sqrt{x + 0,5}$  e as variáveis MFR, MFPA e MSPA foram transformadas em  $\log x + 0,01$ . No ensaio conduzido na Área 2, as variáveis FR e nematoide/g.raiz foram transformadas em  $\log x + 0,01$ , sendo que MFR foi transformada em  $\sqrt{x + 0,5}$ , não sendo necessária a transformação de dados para MFPA e MSPA. Para todas as variáveis analisadas, nas duas localidades, foi efetuado o teste de agrupamento de médias de Scott-Knott a 5% de significância.

### **3.4.2. Ensaio para Avaliação da Fitotoxicidade Inicial e Emergência**

Esse ensaio foi realizado somente na Área 1, em Rolândia, PR, com o objetivo de avaliar uma possível fitotoxicidade inicial, comumente ocasionada em decorrência do tratamento de sementes, e verificar se estas permaneceriam com boa emergência e crescimento inicial após um período de armazenamento. Para isso, foram avaliadas a porcentagem de emergência aos 10 dias após a semeadura

(DAS) e a MSPA aos 21 DAS, em estudo sem a presença dos nematoides. Essas variáveis foram avaliadas aos 0, 40, 80, 120 e 200 dias após o tratamento das sementes (DAT), sendo que as sementes ficaram armazenadas em câmara fria à temperatura de aproximadamente 10°C e umidade relativa de 50%. O híbrido de milho e as sementes utilizadas nesse ensaio foram as mesmas dos ensaios de eficácia.

O estudo de emergência foi realizado em bandejas contendo 100 sementes (Figura 4), com 10 repetições de 10 sementes por tratamento e por época, sendo a porcentagem de emergência observada aos 10 DAS. Para mensurar o crescimento das plantas, foi avaliada a MSPA aos 21 DAS (Figuras 5 e 6), sendo semeada uma semente por recipiente de 946 mL, totalizando de seis a dez recipientes por tratamento e época de avaliação. Para MSPA, os copos foram adubados previamente à semeadura com 3 g de Osmocote® Plus, formulação 14%N, 14% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 14% K<sub>2</sub>O. As bandejas e copos foram mantidos em casa de vegetação, com irrigação diária, conforme demanda.

O tratamento das sementes foi realizado no dia 19/02/2018, sendo a primeira semeadura no dia 21/02/2018 (0 DAT) e o último no dia 06/09/2018 (200 DAT). Apesar do ensaio ter sido conduzido dentro de casa de vegetação, durante os meses de junho a setembro, as médias das temperaturas mínima e máxima foram menores do que nos meses de fevereiro a maio, diminuindo o crescimento das plantas nas últimas duas avaliações (Quadro 2). Devido a essa variação de crescimento de plantas entre épocas avaliadas, as médias dos tratamentos foram comparadas individualmente em cada época de semeadura.

**Quadro 2:** Média da temperatura mínima e máxima na casa de vegetação durante a condução dos ensaios de nematicidas em milho, para avaliação da massa seca de parte aérea (MSPA) aos 0, 40, 80, 120 e 200 dias após o tratamento das sementes. Rolândia, 2018.

DAT	Média da temperatura (°C)	
	Mínima	Máxima
0 (21 fev a 13 mar)	20,7	34,0
40 (02 abr a 23 abr)	20,9	30,9
80 (15 mai a 07 jun)	19,6	31,3
120 (20 jun a 10 jul)	16,2	28,5
200 (06 set a 27 set)	17,1	29,4

Fonte: Monsanto do Brasil Ltda

Os dados de MSPA foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de homogeneidade das variâncias de Bartlett, utilizando-se o software R v. 3.4.3 (R CORE TEAM, 2017). A necessidade de transformação dos dados para atendimento dos pressupostos do modelo foi verificada através do procedimento Box-Cox. Para as análises, foi utilizado o pacote ExpDes (FERREIRA, et al., 2018). Os tratamentos foram comparados pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa R v. 3.4.3 (R CORE TEAM, 2017).

Para emergência, utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, em fatorial 12 x 5, sendo 12 tratamentos (testemunha sem tratamento e tratamentos de 3 a 13 da Tabela 3.1), 5 períodos de avaliação (2, 40, 80, 120 e 200 DAT), em 10 repetições. Os dados foram analisados no software R v. 3.4.3 (R CORE TEAM, 2017), utilizando-se o pacote ExpDes (FERREIRA et al., 2018), sendo os tratamentos comparados pelo teste de Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ ).

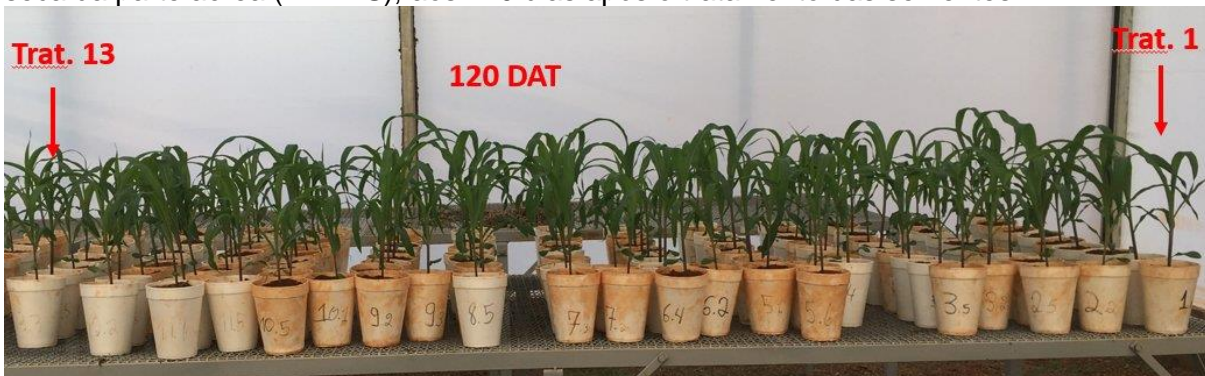
Figura 4: Disposição dos tratamentos na bandeja para ensaios de emergência de milho.



Figura 5: Plantas de milho dos respectivos tratamentos no momento da avaliação da massa seca de parte aérea (21 DAS), aos 40 dias após o tratamento das sementes.



Figura 6: Plantas de milho dos respectivos tratamentos, no momento da avaliação da massa seca da parte aérea (21 DAS), aos 120 dias após o tratamento das sementes.



### 3.5. Resultados e Discussão

#### 3.5.1. Avaliação de eficácia

##### 3.5.1.1. *Pratylenchus brachyurus* – Área 1 (Rolândia, PR)

Para a variável FR, o teste de médias de Scott-knott dividiu os tratamentos em quatro grupos (Tabela 3.2), observando-se maior multiplicação do nematoide na testemunha e nos tratamentos com imidacloprido + thiodicarbe e tioxazafen 60 mL, com valores de FR de 3,96, 2,32 e 2,69, respectivamente, sendo significativamente diferentes dos demais tratamentos. O segundo grupo compreendeu os tratamentos com tioxazafen 120 mL, tioxazafen 60 e 120 mL com imidacloprido + tiodicarb e tioxazafen 60 e 120 mL com clotianidina, com valores de FR entre 1,05 e 1,47, sendo estatisticamente diferente dos demais grupos. O tratamento com tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole, apresentou FR = 0,58, indicando redução populacional do nematoide, porém maior que os valores do último grupo, compreendido pelos tratamentos tioxazafen 60 e 120 mL com clorantraniliprole e tioxazafen 60 mL com clotianidina e clorantraniliprole, com FRs de 0,31, 0,20 e 0,36, respectivamente.

Para a variável nematoide/g.raiz, os resultados foram similares e corroboraram os grupos formados pela variável FR, exceto em relação ao tratamento com tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole, que apresentou valores similares aos do grupo com menores FRs (Tabela 3.2).

Baseando-se nos valores de nematoide por grama de raiz, para o cálculo da eficácia do produto (%CTRL), os tratamentos que tiveram a melhor porcentagem de controle em relação à testemunha foram as combinações de tioxazafen nas doses de 60 e 120 mL com clorantraniliprole e tioxazafen 60 mL com clotianidina e clorantraniliprole, com valores acima de 90% de controle, aos 75 dias após a inoculação (Tabela 3.2). Tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole apresentou 86% de controle. Apesar de clorantraniliprole e clotianidina não apresentarem ação nematicida, foi a combinação que obteve melhores resultados, superiores ao tioxazafen isolado e à combinação de tioxazafen com imidaclopride + tiodicarbe

**Tabela 3.2.** Número de *Pratylenchus brachyurus* por grama de raiz (nematoide/g. raiz), fator de reprodução (FR) e porcentagem de controle (%CTRL) em plantas de milho sob diferentes tratamentos. Avaliação realizada aos 75 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL/65.000 sementes)	nematoide/g. raiz	FR	% CTRL
1. Testemunha sem nematoide	-	-	-	-
2. Testemunha com nematoide	-	134,14 a	3,96 a	-
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	73,10 a	2,32 a	45
4. Tioxazafen	60	97,28 a	2,69 a	27
5. Tioxazafen	120	56,33 b	1,15 b	58
6. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	60 / 380	40,57 b	1,08 b	70
7. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	120 / 380	60,14 b	1,47 b	55
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	54,85 b	1,19 b	59
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	45,57 b	1,05 b	66
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	10,85 c	0,31 d	92
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	7,00 c	0,20 d	95
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	12,57 c	0,36 d	91
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	19,40 c	0,58 c	86

Cada valor representa a média de sete repetições. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de significância. Dados de FR e nematoide/g.raiz foram transformados em  $\log_{10}x+0,01$ ; FR (fator de reprodução): população final / população inicial; % CTRL (% de controle) calculado pela fórmula de Abbott (1925), baseado na quantidade de nematoide por grama de raiz.

Para as variáveis de desenvolvimento das plantas (MFR, MFPA e MSPA) (Tabela 3.3), houveram pequenas diferenças entre os tratamentos, porém, ao observar a testemunha absoluta (sem nematoide), esta apresentou valores similares para MFPA e MSPA e iguais ou inferiores para MFR aos tratamentos com a maior dose de tioxazafen e as variadas combinações de produtos, não inferindo nenhum tipo de fitotoxicidade ocasionada pelo tioxazafen ou combinações nas plantas de milho.

**Tabela 3.3.** Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea de plantas de milho, sob diferentes tratamentos, quando inoculadas com *Pratylenchus brachyurus*. Avaliação aos 75 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL/ 65.000 sementes)	MFR	MFPA	MSPA
1. Testemunha sem nematoide	-	26,8 b	97,6 a	32,8 a
2. Testemunha com nematoide	-	29,5 b	102,8 a	39,6 a
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	33,0 a	102,7 a	29,9 a
4. Tioxazafen	60	28,9 a	99,5 a	24,7 b
5. Tioxazafen	120	22,6 b	80,2 b	23,6 b
6. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	60 / 380	27,6 a	88,8 b	31,0 a
7. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	120 / 380	25,0 b	89,5 b	26,6 b
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	22,3 b	80,2 b	23,6 b
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	23,9 b	85,2 b	24,6 b
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	28,4 a	95,9 a	25,4 b
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	30,8 a	92,6 a	32 a
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	29,8 a	102,7 a	26,3 b
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	29,7 a	98,1 a	28,4 a

Cada valor representa a média de sete repetições. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de significância. Os dados de MFPA e MSPA foram transformados em lambda.

### 3.5.1.2. *Pratylenchus brachyurus* – Área 2 (Londrina, PR)

Para a variável FR, o teste de médias de Scott-knott dividiu os tratamentos em quatro grupos (Tabela 3.4). Foi observada maior multiplicação do nematoide na testemunha, com FR = 3,0, sendo esta diferente dos demais tratamentos, que apresentaram FR inferior a 1,0, evidenciando redução do nematoide nos tratamentos com os produtos. Tioxazafen 60 e 120 mL, imidacloprid + thiodicarbe, 60 e 120 mL de tioxazafen combinado com clorantraniliprole e tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole apresentaram FR variando de 0,25 a 0,57, sem diferença estatística entre eles. Tioxazafen 60 e 120 mL, combinados com imidacloprido + tiodicarbe, tioxazafen 120 mL com clotianidina e tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole apresentaram FR entre 0,17 e 0,23. O tratamento que apresentou menor FR foi à base de tioxazafen 60 mL com clotianidina, com FR = 0,09.

Para a variável nematoide/g.raiz, os resultados foram similares e corroboraram os grupos formados pela variável FR, exceto em relação ao tratamento com tioxazafen 60 mL com clotianidina onde este apresentou menor FR, agora com valores similares de nematoide/g.raiz aos do grupo de FRs intermediários (Tabela 3.4).

Baseando-se nos valores de nematoide/g.raiz para o cálculo da eficiência do produto, todos os tratamentos apresentaram controle acima de 90%, exceto os tratamentos com tioxazafen 120 mL com clorantraniliprole, tioxazafen 60 mL com clotianidina e clorantraniliprole e tioxazafen 120 mL, com 77%, 79% e 85% de controle respectivamente (Tabela 3.4).

**Tabela 3.4.** Número de *Pratylenchus brachyurus* por grama de raiz (nematóide/g. raiz), fator de reprodução (FR) e porcentagem de controle (%CTRL) em plantas de milho sob diferentes tratamentos. Avaliação realizada aos 80 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Londrina, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL/65.000 sementes)	nematóide/g. raiz	FR	% CTRL
1. Testemunha sem nematóide	-	-	-	-
2. Testemunha com nematóide	-	61,9 a	3,00 a	-
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	5,6 c	0,29 b	90
4. Tioxazafen	60	4,7 c	0,27 b	92
5. Tioxazafen	120	9,4 b	0,51 b	85
6. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	60 / 380	4,7 c	0,19 c	92
7. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	120 / 380	4,9 c	0,21 c	92
8. Tioxazafen / clotianidina	60 / 85	2,3 c	0,09 d	96
9. Tioxazafen / clotianidina	120 / 85	3,3 c	0,17 c	95
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	5,5 c	0,25 b	91
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	14,1 b	0,57 b	77
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	13,3 b	0,53 b	79
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	4,8 c	0,23 c	92

Cada valor representa a média de 6 repetições. Médias seguidas de letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ao nível de 5% de significância. Os dados de FR e nematóide/g.raiz foram transformados em  $\log x + 0,01$ ; FR (fator de reprodução): população final / população inicial; % CTRL (% de controle) calculado pela fórmula de Abbott (1925), baseado no valor da quantidade de nematóide por grama de raiz.

Para a variável MFR, a testemunha sem nematóide apresentou o maior peso de raiz, com 70,19 g, juntamente com os tratamentos (imidacloprido + thiodicarb), tioxazafen 60 e 120 mL e tioxazafen 120 mL com clotianidina, com valores de MFR de 53,4, 56,9, 52,6 e 49,5, respectivamente, não sendo observada diferença estatística entre eles. Para MFPA e MSPA, a testemunha sem nematóide apresentou 63,4 g de MSPA e o tratamento com tioxazafen 120 mL, combinado com clotianidina e clorantraniliprole, 57,4 g, não havendo diferença estatística entre eles.

Com esse resultado para MFPA e MSPA, pode-se dizer que não houve fitotoxicidade às plantas de milho em função do tratamento das sementes, pois com a maior dose de tioxazafen e nas maiores combinações de inseticida (clotianidina +

clorantraniliprole) não houve diferença da testemunha sem nematoide (Tabela 3.5)

**Tabela 3. 5.** Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea de plantas de milho sob diferentes tratamentos, quando inoculadas com *Pratylenchus brachyurus*. Avaliação aos 80 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Londrina, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL/65.000 sementes)	MFR	MFPA	MSPA
1. Testemunha sem nematoide	-	70,2 a	127,0 a	63,4 a
2. Testemunha com nematoide	-	39,4 b	107,1 b	50,3 b
3. (Imidacloprido + tiodicarbe)	380	53,2 a	134,0 a	64,9 a
4. Tioxazafen	60	56,9 a	123,5 a	66,2 a
5. Tioxazafen	120	52,6 a	124,8 a	54,4 b
6. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	60 / 380	43,2 b	116,7 a	57,3 a
7. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	120 / 380	43,6 b	94,6 b	43,5 b
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	39,3 b	103,6 b	51,7 b
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	49,5 a	99,3 b	49,2 b
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	45,1 b	104,2 b	48,9 b
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	44,8 b	98,6 b	55,8 b
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	45,1 b	94,6 b	50,4 b
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	45,9 b	113,7 a	57,4 a

Cada valor representa a média de 6 repetições. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de significância. Os dados de MFR foram transformados em  $\log x + 0,01$ . Os dados de MFPA e MSPA não foram transformados.

### 3.5.1.3. *Meloidogyne incognita* – Área 1 (Rolândia, PR)

Nesse ensaio, a multiplicação do nematoide foi baixa, uma vez que a testemunha apresentou o maior FR (0,88) e este ficou abaixo de 1,0, juntamente com tioxazafen 120 mL com (imidacloprido + tiodicarb) e tioxazafen 60 mL com clotianidina, com FRs de 0,36 e 0,31, respectivamente. Os demais tratamentos apresentaram FRs muito próximos, sendo tioxazafen 60 mL, tioxazafen 60 mL com imidacloprido + tiodicarb e tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole os

tratamentos que apresentaram os menores valores de FR (0,07, 0,04 e 0,06, respectivamente).

Os resultados da quantidade de nematoide/g.raiz mostraram que os tratamentos foram divididos em três grupos, pelo teste de Scott-knott. A testemunha foi o tratamento que apresentou a maior quantidade de nematoides (98,8), sendo estatisticamente diferente dos tratamentos tioxazafen 120 mL com imidacloprido + tiodicarb e tioxazafen 60 mL com clotianidina, que apresentaram 42,1 e 41,1 nematoide/g.raiz, respectivamente. Os demais tratamentos apresentaram os menores valores para essa variável, de 5 a 22 nematoide/g.raiz, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 3.6).

Baseando-se nos valores de nematoide/g.raiz para o cálculo da eficácia do produto, todos os tratamentos apresentaram eficiência de controle acima de 80% (Tabela 3.6), com exceção de tioxazafen 120 mL com imidacloprido + tiodicarb, tioxazafen 60 mL com clotianidina e tioxazafen 120 mL com clorantraniliprole com 57%, 58% e 78%, respectivamente. Os tratamentos em destaque foram o tioxazafen 60 mL e 120 mL, tioxazafen 60 mL com imidacloprido + tiodicarbe e tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole, todos com eficiência acima de 90%.

**Tabela 3.6.** Número de *Meloidogyne incognita* por grama de raiz (nematóide/g.raiz), fator de reprodução (FR) e porcentagem de controle (%CTRL) em plantas de milho sob diferentes tratamentos. Avaliação realizada aos 46 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL / 65.000 sementes)	Nematóide/g. raiz	FR	% CTRL
1. Testemunha sem nematóide	-	-	-	-
2. Testemunha com nematóide	-	98,83 a	0,88 a	-
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	10,83 c	0,10 bcde	89
4. Tioxazafen	60	6,33 c	0,07 de	94
5. Tioxazafen	120	9,17 c	0,09 cde	91
6. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	60 / 380	5 c	0,04 e	95
7. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	120 / 380	42,17 b	0,36 a	57
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	41,17 b	0,31 a	58
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	11,42 c	0,11 bcd	88
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	18,83 c	0,15 bc	81
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	22 c	0,17 b	78
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	16,67 c	0,17 b	83
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	8,67 c	0,06 de	91

Cada valor representa a média de 6 repetições. Para nematóide/gr.raiz, médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de significância. Para FR, médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. Os dados de nematóide/g.raiz foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ ;

FR (fator de reprodução): população final / população inicial;

% CTRL (% de controle) calculado pela fórmula de Abbott (1925), baseado no valor da quantidade de nematóide por grama de raiz.

Na Tabela 3.7 estão apresentados os valores de desenvolvimento das plantas (MFR, MFPA e MSPA), sendo que não houve diferença significativa em nenhuma das variáveis nos tratamentos avaliados.

**Tabela 3.7.** Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea de plantas de milho sob diferentes tratamentos, quando inoculadas com *Meloidogyne incognita*. Avaliação aos 46 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL / 65.000 sementes)	MFR <sup>ns</sup>	MFPA <sup>ns</sup>	MSPA <sup>ns</sup>
1. Testemunha sem nematoide	-	22,20	74,23	12,09
2. Testemunha com nematoide		18,90	65,92	10,43
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	18,43	72,51	13,93
4. Tioxazafen	60	20,35	74,31	11,95
5. Tioxazafen	120	20,18	73,63	10,96
6. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	60 / 380	16,37	74,33	13,86
7. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	120 / 380	18,34	78,08	12,89
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	15,04	71,64	11,05
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	17,53	72,88	11,33
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	20,46	82,84	12,33
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	15,75	76,72	11,69
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	21,08	73,15	11,76
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	15,96	67,44	9,96

Cada valor representa a média de 6 repetições. <sup>ns</sup>: não significativo pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de significância. Os dados de MFR, MFPA e MSPA foram transformados em  $\log x + 0,01$ .

#### 3.5.1.4 *Meloidogyne incognita* – Área 2 (Londrina, PR)

Como os valores de FR obtidos no ensaio conduzido na Área 1 foram baixos, com avaliação realizada aos 46 DAI, optou-se por extrair os nematoides do ensaio conduzido na Área 2 aos 70 DAI, possibilitando maior multiplicação do mesmo.

Para a variável FR, o teste de médias de Scott-knott dividiu os tratamentos em 4 grupos, observando-se maior multiplicação do nematoide na testemunha e no tratamento tioxazafen 120 mL com clotianidina, com valores superiores a todos os outros tratamentos, 3,9 e 4,5, respectivamente. O segundo grupo foi formado pelos tratamentos com tioxazafen 120 mL com clorantraniliprole e tioxazafen 60 mL com clotianidina e clorantraniliprole, com FRs de 2,7 e 1,9, respectivamente. Os

tratamentos Imidacloprido + thiodicarb, tioxazafen 60 e 120 mL, tioxazafen 120 com imidacloprido + thiodicarbe e tioxazafen 60 mL com clotianidina, apresentaram menores valores de FR, em relação ao grupo anterior (entre 0,79 a 1,21), não diferindo estatisticamente entre si. Os tratamentos com menores valores de FR (0,52 a 0,61) foram tioxazafen 60 mL com imidacloprido + thiodicarbe, tioxazafen 60 mL com clorantraniliprole e tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole (Tabela 3.8).

Baseando-se nos valores de nematoide/g.raiz para o cálculo da eficácia do produto para *M. incognita*, o tratamento tioxazafen 120 mL / clotianidina não apresentou eficiência de controle. Os tratamentos com menores quantidades de nematoide por grama de raiz apresentaram eficiência de controle entre 80 e 88%, sendo o tioxazafen 60 mL e 120 mL com imidacloprido + thiodicarbe, tioxazafen 60 mL com clorantraniliprole e tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole (tabela 3.8).

Para a variável número de nematoide/g.raiz, os resultados foram semelhantes aos de FR, porém o teste de médias agrupou os tratamentos em três grupos ao invés de quatro. Os tratamentos tioxazafen 120 mL com clotianidina e tioxazafen 120 mL com clorantraniliprole não diferiram da testemunha. O segundo grupo, com menor quantidade de nematoide/g.raiz, foi formado pelos tratamentos imidacloprido + thiodicarbe, tioxazafen 60 mL com clotianidina e clorantraniliprole (59,2 e 55,3, respectivamente). O grupo com menor quantidade de nematoide/g.raiz foi formado pelos tratamentos tioxazafen 60 e 120 mL, tioxazafen 60 e 120 mL com imidacloprido + thiodicarbe, tioxazafen 60 mL com clotianidina, tioxazafen 60 mL com clorantraniliprole e tioxazafen 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole, com valores entre 12,4 e 32 nematoide/g.raiz (Tabela 3.8).

Nesse estudo, verificando as doses de 60 e 120 mL e suas devidas combinações de produtos, com excessão do último tratamento (tioxazafen 120 mL clotianidina / clorantraniliprole), todos os tratamentos com 60 mL de tioxazafen apresentaram controle superior à sua combinação na dose de 120 mL.

**Tabela 3.8.** Número de *Meloidogyne incognita* por grama de raiz (nematóide/g.raiz), fator de reprodução (FR) e porcentagem de controle (%CTRL) em plantas de milho sob diferentes tratamentos. Avaliação realizada aos 70 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Londrina, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL / 65.000 sementes)	Nematóide/g. raiz	FR	% CTRL
1. Testemunha sem nematóide	-	-	-	-
2. Testemunha com nematóide	-	103,8 a	3,93 a	-
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	59,2 b	1,21 c	43
4. Tioxazafen	60	23,9 c	0,85 c	77
5. Tioxazafen	120	29,6 c	1,08 c	71
6. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	60 / 380	16,9 c	0,57 d	84
7. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	120 / 380	21,2 c	0,79 c	80
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	32 c	1,12 c	69
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	123,8 a	4,55 a	-19
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	21,1 c	0,61 d	80
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	77,2 a	2,75 b	26
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	55,3 b	1,95 b	47
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	12,4 c	0,52 d	88

Cada valor representa a média de 7 repetições. Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de significância. Os dados de nematóide / g.raiz e FR foram transformados em  $\log_{10}x+0,01$ ;

FR (fator de reprodução): população final / população inicial;

% CTRL (% de controle) calculado pela fórmula de Abbott (1925), baseado no valor da quantidade de nematóide por grama de raiz.

Para os dados de MFR, MFPA e MSPA, não foram observadas diferenças estatísticas entre os tratamentos (Tabela 3.9). Desta forma, pode-se dizer que não houve efeito negativo dos tratamentos no desenvolvimento das plantas de milho.

**Tabela 3. 9.** Massa fresca de raiz (MFR), massa fresca (MFPA) e seca (MSPA) de parte aérea de plantas de milho sob diferentes tratamentos, quando inoculadas com *Meloidogyne incognita*. Avaliação aos 70 dias após inoculação. Ensaio conduzido em Londrina, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL / 65.000 sementes)	MFR <sup>ns</sup>	MFPA <sup>ns</sup>	MSPA <sup>ns</sup>
1. Testemunha sem nematoide	-	99,4	168,2	31,7
2. Testemunha com nematoide	-	80,9	158,8	31,4
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	57,2	125,1	21,2
4. Tioxazafen	60	79,1	168,2	29,7
5. Tioxazafen	120	77,8	158,9	30,0
6. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	60 / 380	70,9	142,6	28,1
7. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	120 / 380	82,2	157,7	31,9
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	70,8	135,5	24,1
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	74,1	150,2	29,4
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	61,6	144,2	26,5
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	75,3	147,9	25,4
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	71,98	163,19	32,87
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	84,3	163,57	30,13

Cada valor representa a média de 7 repetições. <sup>ns</sup>: não significativo pelo teste de Scott-knott ao nível de 5% de significância. Os dados de MFR foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ . Os dados de MFPA e MSPA não foram transformados.

Nos resultados obtidos em ambos locais, para *P. brachyurus*, demonstraram maior eficácia na combinação de tioxazafen com outros produtos do que isoladamente, já que no ensaio conduzido na Área 1 o produto isolado apresentou eficiência menor do que nas combinações com (imidaclopride+thiodicarbe), clotianidina, clorantraniliprole e clotianidina + clorantraniliprole. No ensaio conduzido na Área 2, o tioxazafen isolado apresentou controle similar às combinações.

Tioxazafen também foi eficiente no controle de *M. incognita* nos dois locais e nas duas doses testadas, isoladamente ou combinado com os demais produtos, porém na combinação de produtos mostrou tendência de melhor controle quando utilizada a dose de 60 mL/65.000 sementes, situação verificada principalmente no

ensaio da Área 2.

Resultados similares foram obtidos por Uzuele (2016), que mostraram eficiência de controle do tioxazafen para *H. glycines*, *P. brachyurus* e *M. javanica* em soja e *M. incognita* em algodão, sendo que, na cultura do milho, a melhor dose para *M. incognita* foi a de 60 mL / 65.000 sementes, corroborando com o presente estudo e, de 120 mL / 65.000 sementes para o nematoide *P. zea*. Entretanto, neste caso, tioxazafen foi testado de forma isolada para esses nematoides. Nesse mesmo trabalho de Uzuele (2016), não foram constatadas fitotoxicidade e efeitos adversos no desenvolvimento das plantas, resultados estes similares ao do presente estudo, inclusive nas combinações com inseticidas.

Ensaio conduzidos nos Estados Unidos relatam controle satisfatório de *H. glycines* e *Pratylenchus* spp. em soja e aumento da produtividade em milho em áreas infestadas por nematoides, em até 300 kg.ha<sup>-1</sup>, comparada à testemunha, e 180 kg.ha<sup>-1</sup>, comparado ao padrão de mercado. (SLOMCZYNSKA et al., 2015).

Estudos para verificar eficiência de produtos para nematoides em tratamento de sementes vêm sendo conduzidos mais intensamente desde 2006, após o surgimento das moléculas abamectina e imidacloprido + thiodicarbe. Monfort et al. (2006), observaram eficiência de abamectina aos 35 dias para controle de *M. incognita* no algodão, em estudos de casa de vegetação, porém não foi possível observar resultados positivos em condições de campo. O mesmo resultado de controle não foi observado em estudo também realizado em casa de vegetação por Faske e Starr (2007), quando estes adicionaram fungicida e inseticida junto à abamectina, sendo que os autores citam que este menor controle seja provavelmente devido às interações entre os produtos. Já Kubo et al. (2012), obtiveram resultados positivos no controle de *R. reniformis* em algodão, com a aplicação dos produtos Imidacloprido+thiodicarbe isolado ou combinado com clotianidida e thiamethoxan combinado com abamectina, em ensaio conduzido em casa de vegetação com sementes tratadas. Nesse mesmo trabalho não foi observado controle com a mistura imidacloprido + clotianidina, evidenciando que esses produtos não possuem eficiência para nematoides.

A combinação de alguns agrotóxicos com nematicidas pode potencializar (sinergismo), reduzir (antagonismo) ou não alterar o efeito do nematicida. No caso da sinergia, a combinação dos produtos pode aumentar a mortalidade do nematoide

e/ou reduzir sua reprodução (VEECH; DICKSON, 1987). A utilização de herbicidas pré-emergentes como metribuzin, alachlor e linuron em parcelas tratadas com aldicarbe reduziu a população de *H. glycines* comparada com aldicarbe sozinho. Este efeito pode ser do herbicida, afetando as bactérias que se alimentam dos nematoides, já que a população aumentou com o uso do produto, ou mesmo funcionando como um facilitador na eclosão dos nematoides, favorecendo a ação do nematicida (SCHMITT; CORBIN, 1983). Outros herbicidas e agrotóxicos podem causar má formação nos nematoides, ficando estes mais sensíveis aos nematicidas (FREY, 1979, apud VEECH; DICKSON, 1987).

O presente estudo mostrou que a combinação de inseticidas não afetou a efetividade de tioxazafen no controle de *M. incognita* e *P. brachyurus* em ensaios na cultura do milho, conduzidos em casa de vegetação, além de não causar efeito negativo no crescimento das plantas. Esta compatibilidade de tioxazafen com os produtos testados é um ponto positivo ao mesmo, considerando-se que em muitos casos o efeito nematicida foi potencializado. Merece destaque a combinação de tioxazafen com clorantraniliprole, com elevado efeito nematicida. Na literatura, foi relatado por Abbas et al. (2015), este efeito positivo no controle de *M. incognita* com o produto Virtako (mistura de clorantraniliprole com thiametoxan) em relação ao produto Actara (thiametoxan isolado). Thiametoxan e clorantraniliprole possuem modos de ação diferentes, onde o thiametoxan se liga à acetilcolina, afetando o sistema nervoso, paralisando e levando o nematoide à morte (YAMAMOTO, 1999, apud ABBAS, 2015); já clorantraniliprole causa um esgotamento de cálcio das células musculares, levando-o à paralisa e morte (CORDOVA et al, 2006, apud ABBAS, 2015). Para tioxazafen, foi realizada a caracterização fenotípica do parasitismo com o nematoide *Caenorhabditis elegans*, indicando um modo de ação diferente de outros nematicidas existentes no mercado (SLOMCZYNSKA et al., 2015). No presente estudo, a combinação de diferentes modos de ação pode estar relacionada à melhora no controle dos nematoides, fato ocorrido principalmente para *P. brachyurus* na área 1.

Com os dados obtidos no presente trabalho e comparando-se com outros estudos, pode-se dizer que a dose de 60 mL / 65.000 sementes de milho é suficiente para uma boa eficiência no controle de *M. incognita* e *P. brachyurus*, comparativamente à dose de 120 mL, sendo que a combinação com inseticidas

mostrou efeito positivo no controle dos nematoides. Dessa forma, o produto tioxazafen pode ser utilizado de forma a agregar no manejo para redução da população destes nematoides na cultura do milho.

### 3.5.2. Avaliação da Fitotoxicidade Inicial e Emergência

Como houve variação entre a temperatura mínima e máxima durante os meses de avaliação, principalmente a partir de junho (Quadro 2), o crescimento das plantas não foi igual em todos os períodos, sendo observada redução mais acentuada do crescimento das plantas da testemunha e dos tratamentos a partir de 120 dias (junho) (Tabela 3.10). Dessa forma, preferiu-se realizar a análise individual por época de semeadura, comparando-se os diversos tratamentos de sementes com a testemunha sem tratamento. Como não havia a presença de nematoides nesses estudos, e para não alterar a tabela de tratamentos inicial, a testemunha nesse estudo foi denominada de tratamento 1 e 2 e os demais tratamentos de sementes seguiram a mesma ordem (Tratamento 3 ao 13), conforme Tabela 3.10.

Para MSPA (Tabela 3.10), foram observadas diferenças apenas aos 0 e 40 DAT, porém aos 2 DAT os únicos tratamentos em que a MSPA apresentou valores menores que a testemunha foram aqueles na combinação de mais produtos (tioxazafen 60 e 120 mL com clotianidina e clorantraniliprole). Já aos 40 DAT, houve uma inversão para esses dois tratamentos, que apresentaram MSPA superior à testemunha sem tratamento. Não foi possível observar diferença estatística entre os tratamentos aos 80, 120 e 200 DAT (Tabela 3.10).

Segundo Bernardi (2016), o crescimento das plantas de milho (MFPA e MSPA) não é afetado quando as sementes são tratadas com Poncho (clotianidina) e armazenadas por até 150 dias. Da mesma forma, estudos conduzidos por Uzuele (2016) não evidenciaram fitotoxicidade, redução de emergência e vigor em plantas de milho tratadas com tioxazafen nas doses até 120 mL / 65.000 sementes. Porém, esse estudo foi conduzido logo após o tratamento das sementes.

Com os dados obtidos no presente estudo, pode-se afirmar que o tratamento de sementes com o produto tioxazafen, nas duas doses testadas e combinações com os demais produtos, não causa fitotoxicidade inicial ou diminuição do

crescimento das plantas, em até 200 dias de armazenamento das sementes, pois, comparado à testemunha, ocorreu redução significativa da MSPA somente em dois tratamentos e em uma das cinco época de avaliação (aos 0 DAT).

**Tabela 3.10.** Massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de milho sob diferentes tratamentos, sem a presença de nematoides. Avaliação aos 21 dias após a semeadura para as datas de 0, 40, 80, 120 e 200 dias após o tratamento das sementes (DAT). Ensaio conduzido em Rolândia, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL / 65.000 sementes)	0 DAT	40 DAT	80 DAT <sup>ns</sup>	120 DAT <sup>ns</sup>	200 DAT <sup>ns</sup>
1 e 2. Testemunha		1,03 c	1,17 c	1,27	0,46	0,43
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	1,19 b	0,85 c	1,11	0,50	0,46
4. Tioxazafen	60	1,21 b	1,28 c	0,95	0,52	0,38
5. Tioxazafen	120	1,89 a	1,96 a	1,14	0,57	0,52
6. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	60 / 380	1,39 b	1,66 b	0,90	0,50	0,41
7. Tioxazafen / (imidacloprido + thiodicarbe)	120 / 380	0,87 c	2,10 a	0,74	0,44	0,35
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	0,99 c	2,04 a	1,03	0,49	0,34
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	0,90 c	2,02 a	1,27	0,39	0,41
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	0,81 c	2,49 a	1,21	0,48	0,39
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	0,85 c	2,01 a	0,60	0,48	0,48
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	0,68 d	1,59 b	1,11	0,43	0,50
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	0,50 d	1,57 b	1,23	0,37	0,49

Cada valor representa a média de 6 repetições para 0, 40 e 80 DAT e 10 repetições para 120 e 200 DAT. Médias seguidas por mesmas letras, não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott a 5% de significância.

Com relação à viabilidade de emergência das sementes, foi contabilizada a porcentagem de plantas emergidas em cada período, nas mesmas épocas avaliadas para MSPA (0, 40, 80, 120 e 200 DAT), sendo avaliadas aos 10 DAS, em condições controladas de temperatura e umidade (Tabela 3.11). As diferenças de emergência entre tratamentos foram discretas e pontuais em algumas épocas de avaliação, ficando acima de 80% em sua maioria.

A maior redução da emergência foi aos 80 DAT, entre os tratamentos e também entre as épocas de avaliação. Nessa época, todos os tratamentos diferenciaram da testemunha, sendo o tioxazafen 60 e 120 mL com imidacloprido +

thiodicarbe, tiozaxafen 120 mL com clotianidiana e tiozaxafen 60 mL com clorantraniliprole apresentaram os menores valores, entre 63% e 65%, provavelmente devido a algum tipo de estresse, principalmente hídrico (Tabela 3.11).

Bernardi (2016) verificou que não houve redução na germinação em sementes de milho tratadas com Poncho (clotianidina) e Standak Top (fipronil+piraclostrobina+tiofanato-metílico), em até 150 dias após o armazenamento, porém é possível ocorrer redução da qualidade fisiológica da semente em decorrência do tratamentos de sementes e do armazenamento em condições não controladas de ambiente. Trabalhos com tratamentos de sementes relatam redução da germinação de sementes de milho, após 40 dias do tratamento com o produto imidacloprido + thiodicarbe (WENDLING, 2009) e sementes de soja após 45 dias (DAN et al., 2010), porém ficando acima de 85%, sendo aceitável pelos padrões de comercialização de sementes (ABRASEM, 2013). Neste mesmo trabalho, Dan et al. (2010), observou reduções de germinação mais significativas dos inseticidas carbofuran e acefato, ficando abaixo de 70% após 45 dias de armazenamento. Outro trabalho conduzido por até 1 ano após o tratamento das sementes de milho mostra a qualidade superior de sementes armazenadas em câmara fria, quando comparada com o armazenamento sem condições controladas. Porém, nos dois casos, os tratamentos de sementes à base de imidaclopride + thiodicarbe (Cropstar) e thiametoxan (Cruiser) apresentaram redução na germinação e tamanho de plântulas (TARUMOTO et al., 2012). O mesmo efeito foi observado por Tonin et al. (2014), comparando-se armazenamento em ambiente controlado e sem controle, com diferentes tratamentos de sementes e dois híbridos de milho; os autores observaram efeitos mais severos na redução da germinação e vigor de plantas de milho em sementes tratadas com thiamethoxan e armazenadas em ambiente sem controle de temperatura e umidade, sendo as variáveis também influenciadas pelo híbrido de milho.

No presente estudo, exceto aos 80 DAT, não foram observadas grandes diferenças de emergência entre os tratamentos, mesmo no tratamento com a maior combinação de produtos e na maior dose de tiozaxafen (tratamento 13), evidenciando que as combinações dos diferentes produtos testados permitiram emergência de 80% ou acima em até 200 dias de armazenamento. Vale ressaltar que, o híbrido de milho utilizado (DKB390 PRO3) pertencia a um lote novo de

sementes e que, durante todo o período, as sementes ficaram armazenadas em câmara fria a 10°C e 50% de umidade, condições propícias para manutenção da qualidade e germinação da semente (CARVALHO, NAKAGAWA, 2000).

Conforme relatado por Tonin et al. (2014), pode haver diferenças na germinação e vigor entre híbridos com o mesmo tratamento de semente. No caso do presente estudo, não foram observadas variações de germinação e vigor relevantes, no período de 200 dias de armazenamento, para o híbrido DKB390 PRO3.

**Tabela 3.11.** Porcentagem de sementes de milho emergidas, em diferentes tratamentos, até 200 dias de armazenamento. Rolândia, PR, 2018.

Tratamento	Dose Produto (mL / 65.000 sementes)	Dose				
		0 DAT	40 DAT	80 DAT	120 DAT	200 DAT
1 e 2. Testemunha		93 aA	85 bB	94 aA	93 aA	82 bB
3. (Imidacloprido + thiodicarbe)	380	87 aA	87 bA	79 bB	89 aA	80 bB
4. Tioxazafen	60	91 aB	99 aA	79 bC	90 aB	87 aB
5. Tioxazafen	120	86 aA	87 bA	77 bB	85 aA	90 aA
6. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	60 / 380	91 aA	85 bA	65 cB	85 aA	86 aA
7. Tioxazafen / (imidacloprido + tiodicarbe)	120 / 380	73 cB	89 bA	63 cC	84 aA	82 bA
8. Tioxaxafen / clotianidina	60 / 85	88 aA	87 bA	81 bB	93 aA	81 bB
9. Tioxaxafen / clotianidina	120 / 85	81 bB	83 bB	65 cC	89 aA	80 bB
10. Tioxazafen / clorantraniliprole	60 / 52	83 bB	87 bA	64 cC	89 aA	79 bB
11. Tioxazafen / clorantraniliprole	120 / 52	80 bA	86 bA	83 bA	84 aA	87 aA
12. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	60 / 85 / 52	86 aA	89 bA	83 bA	87 aA	80 bA
13. Tioxazafen / clotianidina / clorantraniliprole	120 / 85 / 52	84 bA	87 bA	81 bA	84 aA	86 aA

Médias seguidas por mesma letras minúscula na coluna ou maiúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott (1974) a 5% de significância. Letras minúsculas refere-se ao tratamentos dentro da época avaliada e letras maiúsculas o tratamento nas cinco épocas de avaliação;

DAT: dias após o tratamento das sementes.

### 3.6. Conclusões

- O produto tioxazafen é eficiente no controle de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus brachyurus* em plantas de milho do híbrido DKB390 PRO3, quando aplicado em tratamento de sementes, com eficiência a partir da dose de 60 mL / 65.000 sementes (0,5 mg i.a / semente);
- A combinação de tioxazafen com outros inseticidas não diminui a eficácia do produto no híbrido de milho DKB390 PRO3, demonstrando compatibilidade nas combinações com (imidacloprido + tiodicarbe), clorantraniliprole, clotianidina e clotianidina + clorantraniliprole, inclusive potencializando o efeito nematicida, em muitos casos;
- O Tioxazafen, bem como a combinação com outros produtos, de maneira geral, não mostrou efeito negativo no crescimento das plantas de milho DKB390 PRO3;
- O armazenamento, em condições controladas de temperatura e umidade, garantiu boa emergência do híbrido de milho DKB390 PRO3, mantendo o crescimento inicial e sem fitotoxicidade ao crescimento das plantas, para todos os tratamentos, em até 200 dias após o tratamento das sementes.

#### 4. REFERÊNCIAS

ABBAS, H. JAVED, N., KHAN S.A., AHMAD, S. Exploitation of the Nematicidal Potential of Bio- and Synthetic Chemicals Against *Meloidogyne incognita* and Their Impact on Phytotoxicity and Nematode Reproduction. **Pakistan Journal of Zoology**, vol. 47(6), p.1587-1600, Punjab, Pakistan, 2015.

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Economic Entomology**, College Park, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.

ABRASEM - Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. **Instrução Normativa nº 45, de 17 de setembro de 2013**. Brasília, Publicação: DOU dia 20/09/13, seção 1.

AGRIOS, G.N. Plant Diseases caused by Nematodes. In: **Plant Pathology 5<sup>th</sup> edition**. Elsevier Academic Press, USA, 2005. p. 826-874.

AGROFIT – Sistema de Agrotóxico Fitossanitário. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 10/12/2018.

ANTONIO, S.F., MENDES, F.L., FRANCHINI, J.C., DEBIASI, H. DIAS, W.P., RAMOS JUNIOR, GOULART, A.M.C., SILVA, J.F.V. **Perdas de produtividade da soja em área infestada por nematoide das lesões radiculares em Vera, MT**. In: VI Congresso Brasileiro de Soja, Cuiabá, MT. 2012.

ARAUJO, F. F.; BRAGANTE R. J.; BRAGANTE, C. E. Controle genético, químico e biológico de Meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 220-224, Goiânia, 2012.

ARAUJO, F, G. 35º Congresso Brasileiro de Nematologia. Palestra. **Novas Moléculas e Produtos Biológicos no Manejo de Fitonematoides em Soja**. Bento Gonçalves, RS, 2018.

ARIEIRA, C.R.D.; FERRAZ, S., FREITAS L.G.; MIZOBUTSI, E.H. Avaliação de gramíneas forrageiras para o controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* (Nematoda). **Acta Scientiarum**. Maringá, v.25, n.2, p.473-477, 2003

BERNARDI, D. **Qualidade fisiológica de sementes de milho com tratamento inseticida antes e após o armazenamento**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2016.

BESSI, R., SUJIMOTO, F.R., INOMOTO, M.M. Seed treatment affects *Meloidogyne incognita* penetration, colonization and reproduction on cotton. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1428-1430, 2010.

BORTOLINI, G.L., ARAÚJO, D.V., ZAVISLAK, F.D., JUNIOR, R., KRAUSE, W. Controle de *Pratylenchus brachyurus* via tratamento de Sementes de Soja. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.9, n.17; p. 818, 2013.

BRIDGE, J., WILLIAMS, T.D., Plant Parasitic Nematodes. In: WALLER, J.M., LENNÉ J.M., WALLER, S.J. **Plant Pathologists't Pocketbook**. 3<sup>rd</sup> ed. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2002, p.140-162.

BROWN, G.G, NIVA, C.C, ZAGATTO, M.R.G.; FERREIRA, S.A.; NADOLNY, H.S.; CARDOSO, G.B.X.; SANTOS, A.; MARTINEZ, G.A.; PASINI, A.; BARTZ, M.L.C.; SAUTTER, K.D.; THOMAZINI, M. J.; BARETTA, E.S.; ANTONIOLLI, Z.I.; THIBAUD D.; LAVELLE, P.M.; SOUSA, J.P.; CARVALHO, F. Biodiversidade da fauna do solo e sua contribuição para os serviços ambientais. In: PARRON, M.L., GARCIA, J.R.; OLIVEIRA, E.B.; BROWN, G.G.; PRADO, R.B. **Serviços Ambientais em Sistemas Agrícolas e Florestais do Bioma Mata Atlântica**. Embrapa. Brasília, DF, 2015, p.122-155

CABRERA, J.A., KIEWNICK, S., GRIMM, C., DATABAT, A.A., SIKORA, R.A. Efficacy of abamectin seed treatment on *Pratylenchus zae*, *Meloidogyne incognita* and *Heterodera schachtii*. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, UK, p. 124-128, 2009.

CARNEIRO, R.M.D.G. Princípios e Tendências do Controle Biológico de Nematoides com Fungos Nematófagos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, EMBRAPA, p. 113-121. Brasília, 1992.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588p.

CASELA, C. R., FERREIRA, A.S., PINTO N.F.J.A. Doenças na Cultura do Milho. Circular técnica, 83. Embrapa, Sete Lagoas, MG, dezembro, 2006. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/490415/1/Circ83.pdf>. Acesso 20 de janeiro 2019.

CONAB: 10<sup>o</sup> Levantamento – Safra 2017-2018 grãos. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso 07 ago 2018.

DAN, L.G.M., DAN, H.A., BARROSO, A.L.L.; BRACCINI, A. L. Qualidade Fisiológica de sementes de soja tratadas com inseticida sob efeito do armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 32, no 2, p. 131 -139, 2010.

DEBIASI, H.; MORAES, M.T.; FRANCHINI, J.C.; DIAS, W.P.; SILVA, J.F.V.; RIBAS, L.N. **Alternativas culturais para controle do nematoide das lesões radiculares durante a entressafra da soja no Mato Grosso**. Resumos da XXXII Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil. São Pedro, SP, 2011. 46-48p. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/40573/1/debiasip.46-48.pdf>. Acesso em 17 jul 2017

DECRAEMER W, HUNT DJ (2013). Structure and classification. In: PERRY RN, MOENS, M. **Plant nematology**. 2<sup>nd</sup> ed. Wallingford, CABI International, 2013, 3-37p

DIAS, F.A., RIBEIRO, W.P. Reação de genótipos de milho a *Meloidogyne incognita* raça 3 e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.31 n.2, p.111, ago.2007

DIAS, W.P., GARCIA, A.; SILVA, J.F.V.; CARNEIRO, G.E.S. Nematoides em soja: Identificação e Controle. **Circular técnica**. Embrapa, Londrina, abr,2010.

DICKERSON, O.J.L.; BLAKE, J.H.; LEWIS, S.A. **Nematode Guidelines for South Carolina**. Clemson University, South Caroline, 2000.

DOU (Diário Oficial da União). **Instrução Normativa Conjunta nº2. De 14 de Dezembro de 2015**. Disponível em :

[http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/INC\\_02\\_2015.pdf/36960a5d-e7d9-4270-ad5c-c73b1a9e7592](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/INC_02_2015.pdf/36960a5d-e7d9-4270-ad5c-c73b1a9e7592). Acesso em 18 Jul 2018.

DUNCAN, L.W., MOENS, M., Migratory Endoparasitic Nematodes. In: PERRY, R.N., MOENS, M., **Plant Nematology**. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2006. 124-152p.

EPA (United States Protection Agency). **Methyl Bromide – phaseout of ozone-depletion substances**. Disponível em: <https://www.epa.gov/ods-phaseout/methyl-bromide>. Acesso em 18 Jul 2018.

FASKE T.R.; STARR, J.L.; Cotton Root Protection from Plant-Parasitic Nematodes by Abamectin-Treated Seed. **Journal of Nematology**, v.39, n.1, p.27-30, 2007.

FERRAZ, L.C.C.B. Gênero *Pratylenchus* – os nematoides das lesões radiculares. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, 1999 v.7, p. 157-195.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. Os nematoides no contexto da Agricultura atual. In: **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 2016.

FERREIRA, A.J.; FRAGOSO, R.R.; LOURENÇO, I.T.; MEZZALIRA, I.; DIAS, W.P.; CARNEIRO, R.M.D.G.; NEPOMUCENO, A.L.; BORÉM, A.; GROSSI-DE-SA, M.F. Validação da estratégia de resistência de silenciamento gênico visando indução de resistência a *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines* em soja GM. Trabalho publicado no VI Congresso Brasileiro de Soja. Cuiabá, MT, 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/61940/1/3-s402.pdf>. Acesso em 30/09/2018.

FERREIRA, E.B., CAVALCANTI P.P., NOGUEIRA, D.A. ExpeDes - Experimental Designs. v.1.2.0. Software R 3.4.4, 2018.

FIESP – Safra Mundial de Milho. Informativo Deagro, junho 2017. Disponível em: [http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/attachment/boletim\\_milho\\_junho2017/](http://www.fiesp.com.br/indices-pesquisas-e-publicacoes/safra-mundial-de-milho-2/attachment/boletim_milho_junho2017/). Acesso em 16 jul.2017

FRANCHINI, J.C. DEBIASI, H. DIAS, W. P., RAMOS JUNIOR, E.U. BALBINOT JUNIOR, A. A. Densidade populacional do nematoide das lesões radiculares em soja e sua relação com a calagem. Resumo expandido da XXXIV Reunião de Pesquisa de soja. Londrina, PR, 2014.

GALBIERI, R.; ASMUS, G. Principais espécies de nematoides do algodoeiro no Brasil. In: GALBIERI, R.; BELOT, R.G. **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle**. IMAmt. Boletim de P&D, Cuiabá 2016, p. 11-36.

GALBIERI, R.; VAZ, C.M.P.; SILVA, J.F.V.; ASMUS, G.L.; CRESTANA, S.L. MATOS, E.S.; MAGALHÃES, C.A.S. Influência dos parâmetros do solo na ocorrência de fitonematoides. In: GALBIERI, R.; BELOT, R.G. **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle**. IMAmt. Boletim de P&D, Cuiabá 2016, p.37-90.

GALBIERI, R.; SILVA, J.F.V.; ASMUS, G.L.A.; VAZ, C.M.P.; LAMAS F.M.; CRESTANA, S.; TORRES, E.D.; FARIAS, A.; FALEIRO, V.O.; CHITARRA, L.G.; RODRIGUES, S.M.; STAUT L.A.; MATOS, E.S.; SPERA, S.T.; DRUCK, S.; MAGALHÃES, C.A.S.; OLIVEIRA, A.A.E; TACHINARDI R.; FANAN, S.; RIBEIRO N. R.; SANTOS, T.F.S. Áreas de produção de algodão em Mato Grosso: nematoides, murcha de fusarium, sistemas de cultivo, fertilidade e física de solo. **Circular técnica IMAmt**, nº 8, 2014.

GOULART, A.M.C. **Aspectos Gerais sobre Nematóides-das-lesões radiculares** (gênero *Pratylenchus*), Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2008, 11-30p.

HAYDOCK, P.P.J., WOODS, S.R., GROVE, I.G., HARE, M.C. Chemical control of nematodes. In: PERRY, R.N., MOENS, M.M. **Plant Nematology**. Wallingford, CABI Publishing, 2006, p 392-408.

HENNING, A. A. **Patologia e Tratamento de Semente: Noções Gerais**. Documentos / Embrapa Soja, ISSN 1516-781X; N.235. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 51p.

HUSSEY, R.S.; JANSSEN, G.J.W. Root-Knot Nematodes: *Meloidogyne* Species. In: STARR, R.C.; COOK, R.; BRIDGE, J.; Plant Resistance to Parasitic Nematodes. CABI Publishing, 2002, p 43-70.

INOMOTO, M. M. Avaliação da Resistência de 12 híbridos de milho a *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, vol. 36, 5, p. 308-312, 2011.

INOMOTO, M. M. Perdas acarretadas por nematoides podem, com precaução ser evitadas. Revista **Visão Agrícola**, nº 13, p 116 – 119, Jul/Dez 2015. Disponível em [http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA\\_13\\_Protecao\\_plantas-artigo5.pdf](http://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Protecao_plantas-artigo5.pdf). Acesso em 17 junho 2017.

INOMOTO, M.M., MOTTA, L.C.C., MACHADO A.C.Z., SAZAKI, C.S.S. Reação de dez coberturas vegetais a *Pratylenchus brachyurus*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 2, p 151-157, 2006.

JENKINS, W.R. & TAYLOR, D.P. 1967, **Plant Nematology**. New York, Reinhold. Disponível em: <http://14.139.56.90/handle/1/2061769>, acesso em 17 junho 2017

JUNIOR, D.B.G., ROLDI, M., NAMUR, F. M., MACHADO, A.C.Z. Tratamento de Sementes de Feijoeiro no Controle de *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne incognita* e *M.javanica*. **Nematologia Brasileira**. Piracicaba, 2013.

KOENNING, S.R. et. al. Survey of Crop Losses in Response to Phytoparasitic Nematodes in the United States for 1994. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 31, n. 4S, p. 587-618, 1999.

KUBO, R.K., MACHADO.A.C.Z., OLIVEIRA, C.M.G. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em dois cultivares de algodão. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, p.239-245, jun 2012.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8. ed. São Paulo: Nobel, 1984. 121 p. 313-339

LOURENÇO, I.T, SÁ, M.F.G, FRAGOSO, R.R. Validação funcional de genes envolvidos com estresse de *Meloidogyne incognita* via RNA interferente *in planta*. Tese (Doutorado em Biologia Molecular). Universidade de Brasília, 2014.

MACHADO, A.C.Z. Controle Químico. In: GALBIERI, R. BELOT, J. L. (Org.). **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle**. Instituto Mato-grossense do algodão – IMAmt, Cuiabá, 2016, p

MACHADO, A.C.Z.; KANEKO, L.; PINTO, Z.V. Controle Biológico. In: GALBIERI, R. BELOT, J. L. (Org.). **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle**. Instituto Mato-grossense do algodão – IMAmt, Cuiabá, 2016, p. 287-312.

MCDONALD, A. H., NICOL, J.M. Nematode Parasites of Cereals. In: LUC M., SIKORA, R.A., BRIDGE, J. **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. 2 nd ed. CABI Publishing Wallingford, UK, 2005, 131-192p.

MENDIBURU, F. *Agricolae - Statistical Procedures for Agricultural Research*. v1.2-8., Software, R3.4.4, 2017.

MITIKU, M. Plant-Parasitic Nematodes and Their Management: A Review. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**. Vol.8, nº.1. Jinka, Ethiopia, 2018.

MOENS, M., KARSSSEN, G. Root-Knot Nematodes. In: PERRY, R.N.; MOENS, M. **Plant Nematology**. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2006, 59-89 p.

MONFORT, W.S., KIRKPATRICK, T.L., LONG, D. L.; RIDEOUT S. Efficacy of a Novel Nematicidal Seed Treatment against *Meloidogyne incognita* on Cotton. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 38, n. 2, p. 245-249, 2006.

NICOL, J.M. *et al.* Current nematode threats to world agriculture. In: JONES, J.; GHEYSEN, G.; FENOLL, C. (Ed.). **Genomics and molecular genetics of plant: nematode interactions**. p. 21–43. Berlin: Springer, 2011.

NOLING, J.W., BECKER, J.O. The Challenge of Research and Extension to Define and Implement Alternatives to Methyl Bromide. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 26, n. 4S, p. 573-586, 1994.

NORTON, D.C. Maize Nematode Problems. **Plant Disease**. v. 67, n.3, 1983.

NUNES, H.T.; MONTEIRO; A.C. POMELA, A.W.V. Uso de agentes microbianos e químicos para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum**. Maringá, v.32, n.3, p.403-409, 2010.

PINTO, N.F.J., SANTOS, M.A.; WRUCK, D.S.M. Principais doenças da cultura do milho. **Informe agropecuário**, Belo Horizonte, v.27, n.233, p-82-94. jul./ ago. 2006.

R CORE TEAM: A Language and environment for statistical computing, v.3.4.3. Viena, 2017.

RAMOS JUNIOR, E.U; RAMOS, E.M. Desempenho do milho segunda safra e da soja em sucessão influenciado pela densidade de *Crotalaria spectabilis* em consórcio com o milho. **Resumos Expandidos**. XXXVI Reunião de Pesquisa de soja. Londrina. p.33-34. Jun, 2017.

RIBEIRO, N.R., DIAS W.P. Distribuição de fitonematoides em regiões produtoras de soja do estado de Mato Grosso. APROSMAT, 2009. Disponível em: <http://aprosmat.com.br/wp-content/uploads/2012/11/DISTRIBUICAO-DE-FITONEMATOIDES.pdf>. Acesso em 17 Jul 2017.

RIBEIRO, N.R., SILVA, J.F.; MEIRELLES, W.F.; CRAVEIRO, A.G.; PARENTONI, S.N; SANTOS, F. G. Avaliação da resistência de genótipos de milho, sorgo e milheto a *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.1, n.3, p.102-103, 2002.

RIOS, A.D.F.; ROCHA, M.R.; MACHADO A.S.; ÁVILA, K.A.G.B.; TEIXEIRA, R.A.; SANTOS, L.C.; RABELO, L.R.S. Host suitability of soybean and corn genotype to the root lesion caused by nematode under natural infestation conditions. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n.4, p.580-584, abr, 2016.

RIPLEY, B., VENABLES, B., BATES, M.D., HORNIK, K., GEBHARDT, A., FIRTH, D. MASS – Support Functions and Datasets for Venables and Ripley's MASS. v. 7.3-47. Software R.3.4.3, 2017.

RITZINGER, C.H.S.P.; FANCELLI, M.; RITZINGER, R. Nematóides: Bioindicadores de sustentabilidade e mudanças edafoclimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, SP, n. 4, p. 1289-1296, 2010.

SCHMITT, D.P. CORBIN, F.T, NELSON, L.A. Population dynamics of *Heterodera glycines* and soybean response in soils treated with selected nematicides and herbicides. *Journal of Nematology*. Riverside, 15:432-437, 1983.

SCHMITT, D.P., NELSON, L.A. Interaction of Nematicides with Other Pesticides. In: VEECH, A.; DICKSON, D.W. **Vistas on Nematology**. Hyattsville, MD, USA, Society of Nematologists, 1987.

SIKORA, R.A., BRIDGE J., STARR, J.L. Management Practices: an Overview of Integrated Nematode Management Technologies. In: LUC, M., SIKORA, R. **Plant**

**Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical.** 2 nd ed. CABI Publishing Wallingford, UK, 2005, 1-10p

SILVA, F.G., **Levantamento de fitonematoides nas culturas de soja e milho no município de Jataí-GO.** 2007. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/12254>. Acesso em: 17 Jul 2017

SINGH, S.; SINGH, B.; SINGH A.P. Nematodes: A Threat to Sustainability of Agriculture. **ScienceDirect**, 2015. Doi: 10.1016/j.proenv.2015.07.270

SLOMCZYNSKA, U.; SOUTH, M.S.; BUNKERS, G.J.; EDGEComb, D.; WYSEPESTER,D.; SELNESS, S.; DING, Y.; CHRISTIANSEN, J.; EDIGER, K.; MILLER,W.; CHARUMILIND, P.; HARTMANN, G.; WILLIAMS, J.; DIMMIC, M.; SHORTT, B.;HAAKENSOn, W.; WIDEMAN, A.; CRAWFORD, M.; HRESKO, M.; MCCARTER, J. Tioxazafen: a new broad-spectrum seed treatment nematicide. In: MAIENFISCH, P.; STEVENSON; T.M. (Ed.). **Discovery and synthesis of crop protection products.** Washington: American Chemical Society: 2015. chap. 10, p. 129-147. (ACS Symposium Series).

STARR, J.L., KOENNING, S.R., KIRKPATRICK, T.L, ROBINSON, A.F., ROBERTS, P.A., NICHOLS, R.L. The future of Nematode Management in Cotton. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 39, p. 283-294, December, 2007.

TARUMOTO, M.B.; VAZQUEZ, G.H.; ARF, O.; SÁ, M. E.; TABUAS, R.F.; PEREIRA, D.A.S. **Qualidade Fisiológica de sementes de milho tratadas com inseticida e armazenadas por um ano em duas condições de ambiente.** XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo. Águas de Lindoia, 2012. Trabalho disponível em: [http://www.abms.org.br/eventos\\_antteriores/cnms2012/13065.pdf](http://www.abms.org.br/eventos_antteriores/cnms2012/13065.pdf). Acesso em: 27/11/2018.

TONIN R. F. B.; LUCCA, O. A. F.; LABBE L. M. B.; ROSSETTO, M. Potencial fisiológico de sementes de milho híbrido tratadas com inseticida e armazenadas em duas condições de ambiente. **Scientia Agropecuaria** v.5, p.07-16, 2014.

UZUELE, E.L. **Eficácia do tratamento de sementes com o nematicida tioxazafen no controle dos nematoides *Heterodera glycines*, *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*.** 2016. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2016.

WAELE, D.D, ELSEN, A., Migratory Endoparasites: *Pratylenchus* and *Radopholus* Species. In: STAR, J.L., COOK, R. **Plant Resistance to Parasitic Nematodes.** CABI Publishing Wallingford, UK, 2002, p.175-206.

WENDLING, A. L.; NUNES, J. Efeito do Imidacloprido + Tiodicarbe sobre a conservação da qualidade fisiológica das sementes de milho quando armazenadas. **Revista Cultivando o Saber**, Cascavel, v.2, n.3, p.17-22, 2009.