



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ARTHUR CORTEZ GOUVEIA

CULTIVO DE AVEIA OU MILHETO COM *Aphelenchoides besseyi* E A SÍNDROME DA HASTE VERDE NA SOJA EM SUCESSÃO

Londrina
2024

ARTHUR CORTEZ GOUVEIA

CULTIVO DE AVEIA OU MILHETO COM *Aphelenchoides besseyi* E A SÍNDROME DA HASTE VERDE NA SOJA EM SUCESSÃO

Tese de Doutorado apresentado ao Programa de Pós Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Agronomia.

Orientador: Profa. Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado

Londrina

2024

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

G719c Gouveia, Arthur Cortez.
Cultivo de aveia ou milho com *Aphelenchoides besseyi* e a síndrome da haste verde na soja em sucessão / Arthur Cortez Gouveia. - Londrina, 2024.
77 f. : il.

Orientador: Andressa Cristina Zamboni Machado.
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2024.
Inclui bibliografia.

1. Avena sativa - Tese. 2. *Pennisetum glaucum* - Tese. 3. *Glycine max* - Tese. 4. Nematóide foliar - Tese. I. Machado, Andressa Cristina Zamboni . II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDU 63

ARTHUR CORTEZ GOUVEIA

CULTIVO DE AVEIA OU MILHETO COM *Aphelenchoides besseyi* E A SÍNDROME DA HASTE VERDE NA SOJA EM SUCESSÃO

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, como requisito final à obtenção do título de Doutora em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof. Dr^a. Profa. Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado
Agronema

Dr^a. Angélica Miamoto

Prof. Dr^a. Débora Cristina Santiago

Dr^a. Luciana Harumi Shigueoka

Dr Maurício Conrado Meyer

Londrina, 27 de julho de 2022.

A Deus, por conceder forças quando não havia.

À Maria, por colocar o seu manto sobre minha cabeça e me acolher.

A Jesus, por caminhar comigo sempre.

Ao meu anjo, por ter olhado e me ajudado todas as vezes que poderia dar errado.

Ofereço

À minha esposa, filha, mãe, pai e irmã.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por ter tornado tudo possível.

À minha esposa, filha, pai e mãe por serem meus exemplos de força e superação, carinho e compreensão.

À Universidade Estadual de Londrina pela oportunidade de realização do curso e conclusão de mais essa etapa da minha formação acadêmica. Ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelo acolhimento e suporte durante todo o trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de estudo.

Ao IDR-Paraná pelo suporte financeiro e pela disponibilidade das instalações e materiais fornecidos para a execução dos trabalhos.

À minha orientadora, Dra. Andressa Cristina Zamboni Machado, pela orientação, direcionamentos, disponibilidade e incentivo. A sua confiança a mim depositada me fez acreditar que seria capaz. Minha eterna gratidão, admiração e respeito.

Aos professores do Departamento de Agronomia pelos constantes ensinamentos, os quais colaboraram imensamente para minha formação.

Enfim, a todos que, mesmo não citados aqui, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

Mas os que esperam no Senhor renovarão as suas forças; subirão com asas como águias; correrão, e não se cansarão; andarão, e não se fatigarão.

Amém.

Salmos 28:7-8

GOUVEIA, Arthur Cortez. **Cultivo de aveia ou milho com *Aphelenchoides besseyi* e a síndrome da haste verde na soja em sucessão.** 2024. Tese de doutorado (Doutorado em Agronomia) apresentado ao Programa de Pós-graduação em Agronomia – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

RESUMO

O nematoide *Aphelenchoides besseyi*, causador da síndrome da haste verde e retenção foliar (SHV), vem sendo considerado um dos patógenos de maior relevância para a agricultura brasileira, pois, em locais de clima subtropical, a presença deste nematoide pode atingir níveis de perdas de até 60 % da produção. Com isso, uma das alternativas no controle desse nematoide é o uso de rotação de culturas com espécies não hospedeiras, resultando na diminuição da população. Porém, o parasitismo de *A. besseyi* em diferentes culturas que fazem parte do sistema produtivo da soja necessita melhor entendimento. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o impacto do cultivo de milho e aveia, ambos inoculados com *A. besseyi* na parte aérea, no solo ou nas sementes, deixando-se ou retirando-se a palhada remanescente dessas plantas, na sobrevivência e multiplicação do nematoide para o cultivo subsequente de soja e no aparecimento da SHV nas plantas de soja. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação com sistema de irrigação por aspersão, utilizando-se as cultivares IPR Afrodite de aveia branca, ADR300 de milho e Fibra IPRO de soja. As plantas de milho e aveia foram inoculadas com o nematoide na semente (previamente à semeadura), nas folhas e no solo. Parte das plantas foi avaliada 62 dias após a semeadura (DAS), ou 46 dias após a inoculação (DAI), através da extração dos nematoides presentes no solo, raiz e parte aérea. Os vasos remanescentes foram mantidos para o cultivo da soja, com e sem palhada de milho e aveia, sendo semeadas duas sementes de soja por vaso, sem re-inoculação do nematoide. As plantas de soja foram avaliadas 39 DAS para presença de nematoides no solo, raiz e parte aérea. Durante a condução do experimento foi documentado o desenvolvimento dos sintomas em todas as culturas. As avaliações efetuadas no milho e na aveia permitiram observar que houve multiplicação ou manutenção da população do nematoide para a cultura seguinte e o inóculo do nematoide que permaneceu em casa vaso causou o desenvolvimento da SHV em soja. Assim, demonstrou-se que a aveia e o milho são hospedeiros de *A. besseyi* e podem contribuir para o aumento e manutenção da população desse nematoide para a cultura subsequente.

Palavras-chave: *Avena sativa*, *Pennisetum glaucum*, *Glycine max*, nematoide foliar

GOUVEIA, Arthur Cortez. **Cultivation of oats or millet with *Aphelenchoides besseyi* and green stem syndrome in soybeans in succession.** 2024. Tese apresentado ao Programa de Pós-graduação em Agronomia (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2024.

ABSTRACT

The nematode *Aphelenchoides besseyi*, which causes the green stem syndrome and leaf retention syndrome (SHV), has been considered one of the most relevant pathogens for Brazilian agriculture, as in places with a subtropical climate, the presence of this nematode can reach levels of crop loss. up to 60% of production. Therefore, one of the alternatives for controlling these nematodes is the use of crop rotation with non-host species, resulting in a decrease in the population. However, the parasitism of *A. besseyi* in different crops that are part of the soybean production system requires better understanding. The present work aims to evaluate the impact of cultivating millet and oats, both inoculated with *A. besseyi* in the aerial part, in the soil or in the seeds, leaving or removing the remaining straw from these plants, on the survival and multiplication of the nematode for subsequent soybean cultivation and the appearance of green stem syndrome in soybean plants. The experiments were carried out in a greenhouse with a sprinkler irrigation system, using the cultivars IPR Afrodite for white oat, ADR300 for millet and Fibra IPRO for soybean. Millet and oat plants were inoculated with the nematode in the seed (prior to sowing), in the leaves and in the soil. Part of the plants were evaluated 62 days after sowing (DAS), or 46 days after inoculation (DAI), through the extraction of nematodes present in the soil, roots and shoots. The remaining pots were maintained for soybean cultivation, with and without millet and oat straw, with two soybean seeds being sown per pot, without reinoculation of the nematode. Soybean plants were evaluated 39 DAS for the presence of nematodes in the soil, roots and shoots. During the experiment, the development of symptoms in all cultures was documented. The evaluations carried out on millet and oats allowed us to observe that there was multiplication or maintenance of the nematode population for the next crop, and the nematode inoculum that remained in each pot caused the development of green stem syndrome in soybeans. Thus, it was demonstrated that oats and millet are hosts of *A. besseyi* and can contribute to the increase and maintenance of the population of this nematode for subsequent cultivation.

Key-words: *Avena sativa*, *Pennisetum glaucum*, *Glycine max*, foliar nematode

LISTA DE FIGURAS

- Figure 1.** Placas de Petri (A) contendo areia infestada por *Aphelenchoides besseyi* e com sementes de aveia (A) ou milho (B).....38
- Figure 2.** (A) Demonstração da disposição das gotas em cima da folha, (B) Disposição das gotas em cima das folhas do milho, (C e D) Disposição das gotas nas folhas de aveia.....41
- Figure 3.** Disposição da parte aérea de plantas de milho e aveia sobre os vasos, formando palhada (ou cobertura vegetal) para cultivo de soja em sucessão ..43
- Figure 4.** Exemplos de *Aphelenchoides besseyi* observados no interior das glumas de sementes de aveia e milho. Em A e B, presença de fêmeas adultas do nematoide nas glumas de sementes de aveia e, em C e D, presença de nematoides em posição enrolada nas glumas das sementes de milho (C) e aveia (D).....45
- Figure 5.** Amplificação da região D2/D3 rDNA de amostras de DNA de *Aphelenchoides besseyi*, utilizando-se o conjunto de primers espécie-específicos A_bess 11 (SERCERO, 2019), visualizado em gel de agarose a 1%. Da esquerda para a direita: marcador molecular 1 Kb; amostra de sementes de aveia; amostra de sementes de milho; controle positivo (*A. besseyi* de Meyer et al., 2017)46
- Figure 6.** Sintomas da síndrome da haste verde e retenção foliar observados em plantas de soja no experimento. A, B e C) afilamento, retorcimento e deformação de folhas; D, E e F) necrose de pecíolos e inflorescências e engrossamento de nó (F).....52

LISTA DE TABELAS

- Table 1.** Primers e condições de amplificação utilizados para confirmar a presença de *Aphelenchoides besseyi* em amostras de material vegetal (SERCERO, 2019).....40
- Table 2.** Programação do período de irrigação por aspersão durante a condução do experimento42
- Table 3.** . Massa fresca de raízes (MFR) e de parte aérea (MFPA) das plantas de aveia e milho, inoculadas com *Aphelenchoides besseyi* em diferentes locais de inoculação (parte aérea, semente ou solo). Avaliação aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas47
- Table 4.** Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes no solo em plantas de aveia e milho, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas48
- Table 5.** Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes nas raízes de plantas de aveia e milho, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas49
- Table 6.** Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes na parte aérea de plantas de aveia e milho, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas.....50
- Table 7.** Número total de *Aphelenchoides besseyi* presentes na parte aérea + raízes + solo de plantas de aveia e milho, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas51
- Table 8.** Massa fresca de raízes (MFR) e massa fresca de parte aérea (MFPA) de plantas de soja cultivadas na sequência das culturas da aveia e do milho inoculadas ou não com *Aphelenchoides besseyi*. Efeito significativo para cultivo anterior, para variável MFR, e efeito significativo para cultivo anterior

e local de inoculação no cultivo antecessor, para variável MFPA. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja	53
Table 9. Massa fresca de raízes (MFR) e massa fresca de parte aérea (MFPA) de plantas de soja cultivadas na sequência das culturas da aveia e do milho inoculadas ou não com <i>Aphelenchoides besseyi</i> . Efeito significativo do local de inoculação na cultura antecessora para variável MFPA. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.....	54
Table 10. Massa fresca de raízes (MFR) e massa fresca de parte aérea (MFPA) de plantas de soja cultivadas na sequência das culturas da aveia e do milho inoculadas com <i>Aphelenchoides besseyi</i> . Interação entre o cultivo antecessor e a presença de palhada. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.....	55
Table 11. Número de <i>Aphelenchoides besseyi</i> presentes nas raízes e na parte aérea de plantas de soja, em função do cultivo antecessor, local de inoculação no cultivo antecessor e presença ou ausência de palhada do cultivo antecessor. Efeito significativo e interação entre os fatores para ambas as variáveis. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.....	57
Table 12. Número de <i>Aphelenchoides besseyi</i> presentes nas raízes e na parte aérea de plantas de soja, em função do local de inoculação no cultivo antecessor, presença ou ausência de palhada do cultivo antecessor e cultura antecessora. Efeito significativo e interação entre os fatores para ambas as variáveis. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.....	59
Table 13. Número de <i>Aphelenchoides besseyi</i> presentes no solo e número total de nematoides em plantas de soja, em função do cultivo antecessor e local de inoculação no cultivo antecessor. Efeito significativo para os fatores para ambas as variáveis, sem interação. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja	60
Table 14. Número de <i>Aphelenchoides besseyi</i> presentes no solo e número total de nematoides em plantas de soja, em função do local de inoculação no cultivo antecessor e presença ou ausência de palhada. Efeito significativo para os fatores para ambas as variáveis, sem interação. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BOD	Biochemical Oxygen Demand
C/N	Carbono/nitrogênio
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
DAI	Dias após a inoculação
DAS	Dias após a semeadura
DNA	Ácido desoxirribonucleico
IDR	Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná
Kb	Kilobase
MFR	Massa fresca de raízes
MFPA	Massa fresca de parte aérea
PCR	Reação de polimerase em cadeia
PVC	Policloreto de vinil
SPD	Sistema de plantio direto
SHV	Síndrome da hasta verde e retenção foliar
RDNA	Radeon DNA

SUMÁRIO

1 TESE.....	15
2 INTRODUÇÃO.....	16
3 OBJETIVOS	18
3.1 Objetivo Geral	18
3.2 Objetivos Específicos	18
4. REVISÃO DE LITERATURA	19
4.1 GÊNERO <i>APHELENCHOIDES</i>	19
4.2 <i>Aphelenchoides besseyi</i>	20
4.3 Hospedeiros de <i>Aphelenchoides besseyi</i>	22
4.4 Interação entre <i>Aphelenchoides besseyi</i> e Sementes	25
4.5 <i>APHELENCHOIDES BESSEYI</i> EM PLANTAS DE COBERTURA	27
5. REFERÊNCIAS	30
6. ARTIGO.....	36
6.1 Cultivo de aveia ou milho com <i>Aphelenchoides besseyi</i> e a SHV na soja em sucessão.....	36
7. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
7.1 Obtenção do Inóculo.....	37
7.2 Avaliação da Infestação de Sementes de Milho e Aveia.....	37
7.3 Infecção de Sementes Sadias.....	37
7.4 Experimento de Casa de Vegetação	40
7.4.1 Preparo das plantas e inoculação	40
7.4.2 Avaliações	42
7.4.3 Semeadura da soja	44
7.5 Análises Estatísticas	44
8. RESULTADOS	45
9. DISCUSSÃO.....	62
10. CONCLUSÃO.....	68

11. REFERÊNCIAS	69
-----------------------	----

1. TESE

ARTHUR CORTEZ GOUVEIA

CULTIVO DE AVEIA OU MILHETO COM *Aphelenchoides besseyi* E A SÍNDROME DA HASTE VERDE NA SOJA EM SUCESSÃO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina.

Orientadora: Dr^a Andressa Cristina Zamboni Machado

2. INTRODUÇÃO

A doença conhecida por síndrome da hasta verde e retenção foliar (SHV) foi descrita como uma nova doença que ameaça a cultura da soja no Brasil, sendo causada pelo nematoide *Aphelenchoides besseyi*. Desde a safra 2005/2006, a SHV vem causando reduções de até 60% na produtividade da soja, principalmente em regiões quentes e chuvosas. Além da soja, as culturas do algodão, do feijoeiro comum e do caupi também têm apresentado redução de suas produtividades em função do ataque de *A. besseyi* no Brasil.

Sabe-se que *Aphelenchoides* spp. são encontrados frequentemente em sementes de forrageiras, como *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum*. Muitas dessas espécies são utilizadas no sistema de integração lavoura-pecuária, especialmente *Brachiaria* spp., sendo a soja a cultura principal do sistema. Caso as sementes forrageiras cultivadas na área estejam infestadas por nematoides desse gênero, é possível que o mesmo possa se estabelecer na soja cultivada após a forrageira, que pode desenvolver sintomas da SHV.

Além da *Brachiaria* spp. e de *P. maximum*, outras espécies vegetais têm sido utilizadas como cobertura de solo e renda extra na colheita dos grãos e na obtenção de subprodutos. Uma dessas espécies é o milheto (*Pennisetum glaucum*), que é considerada opção de destaque para os cerrados brasileiros na safrinha, após a colheita do algodão, milho e soja. Na região sul, o milheto é utilizado como cobertura protetora do solo no sistema de plantio direto e forrageira de excelente valor nutritivo a ser inserida nos sistemas de integração lavoura-pecuária. Outra opção para a região sul são as aveias, cultivadas na sobressemeadura no milho safrinha no vegetativo da cultura.

Ambas as culturas apresentam sementes com glumas, a exemplo de *Brachiaria* spp. e *P. maximum*, e poderiam abrigar *A. besseyi*, atuando como agentes disseminadoras do patógeno. Num dos poucos trabalhos encontrados na literatura a respeito da ocorrência de nematoides do gênero *Aphelenchoides* em sementes forrageiras, são assinaladas várias espécies em *Brachiaria* spp., porém os autores não encontraram o nematoide no único lote de sementes de milheto analisado. Além disso, o milheto tem sido apontado como cultura não hospedeira de *A. besseyi*. Por outro lado, a aveia foi considerada excelente multiplicadora de *A. besseyi* patogênico a soja e algodão.

Dessa forma, devido à importância como cobertura de solo que o milheto apresenta, especialmente nas regiões de ocorrência da SHV, é imprescindível o entendimento da real relação dessa planta com o nematoide *A. besseyi*. Além disso, como

a aveia é amplamente cultivada no sul do país, mesmo não sendo região favorável ao aparecimento dos sintomas da SHV, devido ao fato de levantamentos recentes apontarem a presença do nematoide nos estados do sul do Brasil, também se faz necessário um estudo mais detalhado para entendimento da relação planta-patógeno entre aveia e *A. besseyi*.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto do cultivo de milho e aveia, ambos inoculados com *A. besseyi* na parte aérea, no solo ou nas sementes, deixando-se ou retirando-se a palhada remanescente dessas plantas, na sobrevivência e multiplicação do nematoide para o cultivo subsequente de soja e no aparecimento da SHV nas plantas de soja.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o impacto do cultivo de milho e aveia, ambos inoculados com *A. besseyi* na parte aérea, no solo ou nas sementes, deixando-se ou retirando-se a palhada remanescente dessas plantas, na sobrevivência e multiplicação do nematoide para o cultivo subsequente de soja e no aparecimento da SHV nas plantas de soja.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar se as sementes de aveia e milho podem ser infectadas por *A. besseyi*;
- Avaliar o efeito da inoculação de *A. besseyi* em diferentes locais nas plantas de aveia e milho (solo, parte aérea e sementes) na sobrevivência e multiplicação do nematoide nessas plantas e para o cultivo subsequente de soja;
- Avaliar se a palhada de aveia e milho com a presença de *A. besseyi* influencia o aparecimento dos sintomas do ataque do nematoide na soja
- Avaliar o desenvolvimento das plantas e o aparecimento de sintomas da SHV em soja cultivada na sequência de aveia e milho, com e sem palhada, inoculadas com *A. besseyi*

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 GÊNERO *APHELENCHOIDES*

O gênero *Aphelenchoides* foi inicialmente descrito em 1894 por Max Fischer e contém cerca de 200 espécies descritas (MOBASSERI et al., 2018), embora nem todas válidas ou aceitas; até 2008, Hunt (2008) havia citado 153 espécies válidas, sendo que nove outras espécies foram descritas após essa data (OLIVEIRA, 2017).

Morfológicamente, esses nematoides são caracterizados como tendo entre 0,4 a 1,2 mm de comprimento, seis lábios fundidos e não anulados, ligeiramente deslocados do corpo e semelhantes. A cauda dos machos não possui bursa e possui um par de papilas adanais, bem como dois pares de papilas pós-anais ventro-submedianas e caudais, além de espículos emparelhados. As caudas de ambos os sexos são curtas, afiladas, cônicas e terminam em um ou mais mucros (JAGDALE; GREWAL, 2006).

Pertencente ao Domínio Eukaryota, Reino Metazoa, Filo Nematoda, Ordem Aphelenchida e Família Aphelenchoididae (DE LEY; BLAXTER, 2002), as espécies do gênero *Aphelenchoides* possuem habilidade de parasitar a parte aérea das plantas (tecidos dos seus órgãos aéreos), podendo causar consideráveis perdas em muitos dos casos em que são relatadas. Os nematoides parasitas da parte aérea das plantas são encontrados no solo, mas como este não é o habitat favorável para o seu completo desenvolvimento, também são encontrados em restos culturais, como bulbos de plantas daninhas, folhas, talos e sementes (ESCUER; BELLO, 2000). Além disso, em geral, as espécies do gênero *Aphelenchoides* podem ser encontradas no solo, se alimentando de fungos, exibindo o hábito alimentar micófago, ou em anidrobiose, que garante sua sobrevivência por longos períodos de tempo (CARES et al., 2008).

Os sintomas que identificam a presença desse patógeno são observados em épocas distintas: no final do estágio vegetativo e no início do estágio reprodutivo das plantas, tanto de importância econômica quanto plantas daninhas. Nessas épocas, observam-se diferenciações que ocorrem na morfologia, como engrossamento de nós, caneluras, lesões necróticas, encarquilhamento das folhas ou má formação das folhas, falta de pigmentação nas áreas afetadas e engrossamento de nervuras de folhas. Em relação à parte reprodutiva, é possível observar o abortamento floral, além da destruição das gemas florais. Um dos maiores prejuízos é que, devido à deformação ou falta de pigmento verde nas plantas, há uma redução no enchimento dos grãos, resultando em baixa produção. Algumas espécies

de *Aphelenchoides* podem causar um desbalanço nos estágios fenológicos, dificultando o processo de colheita, pois as plantas não estarão prontas para serem colhidas, o que aumenta o potencial de perdas (FAVORETO et al., 2018a).

Dentro deste gênero, temos três espécies de maior importância agrícola: *Aphelenchoides fragariae*, *A. besseyi* e *A. ritzemabosi*. Relatos de prejuízos ocasionados por esses nematoides de parte aérea já foram feitos nos Estados Unidos, Alemanha, Austrália, Inglaterra, Irlanda, Japão, Polônia e diversos outros países do continente asiático. No Brasil, existem relatos da presença desses nematoides, porém ainda não existem estudos precisos que possam determinar o valor econômico relacionado a esses patógenos. *Aphelenchoides fragariae* é um patógeno do morangueiro que apresenta um ciclo de vida de 10-11 dias a uma temperatura de 18-22°C, atingindo o pico de desenvolvimento populacional no verão. Já a espécie *A. ritzemabosi*, conhecida como “nematóide do crisântemo”, é considerada a mais danosa para o agronegócio. Essa espécie se reproduz por anfimixia (união de dois gametas na reprodução sexual) com um ciclo de 10-14 dias e variação de temperatura entre 13-21°C. No Brasil, *A. besseyi* denominado como o nematóide da ponta branca do arroz, é a espécie que causa maior dano nas lavouras.

4.2 APHELENCHOIDES BESSEYI

Aphelenchoides besseyi foi inicialmente descrito nos Estados Unidos da América (CHRISTIE, 1929), causando a doença do 'nanismo de verão' ou 'crimp' em plantações de morango. Os sintomas descritos incluem enrugamento e distorção das folhas, nanismo da planta e diminuição da floração.

As características morfológicas mais marcantes desse nematóide incluem um corpo cilíndrico e alongado, com estrias cuticulares separadas no meio do corpo. No entanto, na região labial, essas estrias não são encontradas. O bulbo esofágico mediano apresenta diferenças distintas em relação ao procorpo cilíndrico. A cauda é reta e afina progressivamente em direção à extremidade do corpo, com três a quatro pontos no mucro. Além disso, o nematóide possui um aparelho valvar refrativo posterior ao centro. Em relação ao seu ciclo de vida, os parâmetros ideais para o seu desenvolvimento são uma temperatura de 21-25°C e a duração do seu ciclo de vida em placas com fungo varia de 8 a 10 dias (FORTUNER, 1970; RANULFI et al., 2018).

Em relação à capacidade de reprodução, *A. besseyi* apresenta uma característica relevante, na qual a sua reprodução é predominantemente sexuada, com uma proporção de machos maior do que a de fêmeas (HUANG et al., 1979). No entanto, algumas populações relatadas por JI (2023) apresentaram modo de reprodução diferente do relatado anteriormente. Essas populações exibiam reprodução partenogenética, ou seja, não necessitavam da presença de machos para a reprodução.

Na China, foi denominado como “nematoide da ponta branca do arroz” devido ao clareamento das pontas das folhas mais jovens das plantas de arroz observado em campos onde esse nematoide está presente. Esse sintoma característico refere-se a uma falta de pigmentação verde de 3 a 5 cm na porção superior das folhas, podendo ocorrer necrose dessas áreas em casos mais severos. Além disso, podem ocorrer encarquilhamento e má formação da folha bandeira que está diretamente ligada à panícula, resultando na redução do tamanho da planta e, conseqüentemente, do tamanho dos grãos. Esses sintomas eram confundidos e, por falta de profissionais qualificados, ainda podem ser confundidos com deficiência de cálcio e magnésio (HOCKLAND, 2004).

No século passado, o nematoide da ponta branca causou severas perdas econômicas em arroz no Japão e nos Estados Unidos. Em vários países da Ásia e da África, *A. besseyi* ainda tem sido responsável pela redução da produtividade em 10-71% das lavouras de arroz (BRIDGE et al., 2005; CHENG et al., 2013). No Brasil, embora esse nematoide esteja amplamente disseminado e relatado em associação a diferentes hospedeiros, informações sobre os danos causados são escassas (SILVEIRA; CURI, 1990; OLIVEIRA; KUBO, 2007; CARES et al., 2008; FAVORETO et al., 2011). Nas lavouras brasileiras de arroz, desde meados da década de 90, *A. besseyi* não tem sido associado a danos significativos. Provavelmente, esse nematoide encontra-se sob controle nas lavouras brasileiras de arroz devido à adoção de medidas fitossanitárias, como a utilização de cultivares tolerantes e o tratamento de sementes (CARES et al., 2008).

Aphelenchoides besseyi é considerado um dos mais relevantes nematoides no processo de produção agrícola, uma vez que sua presença em campos produtivos pode causar perdas que chegam a níveis alarmantes em relação à produtividade geral da área afetada (JONES et al., 2013). Dentre as culturas relatadas como hospedeiras de *A. besseyi*, além do arroz e do morango, algumas plantas ornamentais e forrageiras também favorecem sua reprodução (CHAVES et al., 2011). Seus hospedeiros incluem uma diversidade de 35 gêneros com mais de 200 espécies de plantas (DUNCAN; MOENS 2013; CHENG et al., 2013).

Entretanto, no Brasil, a soja e o algodão foram recentemente associados ao parasitismo desse nematoide (MEYER et al., 2017; FAVORETTO, et al., 2018a), o que aumentou o potencial de *A. besseyi* em causar prejuízos à agricultura brasileira. Nesse sentido, entre 2005 e 2006, houve um aumento significativo na ocorrência de sintomas relacionados a esse problema, principalmente em estados com elevado potencial de produção de soja, como Maranhão, Tocantins, Pará e Mato Grosso. Após vários anos de pesquisas, *A. besseyi* foi confirmado como o agente causal dessa doença, que ficou conhecida inicialmente por Soja Louca II e, mais recentemente, por síndrome da haste verde e retenção foliar (SHV) (MEYER et al., 2017).

Além do potencial de causar danos a importantes cultivos agrícolas, esse nematoide apresenta características que o distingue de outras espécies parasitas de plantas, como a elevada capacidade de sobrevivência na ausência do hospedeiro, especialmente por conta do hábito de alimentação micófago facultativo ou mesmo em condição de anidrobiose, que é a redução das funções vitais ao um ponto de quase morte, além da redução do nível de umidade interna do patógeno e que aumenta sua sobrevivência por longos períodos. Estudos relatados para a cultura do arroz também indicam sua sobrevivência em sementes de arroz ou gramíneas forrageiras, como a braquiária, armazenadas por longo período, em anidrobiose (PERRY; MOENS, 2013; TIWARI; KHARE, 2003; FAVORETO et al., 2011).

4.3 HOSPEDEIROS DE *APHELENCHOIDES BESSEYI*

Além do arroz e do morangueiro, as culturas consideradas hospedeiras de valor econômico de *A. besseyi* no Brasil são o feijão comum, o feijão caupi, o tabaco, a soja e o algodão. No caso do feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), houve relatos da presença desse nematoide inicialmente na Costa Rica (CHAVES et al., 2013), cujos sintomas relatados são o 'amachamiento' e um sintoma de necrose entre as nervuras das folhas, chamado de 'falsa mancha angular'. No Brasil, sintomas semelhantes foram descritos por Favoreto et al. (2021), em plantas de feijão comum inoculadas com o nematoide em condições de casa de vegetação. O feijão caupi (*Vigna unguiculata*) também foi descrito como hospedeiro de *A. besseyi* no Brasil, tanto em condições de casa de vegetação quanto em campos de produção localizados na região do nordeste brasileiro, com sintomas semelhantes aos descritos para a cultura do feijão comum e da soja (FAVORETO et al., 2022; NORONHA et al., 2023). O tabaco também entrou para o rol de hospedeiros de *A.*

besseyi no Brasil, apresentando sintomas de manchas foliares e deformação do limbo foliar (CALANDRELI et al., 2020).

No caso do algodão, foi relatado que, em lavouras no estado do Mato Grosso, mais especificamente no município de Sapezal, foram encontrados sintomas semelhantes aos observados na soja, causados por *A. besseyi* (FAVORETO et al., 2018a). Apesar dessa semelhança entre os sintomas observados em soja e algodão, nesta última cultura as perdas de produção podem atingir níveis até superiores que as registradas para a soja, uma vez que o abortamento de flores no algodoeiro pode chegar a 80% (SILVA et al., 2022).

Na cultura da soja, a perda de produtividade causada por *A. besseyi* pode variar de 40 a 60% e, em situações mais extremas, pode chegar a 100%. Isso ocorre devido aos sintomas de abortamento de flores e vagens, associados a outros sintomas que incluem deformação e retorcimento de folhas, que ficam com aspecto coriáceo, menor pilosidade e com coloração de verde mais intenso que as folhas sadias. Além disso, no caule são observadas caneluras e lesões e, na região dos nós, observa-se pronunciado engrossamento, associado a superbrotamento (MEYER et al., 2017; FAVORETO et al., 2023). Essa perda pode ser agravada pois o nematoide impede que a cultura entre em senescência, mesmo após a aplicação de diferentes desseccantes, o que acarreta dificuldade de realizar-se a colheita, pelo embuchamento do rolo da colhedeira, além do aumento na quantidade de impurezas nos grãos (FAVORETO et al., 2019).

Em todas essas espécies vegetais relatadas mais recentemente como hospedeiras de *A. besseyi* no Brasil, o nematoide tem apresentado hábito de parasitismo endoparasita migrador, ao contrário do relatado para seus hospedeiros históricos, como o arroz. Na revisão de Bridge (2005), é citado que *A. besseyi* apresenta um parasitismo do tipo ectoparasita, o que significa dizer que este se locomove por finas camadas de água formadas sobre a planta, tanto pela irrigação quanto pelo orvalho, assim conseguindo atingir a parte superior da planta, onde se alimenta no mesófilo foliar, como pode ser observado nas culturas do arroz e morango.

Entretanto, estudos recentes desenvolvidos por Favoreto; Meyer (2019) e Calandrel et al. (2022) identificaram uma forma diferente de infecção e parasitismo desse parasita, na qual o nematoide consegue penetrar nos tecidos radiculares e atingir o xilema das plantas, se locomovendo internamente nos tecidos das plantas até atingir as partes superiores, onde desencadeia o aparecimento dos sintomas da síndrome. Portanto, *A. besseyi* tem apresentado uma diferenciação em seu hábito de parasitismo e uma elevada

plasticidade fenotípica, uma vez que um considerável número de plantas consideradas até então não hospedeiras tem sido relatado como novas hospedeiras desse nematoide no Brasil (MACHADO; SILVA; FAVORETO, 2023).

Além das culturas de grande importância econômica, *A. besseyi* também é relatado em diversas espécies de plantas forrageiras ou coberturas vegetais. Estudos apontam sua ocorrência em *Panicum maximum*, *Setaria italica*, *Cyperus* sp. e *Digitaria sanguinalis*, em diferentes regiões do mundo (FORTUNER; WILLIAMS, 1975). Entretanto, Sharma et al. (2001) relatam que as informações desse nematoide em plantas forrageiras são escassas ou quase inexistentes. No Brasil, *Aphelenchoides* spp. foram detectadas tanto em sementes de *Brachiaria* spp. (*Urochloa* spp.), quanto em *Megathyrsus maximus* (*Panicum maximum*) (MARCHI et al., 2007; FAVORETO et al., 2011).

Apesar de não serem relatadas perdas devido ao ataque de *Aphelenchoides* spp. em plantas forrageiras, a presença desse nematoide limita a produção de sementes em áreas de produção de sementes nos estados propícios ao desenvolvimento da SHV causada por *A. besseyi*. Dessa forma, a comercialização e cultivo de sementes forrageiras não certificadas e infectadas pode promover a crescente disseminação do patógeno e do problema. Além de comprometer a qualidade das sementes, a associação desse nematoide, e de outros, em sementes de gramíneas forrageiras pode apresentar implicações de natureza quarentenária, dificultando o comércio internacional (FAVORETO et al., 2011), uma vez que existem restrições fitossanitárias impostas pelos países importadores, especialmente no México, no Paraguai, na Guatemala, em Honduras e na Nicarágua, em relação a *A. besseyi* (COMEXSTAT, 2018), que visam prevenir a introdução de patógenos exóticos em seus territórios (SANTOS; FAVORETO 2004).

Duas espécies de sementes produzidas no Brasil se destacam: *Panicum* spp. e *Brachiaria* spp., que têm uma grande demanda no mercado interno. Somente *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e *Panicum maximum* cv. Mombaça correspondem a cerca de 70% da produção de sementes no país, considerando-se as cinco principais forrageiras tropicais cultivadas no Brasil na safra 2018/2019 (ROSSO, 2021). O excedente de produção é exportado principalmente para países da América Central e América do Sul (DEMINICIS et al., 2010).

Essas informações são corroboradas por dados numéricos que indicam um faturamento de 700 milhões de reais anualmente no mercado interno de gramíneas forrageiras, enquanto o mercado externo tem um potencial de 20 milhões de dólares. Isso confirma a posição do Brasil como o maior produtor, exportador e consumidor desse

grupo de plantas. No entanto, apesar do grande potencial desse setor, os investimentos em pesquisa para desenvolver novas tecnologias e garantir o controle sanitário permanecem inalterados, o que dificulta o desenvolvimento desse setor agrícola (NUNES et al., 2022).

4.4 INTERAÇÃO ENTRE *APHELENCHOIDES BESSEYI* E SEMENTES

Apesar dos avanços no mercado mundial de sementes forrageiras, o setor enfrenta um grande problema: a grande quantidade de sementes sendo vendidas com qualidade duvidosa, apresentando problemas fisiológicos, como baixo vigor de sementes, lotes com segregação genética e problemas sanitários, como contaminação por sementes de plantas daninhas, doenças e patógenos. Isso se torna evidente quando comparamos as exigências para a comercialização de sementes de culturas de alto valor econômico, como milho e soja, com os requisitos para sementes de gramíneas forrageiras (GOMES et al., 2022).

Um dos problemas fitossanitários associados à presença de patógenos em lotes de sementes são os fungos, que podem causar deformidades em plântulas, podridão, necrose e descoloração nas sementes. Esses sintomas já foram comprovados como causadores de redução na produtividade e no vigor das sementes (NEERGAARD, 1979). Relatos anteriores demonstram que a presença de patógenos pode reduzir o vigor das sementes em até 20% (MACHADO; MORAES, 2016). No entanto, atualmente, o maior desafio está relacionado aos fitonematoides, um grupo de grande importância para as sementes de forrageiras.

Entre os nematoides associados a sementes de forrageiras, destacam-se os gêneros *Ditylenchus* spp. e *Aphelenchoides* spp., e, mais especificamente, a espécie *A. besseyi*, que é relatada em diversas áreas de produção de sementes de forrageiras (BUENO et al., 2002). A presença de *A. besseyi* cria obstáculos comerciais significativos, uma vez que a presença desse patógeno em lotes de sementes de gramíneas forrageiras torna a venda desses lotes inviável. Mesmo que haja uma população mínima desse nematoide, a venda é proibida para países onde ele não existe, o que restringe a comercialização das sementes produzidas no Brasil (MONTEIRO et al., 2014).

Entretanto, há poucas pesquisas que relatam os danos que este nematoide pode causar nas plantas forrageiras. Favoreto (2004) relata mal desenvolvimento e má formação das plantas, resultando em menor produção de matéria seca, reduzindo a quantidade e a qualidade da forragem. Além disso, está diretamente relacionado à

qualidade das sementes produzidas. Em pastagens para gado, a presença desse nematoide pode dificultar a formação de pastagens de alta qualidade e a regeneração de pastagens.

Diversas metodologias têm sido estudadas para reduzir a população de *A. besseyi* em áreas produtoras de sementes, com o objetivo de melhorar a qualidade sanitária dos lotes produzidos. Nesse sentido, vários relatos indicam que tratamentos químicos apresentam boa eficácia e, no caso dos tratamentos térmicos, tem-se um controle eficaz sem diminuir o vigor das sementes forrageiras. É importante ressaltar, todavia, que esses métodos podem apresentar variações nos resultados dependendo de diversos fatores (SOUSA et al., 2003).

No entanto, um dos principais desafios é a rápida multiplicação desse nematoide, juntamente com sua disseminação facilitada, que pode ocorrer pelo vento ou pelo contato entre uma planta contaminada e uma planta saudável. Isso pode ocorrer através de finas camadas de água, seja por meio de irrigação ou orvalho matinal. Além disso, a permanência desse nematoide em restos culturais já foi observada (FERRAZ; BROWN, 2022).

As sementes forrageiras infestadas por *A. besseyi* representam importante veículo de disseminação desse nematoide (FAVORETO et al., 2023). O cultivo de sementes contaminadas pode introduzir o nematoide em áreas indenes e, caso seja uma região com clima propício ao aparecimento da SHV, ou seja, que apresente altas temperaturas e umidade, a soja ou o algodão cultivados nessas áreas poderão sofrer perdas de produção em função do ataque de *A. besseyi*. Isso porque já foi confirmada a infecção da soja por *A. besseyi* proveniente de sementes de arroz e gramíneas forrageiras (HALFEN, 2020).

Um fato complicador a essa disseminação de nematoides por sementes é a elevada capacidade de sobrevivência de *Aphelenchoides* spp. em anidrobiose, uma condição que permite que o nematoide permaneça viável em sementes armazenadas por meses e até anos, resistindo ao extremo dessecação. Em lavouras de arroz infectadas por *A. besseyi*, por exemplo, quando da formação das sementes, os nematoides ficam instalados sob a casca das sementes e, após sua colheita, com a redução progressiva na umidade dos grãos em armazenamento, os nematoides entram em anidrobiose e permanecem nesse estado até que as sementes sejam utilizadas para plantio, quando novo ciclo de parasitismo de *A. besseyi* se iniciará (FERRAZ; BROWN, 2016).

Dessa forma, outras espécies de plantas que apresentam sementes com gluma, a exemplo de aveia, milho, braquiárias e *Panicum* spp., se cultivadas em áreas com a presença de *A. besseyi*, podem ser veículos de disseminação desse nematoide, pois suas

sementes podem se contaminar ainda no campo e servir de abrigo ao nematoide, como relatado para o arroz.

Por essas razões, estabelecer padrões fitossanitários é a melhor maneira de evitar a disseminação de certos patógenos. Assim, a certificação sanitária está se tornando um tema de grande importância no setor de produção de sementes para o comércio agrícola. Isso é compreensível quando consideramos todos os efeitos negativos que podem ocorrer, tanto do ponto de vista financeiro quanto ecológico, quando patógenos estão associados às sementes (GOULART, 2004).

Atualmente, há uma carência de legislações relacionadas à presença de patógenos em sementes, e, conseqüentemente, a venda de sementes sem um laudo de sanidade não é obrigatória, uma vez que não existem definições rigorosas quanto aos níveis máximos de presença de patógenos ou à exigência de completa ausência de patógenos nas sementes (ROSSETTI et al., 2022).

4.5 *APHELENCHOIDES BESSEYI* EM PLANTAS DE COBERTURA

A adoção de boas práticas de manejo de solo no sistema de plantio direto (SPD) e a implementação da rotação de culturas têm sido fundamentais para a melhoria das produtividades em várias regiões agrícolas brasileiras. No sul do Brasil, as gramíneas desempenham um papel importante e, entre as mais destacadas, estão o milheto (*Pennisetum glaucum* L.), a aveia (*Avena sativa* L.) e *Brachiaria* spp. (SILVA et al., 2022).

Apesar de o gênero *Brachiaria* se destacar entre as forrageiras devido à sua capacidade de prosperar em ambientes com baixa fertilidade, apresentar alta produtividade e cultivo facilitado, resultando em uma alta produção de matéria seca por hectare, formando cobertura uniforme do solo e sendo adequada para alimentação animal (TIMOSSI et al., 2007), o gênero enfrenta alguns desafios, como a baixa taxa de germinação, o que abre espaço para o surgimento de plantas invasoras e aumenta o risco de doenças ou outros patógenos indesejados (MARTINS; SILVA, 2001).

Dessa forma, em algumas regiões do país, o milheto tem se tornado uma escolha crescente como planta forrageira devido ao seu processo de cultivo robusto com baixa demanda nutricional. Apesar de ser uma gramínea, ele apresenta alta tolerância à falta de água devido às suas raízes profundas. No contexto do SPD, é uma excelente opção, pois produz uma quantidade significativa de matéria orgânica por área. Além disso, seu

desenvolvimento radicular favorável resulta em alta absorção de nutrientes, a maioria dos quais fica disponível na matéria seca para a próxima cultura, favorecendo a ciclagem de nutrientes no solo. Além dos benefícios para o solo, o milho também pode gerar receita adicional para os produtores, pois sua matéria seca é altamente valorizada na produção de silagem animal e ele apresenta uma alta produção de sementes que podem ser usadas para enriquecer a nutrição animal (MARCANTE et al., 2011).

Além dessas características já citadas, o milho é uma planta comumente recomendada para a sucessão com a soja visando o manejo de nematoides. Entretanto, para essa finalidade, a escolha da cultivar é determinante para o sucesso, pois quase todas as cultivares são suscetíveis aos nematoides das galhas e, para *P. brachyurus*, a reação das cultivares é bastante variável (DIAS-ARIEIRA et al., 2023).

A aveia, um cereal cultivado principalmente no inverno devido à sua menor sensibilidade às variações bruscas de temperatura, é recomendada para o outono/inverno na região sul do país. Além de servir como alimento para animais, também tem aplicações na alimentação humana (HAWERRPTH et al., 2015). No contexto do SPD, oferece uma excelente cobertura do solo, alta produção de sementes e produção considerável de biomassa, mesmo em regiões ou épocas com baixas temperaturas (TERRA-LOPES et al., 2009).

Semelhante ao observado para o milho, as cultivares de aveia também têm mostrado reação variável aos nematoides das galhas (MACHADO et al., 2015), apesar de serem frequentemente recomendadas para o manejo de nematoides. De maneira geral, as aveias brancas tendem a reduzir as populações de nematoides de galhas, quando comparadas às pretas, que são mais conhecidas por reduzirem populações de *Pratylenchus brachyurus*, mas vale ressaltar que essa não é uma regra válida para todas as cultivares (DIAS-ARIEIRA et al., 2023).

Além dos nematoides parasitas do sistema radicular em aveia e milho, é necessário um cuidado adicional com as sementes dessas espécies que serão utilizadas para o plantio, evitando-se a disseminação de *Aphelenchoides* spp. Além disso, são escassas as informações quanto ao parasitismo de *A. besseyi* em aveia e milho, bem como sobre a capacidade desse nematoide sobreviver e ser disseminado nas sementes dessas espécies vegetais. Em aveia, Curi et al. (1991) demonstraram que esse nematoide estabelece uma relação parasitária com a cultura que resulta em danos significativos ao desenvolvimento da planta. No entanto, os autores não discorreram sobre a capacidade de *A. besseyi* infectar as sementes de aveia. Em relação ao milho, há poucas informações

disponíveis se essa gramínea forrageira pode ser considerada um veículo de transmissão de *A. besseyi*. Segundo Favoreto; Meyer (2018), o milho é uma planta hospedeira, mas não há detalhes sobre seu potencial de multiplicação desse nematoide ou se é possível a sua disseminação pelas sementes de milho.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto do cultivo de milho e aveia, ambos inoculados com *A. besseyi* na parte aérea, no solo ou nas sementes, deixando-se ou retirando-se a palhada remanescente dessas plantas, na sobrevivência e multiplicação do nematoide para o cultivo subsequente de soja e no aparecimento da SHV nas plantas de soja.

5 REFERÊNCIAS

- BERNARDINO, F.S.; GARCIA, R. Sistemas silvipastoris. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n.60, p.77-87, 2009.
- BONETTI, J. I. S; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, DF, v.6, n.3, p.553, 1981.
- BRIDGE, John; PLOWRIGHT, Richard A.; PENG DELIANG, Peng DeLiang. Nematode parasites of rice. In: **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford UK: Cabi Publishing, 2005. p. 87-130.
- BUENO, E.R.V.; PRATES, M.; TENENTE, R.C.V. Avaliação de métodos tradicionais de extração de nematóides aplicados à sementes de *Panicum maximum* infestadas por *Aphelenchoides besseyi*. **Nematologia Brasileira**, v.26, p.213-217, 2002.
- BYRD, D.W., T. KIRPATRICK & K.R. BARKER. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, 15 (1): 142-143, 1983
- CALANDRELLI, A. et al. Host-parasite relationship between *Aphelenchoides besseyi* and soybean. **Nematology**, v. 25, n. 1, p. 33-44, 2022.
- CHENG, Xi et al. Molecular characterization and functions of fatty acid and retinoid binding protein gene (Ab-far-1) in *Aphelenchoides besseyi*. **PLoS One**, v. 8, n. 6, p. e66011, 2013.
- CHRISTIE, J. R. et al. A description of *Aphelenchoides besseyi* n. sp., the summer-dwarf nematode of strawberries, with comments on the identity of *Aphelenchoides subtenuis* (Cobb, 1926) and *Aphelenchoides hodsoni* Goodey, 1935. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 9, p. 82-4, 1942.
- CURI, S. M.; DA SILVEIRA, S. G. P.; RODRIGUES, SM NETTO. Nematóides associados à aveia preta (*Avena strigosa*), no estado do paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 58, n. 1-2, p. 63-64, 1991.
- DE ALMEIDA, M. C. R. et al. Produção de milho e leguminosas em sistemas consorciados para regiões semiáridas. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 3, p. e5712340407-e5712340407, 2023.
- DE JESUS, D. S. et al. Morphological and molecular characterisation of *Aphelenchoides besseyi* and *A. fujianensis* (Nematoda: Aphelenchoididae) from rice and forage grass seeds in Brazil. **Nematology**, v. 18, n. 3, p. 337-356, 2016.

DE SÁ AMOEDO, P.; GUIMARÃES, C. P.; VIEIRA, H. D. Efeito de *Aphelenchoides besseyi* na germinação de sementes e desenvolvimento de *Brachiaria brizantha*. **Confict**, 2014.

DEMINICIS, B. B. et al. Adubação nitrogenada, potássica e fosfatada na produção e germinação de sementes de capim quicuío-da-amazônia. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 59-65, 2010.

DUNCAN, L. W.; MOENS, M. Migratory endoparasitic nematodes. In: **Plant nematology**. Wallingford UK: CABI, 2013. p. 144-178.

ESCUER, M.; PÉREZ, A. B. Nematodos del género *Aphelenchoides* de interés fitopatológico y su distribución en España. **Boletín de sanidad vegetal. Plagas**, v. 26, n. 1, p. 47-64, 2000.

FAVORETO, F. et al. First report of *Aphelenchoides besseyi* infecting the aerial part of cotton plants in Brazil. **Plant Disease** 102, 2662, 2018.

FAVORETO, L. Estudo de nematóides em sementes de gramíneas forrageiras. 2004. 43p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FAVORETO, L. et al. Diagnose e manejo de fitonematoides na cultura da soja. **Informe Agropecuário**, v. 40, n. 306, p. 18-29, 2019.

FAVORETO, L. et al. Estudo fitossanitário, multiplicação e taxonomia de nematoides encontrados em sementes de gramíneas forrageiras no Brasil. **Nematologia Brasileira**, p. 20-35, 2011.

FAVORETO, L. et al. First report of *Aphelenchoides besseyi* infecting the aerial part of cotton plants in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, p. 2662, 2018.

FAVORETO, L. **Estudo de nematóides em sementes de gramíneas forrageiras** 2004. 43p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FAVORETO, L.; MEYER, M. C. Desvendando a Soja Louca II. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA**. 2019. p. 143-144.

FAVORETO, L.; MEYER, M. C. Diagnose, hospedeiros e manejo de *Aphelenchoides besseyi*. In: **Brazilian Congress of Nematology. Nematology: emerging problems and management strategies**. Annals. Pelotas: Brazilian Society of Nematology. 2018b.

FAVORETO, L.; MEYER, M. C. O nematoide da haste verde. **Circular Técnica Embrapa Soja**, 147, 2019.

FAVORETO, L.; MEYER, M.C.; CALANDRELLI, A.; SILVA, M.C.M. DA. Patogenicidade do nematoide da haste verde da soja em feijoeiro comum. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA**, 50., 2017, Uberlândia. Anais eletrônicos. Brasília: SBF, 2017.

FAVORETO, L.; SANTOS, J.M. dos; CALZAVARA, S.A.; BARBOSA, J.C. Avaliação comparativa de métodos para extração de nematóides de sementes de gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, v.30, p.71-74, 2006.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. Nematologia de plantas: fundamentos e importância. **Manaus, AM: Norma Editor**, v. 1, p. 167-171, 2016.

FORTUNER, R. On the Morphology of *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942 and *A. siddiqii* n.sp. (Nematoda, Aphelenchoidea). **Journal of Helminthology**, v. 44, n. 2, p. 141–152, 1970.

FORTUNER, R.; K.J.O. WILLIAMS, 1975. Review of the literature on *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942, the nematode causing white tip disease of rice. **Helminthological Abstracts**, Farmham Royal - UK, 44 (1): 1-40.

GARCIA, J.W.; TENENTE, R.C.V.; MENDES, M.A.S. Termoterapia Aplicada às Sementes de *Panicum maximum* na Erradicação de *Aphelenchoides besseyi* e Fungos Fitopatogênicos. **Nematologia Brasileira**, v. 24, p. 41-47, 2000.

GOKTE, NANDINI; MATHUR, V. K. Treatment schedule for denematization of seeds of *Setaria italica* and *Panicum miliaceum* infested with *Aphelenchoides besseyi*. **Nematologica (Leiden)**, v. 39, n. 2, p. 274-276, 1993.

GOMES, D. P. et al. Qualidades Física, Fisiológica e Sanitária de Sementes de Capim Tanzânia e Capim Quicuío. **Cadernos de Agroecologia**, v. 17, n. 2, 2022.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004.

HAWERROTH M. C. et al. Redução do acamamento em aveia-branca com uso do regulador de crescimento etil-trinexapac. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.50, n.2, p.115-125, fev. 2015.

HOCKLAND, S. *Aphelenchoides besseyi*. **EPPO Bulletin**, v. 34, n. 2, p. 303-308, 2004.

HUANG, C. S.; HUANG, S. P.; CHIANG, Y. C. Mode of reproduction and sex ratio of rice white-tip nematode, *Aphelenchoides besseyi*. **Nematologica**, v. 25, n. 2, p. 255-260, 1979.

JAGDALE, G.B.; GREWAL, P.S. Infection behavior and overwintering survival of foliar nematodes, *Aphelenchoides fragariae*, on hosta. **Journal of Nematology**, v. 38, n. 1, p. 130, 2006.

JESUS, D. S.; CARES, J. E. Gênero *Aphelenchoides*. **Diagnose de Fitonematoides**, p. 99-118, 2016.

Jl, H. et al. Sequenciamento completo do genoma do nematóide *Aphelenchoides besseyi*, uma praga economicamente importante que causa a doença da ponta branca do arroz. **Phytopathology Research**, v. 5, n. 1, pág. 1-13, 2023.

- JONES, J.T. et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.
- LIMA, M. L. M. FERNANDES, J. J RESENDE, CARVALHO, E. R. SANTOS, S. C. ROCHA, F. M. Substituição do milho triturado por casca de soja em dietas para vacas mestiças em lactação. **Ciência Animal Brasileira**, Vol. 10 nº 4 – 2009
- LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das Plantas Cultivadas**, Livraria Nobel SP, p. 202-206, 1981.
- LUCCA-FILHO, O.A.; PORTO, M.D.M.; MAIA, M.S. Fungos em sementes de azevém anual (*Lolium multiflorum* Lam) e seus efeitos no estabelecimento da pastagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.142-147, 1999.
- MACHADO, A.C.Z.; SILVA, S.A.; FERRAZ, L. C. C. B. Métodos em nematologia agrícola. **Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia**, p. 184, 2019.
- MARCANTE, N.C. et al. Teores de nutrientes no milheto como cobertura de solo. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 2, p. 196-204, 2011.
- MARCHI, C.E. et al. Nematofauna fitopatogênica de sementes comerciais de forrageiras tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 655-660, 2007.
- MARTINS, L.; SILVA, W. R. D. Comportamento da dormência em sementes de braquiária submetidas a tratamentos térmicos e químicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 7, p. 997-1003, 2001.
- MENTEN, J.O. M.; DE MORAES, M.H.D. Sanidade das sementes previne doenças. **Visão Agrícola**, v. 3, n. 6, p. 41-43, 2006.
- MEYER, MC, FAVORETO, L., KLEPKER, D., E MARCELINO-GUIMARÃES, FC Síndrome da haste verde e retenção foliar da soja causada por *Aphelenchoides besseyi*. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, p. 403-409, 2017.
- MOBASSERI, M.; POURJAM, E.; PEDRAM, M. Morphological and molecular characterisation of *Aphelenchoides primadentus* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) from northern Iran. **Nematology**, v. 20, n. 2, p. 97-109, 2018.
- MONTEIRO, T. S. A. et al. Inoculum reduction of *Aphelenchoides besseyi* in *Brachiaria brizantha* seeds treated with essential oils. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1149-1155, 2014.
- NEERGAARD, P. Seed pathology. London: The Macmillan, 1979. v.1, 839p.
- NUNES, G. S. et al. Superação de dormência em sementes de gramíneas do gênero *Brachiaria*. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 25575-25586, 2022.
- OLIVEIRA, C. M. G.
https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4152777/mod_resource/content/1/Aula12_Aphelenchoides_Quarentena.pdf

- PERRY, R.N.; MOENS, M. (Ed.). **Plant Nematology**. Cabi, 2013.
- PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos. **Pelotas: UFPel**, 2012.
- PITOL, C. A cultura da aveia no Mato Grosso do Sul. Cotrijuí-CTC, 34 p. **Boletim técnico**, v. 2, 1988.
- POPINIGIS, F. Fisiologia da semente. AGIPLAN. Brasília, 289p. 1985.
- RANULFI, A. C. et al. Nutritional characterization of healthy and *Aphelenchoides besseyi* infected soybean leaves by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). **Microchemical Journal**, v. 141, p. 118-126, 2018.
- REIS, E. M.; CASA, R. T.; BIANCHIN, V. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 85-91, 2011.
- ROSSETTI, C. et al. Padrões sanitários em sementes. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e4711726719-e4711726719, 2022.
- SHARMA, R. D.; CAVALCANTI, M.; VALENTIN, J. F. Nematóides associados ao capim-marandu no Estado do Acre. **Comunicado Técnico**, 46, n. 46, p. 1-4, 2001.
- SILVA, M. A. et al. Sistema de plantio direto e rotação de culturas no Cerrado. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, e376111335568, 2022.
- SOUSA, A. I.; GOMES, V. F.; TENENTE, R. C. V. Tratamento físico aplicado as sementes de melão (*Cucumis melo* L.), importadas da Holanda, na erradicação de *Ditylenchus dipsaci* (Khun, 1857) Filipjev, 1936. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 223-225, 2003.
- SOUZA, F.H.D. Produção e comercialização de sementes de plantas forrageiras tropicais no Brasil. In: **SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS**, 2, 2001, Lavras - MG. Anais... Lavras: Núcleo de Estudos em Forragicultura, UFLA, 2001. v. único. 282p.
- SUBBOTIN, S. A. et al. The taxonomic status of *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942 (Nematoda: Aphelenchoididae) populations from the southeastern USA, and description of *Aphelenchoides pseudobesseyi* sp. n. **Nematology**, v. 23, n. 4, p. 381-413, 2020.
- TENENTE, R.C.V. et al. Techniques to eradicate *Aphelenchoides besseyi* Christie (1942) from infested *Brachiaria brizantha* seeds. **Nematol. Bras**, v. 30, p. 239-244, 2006.
- TERRA-LOPES, M. L.; CARVALHO, P. C. F.; ANGHINONI, I.; SANTOS, D.T., AGUINAGA, A. A. Q.; FLORES. Sistema de integração lavoura-pecuária: efeito do manejo da altura em pastagem de aveia preta e azevém anual sobre o rendimento da cultura da soja. **Ciência Rural**, n.39, p.1499-1506, 2009.

TERRES, A. L. S. et al. Melhoramento genético e cultivares de arroz irrigado. **Arroz irrigado no Sul do Brasil. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica**, p. 161-235, 2004.

TIMOSSI, P. C.; DURIGAN, J. C.; LEITE, G. J. Formação de palhada por braquiárias para adoção do sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 617-622, 2007.

TIWARI, S. P. et al. White tip caused by *Aphelenchoides besseyi*, an important seed-borne disease of rice. **Advances in Nematology**, p. 103-114, 2003.

VASCONCELOS, S. E.; REIS, S. M. (2018). Análise não-paramétrica da sanidade de sementes e índices de eliminação e classificação de genótipos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, Universidade Federal de Viçosa -Departamento de Fitotecnia –MG.

WANG, F. et al. Transcriptomic analysis of the rice white tip nematode, *Aphelenchoides besseyi* (Nematoda: Aphelenchoididae). **PloS one**, v. 9, n. 3, p. e91591, 2014.

6 ARTIGO.

6.1 Cultivo de aveia ou milho com *Aphelenchoides besseyi* e a síndrome da haste verde na soja em sucessão

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o impacto do cultivo de milho e aveia, ambos inoculados com *A. besseyi* na parte aérea, no solo ou nas sementes, deixando-se ou retirando-se a palhada remanescente dessas plantas, na sobrevivência e multiplicação do nematoide para o cultivo subsequente de soja e no aparecimento da SHV nas plantas de soja.

7 MATERIAL E METÓDOS

O presente trabalho foi conduzido em casa de vegetação, na estação experimental do Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná - IAPAR/EMATER (IDR-Paraná), localizada em Londrina, Paraná (23°21'20"S; 51°09'58,2"O). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente ao acaso, com seis repetições para cada tratamento, no período de 30 de março de 2022 a 01 de março de 2023, com temperaturas médias variando de 12 °C a 38 °C no cultivo do milho e da aveia e de 22 °C a 42 °C na cultura da soja.

Para efeito das análises estatísticas na primeira fase do ensaio (plantas de cobertura), foi considerado o esquema fatorial duplo (cultura x local de inoculação), na configuração 2 x 3 (aveia e milho x inoculação na semente, solo e parte aérea das plantas), para a quantidade de nematoides avaliadas nas parcelas.

Já na segunda fase do ensaio (cultivo da soja na sucessão), foi considerado o esquema fatorial triplo (cultura antecessora, local de inoculação na cultura antecessora, presença ou não de palhada da cultura antecessora), na configuração 2 x 3 x 2 (aveia e milho x inoculação na semente, solo e parte aérea das plantas x com palhada e sem palhada) quando da avaliação da quantidade de nematoides presentes nas parcelas. Foi considerado o esquema fatorial triplo (cultura antecessora, local de inoculação na cultura antecessora, presença ou não de palhada da cultura antecessora), na configuração 2 x 4 x 2 (aveia e milho x inoculação na semente, solo, parte aérea das plantas e sem inoculação de nematoide x com palhada e sem palhada) quando da avaliação da massa fresca da parte aérea e da massa fresca das raízes de soja avaliadas em todos os tratamentos.

7.1 Obtenção do inóculo

A população de *A. besseyi* utilizada foi originalmente obtida de plantas de soja com sintomas da SHV, coletadas em áreas naturalmente infestadas. Essa população foi identificada de acordo com as principais características morfológicas e moleculares (SUBBOTIN et al., 2020; MEYER et al., 2017), sendo multiplicada *in vitro*, em placas de Petri contendo colônias de *Fusarium* sp. e mantidas em BOD a 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) (FAVORETO et al., 2011). O inóculo inicial foi obtido a partir de populações puras, coletando-se os nematoides presentes na parte interna das tampas das placas de Petri com água, com o auxílio de uma pisseta. Os nematoides assim obtidos foram quantificados em microscópio de luz, com auxílio de câmara de Peters.

7.2 Avaliação da infestação de sementes de milho e aveia

Antes da instalação do ensaio em casa de vegetação, foi verificada a presença de nematoides nos lotes de sementes que seriam utilizados no ensaio. Dessa forma, sementes de aveia branca (*Avena sativa*) cultivar IPR Afrodite, pertencente ao banco de germoplasma vegetal do IDR-Paraná, e de milho (*Pennisetum glaucum*) cultivar ADR-300, obtida junto à sementeira Adriana Sementes, foram avaliadas para verificar a infestação prévia de nematoides, utilizando-se o método de Boneti; Ferraz (1981).

Alíquotas com 10 g de sementes de milho e aveia foram trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e lavadas em água corrente sobre um conjunto de peneiras de 230 e 500 Mesh, para separação do material vegetal triturado e obtenção dos possíveis contaminantes. A suspensão obtida foi observada em câmara de Peters sob microscópio óptico.

7.3 Infecção de sementes sadias

Após a confirmação da ausência de nematoides nos lotes de sementes utilizados, cinco conjuntos com 60 sementes de aveia e milho (Figura 1) foram separados e utilizados para avaliação da infecção de sementes sadias em contato com solo contendo *A. besseyi*. Para tal, 20 g de areia previamente esterilizada em autoclave (120 °C/20 min) foram adicionados a placas de Petri de acrílico (100 x 20 mm), onde foram inoculados

2500 *A. besseyi*, contidos numa suspensão de 10 ml. Na sequência, as sementes de aveia e milho foram depositadas sobre a areia infestada, sendo as placas fechadas com filme de PVC (policloreto de vinil) e armazenadas em câmara de cultivo BOD, com temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pelo período de sete dias.



Figura 1. Placas de Petri (A) contendo areia infestada por *Aphelenchoides besseyi* e com sementes de aveia (A) ou milho (B).

Após os sete dias, as sementes foram processadas pelo método de Boneti; Ferraz (1981), de acordo com o descrito previamente, e a suspensão foi observada em câmara de Peters sob microscópio, quantificando-se o número de nematoides em cada lote de sementes.

Além disso, duas placas de cada espécie vegetal, contendo 60 sementes, foram também utilizadas para confirmação visual da infecção das sementes com *A. besseyi*, através da coloração das glumas pela metodologia proposta por Byrd et al. (1983), com modificações.

Inicialmente, as sementes foram retiradas das placas com auxílio de pinça e depositadas em peneira plástica para lavagem em água corrente. Após a lavagem, as sementes foram colocadas em béquer de 50 ml, cobertas como uma solução de hipoclorito de sódio (50 ml de água e 30 ml de hipoclorito) e agitadas durante 12 min com o auxílio de um bastão de vidro. Em seguida, as sementes foram novamente lavadas sobre peneira com água corrente para remoção do hipoclorito de sódio e mantidas em béquer com água por 30 min, agitando-se a cada 5 min. Após, as sementes foram novamente lavadas e

transferidas para béquer de 50 ml, no qual foram adicionados 30 ml de água e 1 ml de solução corante (75 ml de água destilada, 25 ml de ácido acético e 0,35 g de fucsina ácida), fervendo-se a suspensão em micro-ondas por 2,5-3 min. Após a fervura, os béqueres ficaram em temperatura ambiente por 5 min e, após, as sementes foram lavadas com cuidado e devolvidas ao béquer, recobrando-as com glicerina ácida (glicerina PA 1 L e ácido clorídrico 13 ml).

Após esse processo, as glumas das sementes foram separadas em uma placa de Petri, com auxílio de agulha e bisturi, depositando-as sobre lâminas de microscopia de vidro com uma gota de glicerina ácida, depositando-se uma lamínula sobre as glumas. Após, as lâminas foram observadas sob microscópio e os nematoides presentes no interior das glumas foram fotografados para confirmação da presença de *A. besseyi* nas sementes.

Para confirmação de que o nematoide presente nas sementes se tratava realmente de *A. besseyi*, sementes infectadas foram também analisadas por PCR (*Reação em Cadeia da Polimerase*), utilizando-se o conjunto de primers espécie-específicos A_bess 11, desenvolvido por Sercero (2019). Para tal, foram utilizadas duas placas adicionais de aveia ou milho, contendo 60 sementes. Após o processo de infecção descrito anteriormente, as sementes de cada placa foram colocadas em cadinhos para a maceração com nitrogênio líquido e o material obtido foi transferido para um microtubo de 2 ml. Em seguida, foi feito o processo de extração do DNA total de cada amostra, utilizando-se o kit de extração DNeasy[®] Plant Mini Kit (Invitrogen), conforme recomendado no trabalho de Sercero (2019). Após a extração do DNA, foi realizada a PCR, adicionando-se 21 µl de Master Mix, 1 µl de cada *primer* forward e reverso e 2 µl de DNA, sendo a reação realizada em termociclador previamente programado para a reação de PCR (Tabela 1).

Tabela 1. Primers e condições de amplificação utilizados para confirmar a presença de *Aphelenchoides besseyi* em amostras de material vegetal (SERCERO, 2019).

Identificação	Forward			Reverse		
<i>A. besseyi</i>	GTATTCAATCCCGCGACT			CATCCTGTTCGGGCATAGTT		
Condições de PCR						
40 Ciclos						
Temperatura	94°C	94°C	63°C	72°C	72°C	4°C
Tempo	3 min	30 s	45 s	45 s	10 min	∞

Após confirmação da amplificação do DNA por PCR, as amostras foram purificadas utilizando-se o kit da Promega (Wizard[®] SV Gel and PCR Clean-Up System) e enviadas para sequenciamento.

7.4 Experimento de casa de vegetação

7.4.1 Preparo das plantas e inoculação

Para esta etapa, inicialmente as sementes foram infectadas com *A. besseyi*, de maneira semelhante ao descrito anteriormente, porém as placas de Petri com 60 g de areia autoclavada receberam 5000 nematoides e 120 sementes de aveia ou milho, para serem utilizadas no ensaio. Os nematoides presentes nas sementes foram quantificados antes do plantio e observou-se que, nas sementes de aveia, havia uma média de 10,33 nematoides por semente, enquanto nas sementes de milho, 10,50.

As sementes de aveia e milho infectadas com *A. besseyi* foram, então, semeadas em vasos de PVC pretos de 3 L, contendo solo (80% de areia, 5% de silte e 15% de argila) previamente esterilizado por calor seco (160 °C/ 5 horas). Para a semeadura, foi utilizado um furador para padronizar a profundidade das covas de plantio das sementes, respeitando-se a profundidade de 2,5 vezes o tamanho das sementes. Estas foram distribuídas no vaso em forma de X para melhor espaçamento entre as plantas e otimização do espaço do vaso, reduzindo-se a competição entre as plantas.

Sementes não infectadas de aveia e milho também foram semeadas, de maneira semelhante ao descrito para as sementes infectadas. Neste caso, as plântulas foram inoculadas com *A. besseyi* 15 dias após a semeadura, de duas formas diferentes. Parte das plantas recebeu a inoculação do nematoide diretamente no solo, depositando-se 1 ml da suspensão de inóculo contendo 500 nematoides diretamente no colo de cada uma das plantas do vaso. A outra parte das plântulas recebeu o inóculo de *A. besseyi* nas folhas, num total de 50 nematoides por planta, utilizando-se um pipetador semi-automático para depositar 200 μ l da suspensão contendo os nematoides diretamente na base das folhas (Figura 2).

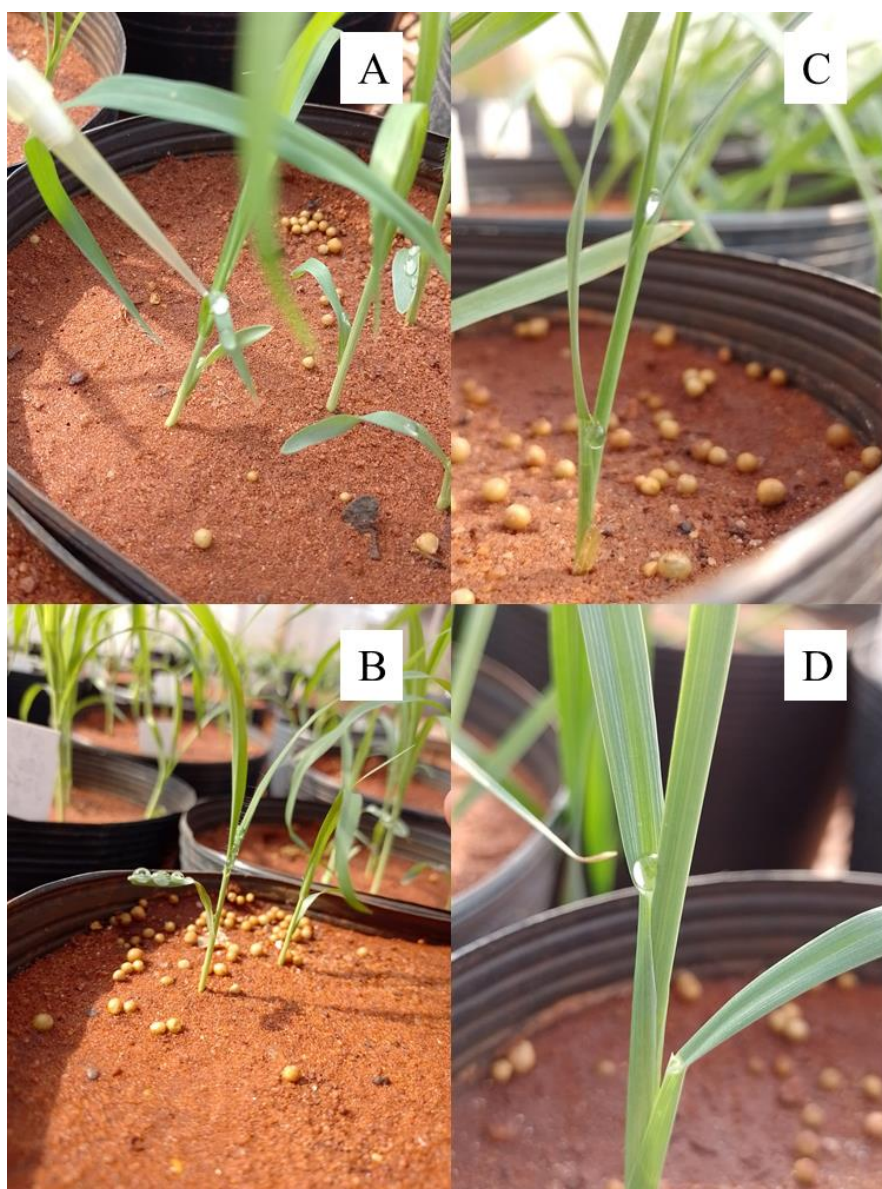


Figura 2. Demonstração da disposição das gotas em cima da folha. (A, B) Disposição das gotas em cima das folhas do milho, (C e D) Disposição das gotas nas folhas de aveia.

A adubação do experimento foi feita no momento da semeadura, utilizando o fertilizante de liberação lenta Osmocote® Plus (15% N, 9% P₂O₅, 12% K₂O, 1% Mg, 2,3% S, 0,05% Cu, 0,45% Fe, 0,06% Mn, 0,02% Mo), na proporção de 10 g por vaso. O experimento foi conduzido em casa de vegetação com irrigação por aspersão aérea, com vazão por bico de 730 ml por minuto (Tabela 2) e temperatura média de 26°C.

Tabela 2. Programação do período de irrigação por aspersão durante a condução do experimento.

Períodos de irrigação				Tempo de irrigação
24:00h	02:00h	04:00h	06:00h	1 min
08:00h	10:00h	12:00h	14:00h	2 min
16:00h	18:00h	20:00h	22:00h	1 min

7.4.2 Avaliações

Os tratamentos foram divididos em 24 vasos cada e, em cada data de avaliação, 6 vasos de cada tratamento foram avaliados. Dessa forma, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas, 6 vasos de cada tratamento foram avaliados para verificar a presença do nematoide. Nestes, a parte aérea das plantas foi cortada logo acima do solo e pesada para obtenção da massa fresca de parte aérea (MFPA), as raízes foram separadas do solo, lavadas, secas e pesadas para obtenção da massa fresca de raízes (MFR) e o solo (todo volume) foi processado para extração dos nematoides utilizando-se o método de flotação e peneiração seguido de funil de Baermann otimizado (MACHADO; SILVA, 2019). Os nematoides presentes nas raízes e parte aérea das plantas foram extraídos pela metodologia de Boneti; Ferraz (1981), sem a adição de hipoclorito de sódio, que consiste na trituração dos tecidos vegetais em liquidificador e passagem da suspensão por um conjunto de peneiras de 230 Mesh acoplada a outra peneira de 500 Mesh. No caso da parte aérea, visando a obtenção de uma amostra mais limpa para a quantificação dos nematoides, após a trituração da mesma e passagem pelas peneiras, a suspensão foi vertida em peneiras para montagem do funil de Baermann

otimizado (MACHADO; SILVA, 2019). Os nematoides foram quantificados (solo, raízes e parte aérea separadamente) em câmara de Peters, sob microscópio de luz.

Nessa mesma data de avaliação, a parte aérea de cada tratamento, presente em outros 6 vasos, foi avaliada conforme descrição anterior, preservando as raízes e o solo de cada repetição. Neste caso, o solo permaneceu descoberto para ser utilizado no cultivo subsequente da soja. Em outros 6 vasos de cada tratamento, a parte aérea foi cortada e pesada, porém foi distribuída sobre o solo com as raízes, que não foram utilizadas para extração dos nematoides. Dessa forma, nestes vasos, distribui-se 30 g de milho ou 5,5 g de aveia em suas respectivas repetições (Figura 3), simulando o efeito da palhada na manutenção do nematoide para o cultivo subsequente da soja.



Figura 3. Disposição da parte aérea de plantas de milho e aveia sobre os vasos, formando palhada (ou cobertura vegetal) para cultivo de soja em sucessão.

Os últimos 6 vasos permaneceram em casa de vegetação, sem a retirada da parte aérea, levando-se os cultivos do milho e da aveia até o final do período reprodutivo (130 dias). Nestes, as sementes em cada repetição foram colhidas e pesadas e os nematoides que eventualmente estivessem presentes nas sementes foram extraídos pelo método de Boneti; Ferraz (1981) seguido do funil de Baermann otimizado, como descrito por Machado; Silva (2019).

7.4.3 Semeadura da soja

Nos vasos que ficaram em casa de vegetação após o cultivo do milho e da aveia, com e sem palhada dessas plantas, semeou-se soja cultivar Fibra IPRO, para verificação do possível aparecimento da SHV na soja. Dessa forma, as sementes de soja foram semeadas em cada vaso (semeadura em 07/11/2022), deixando-se apenas duas plantas em cada vaso. Não houve reinoculação de *A. besseyi* nas plantas de soja.

De maneira semelhante ao descrito para as culturas do milho e da aveia, as plantas de soja permaneceram em casa de vegetação com irrigação aérea por aspersão, com intervalos de 2 em 2 horas (Tabela 2). A adubação foi realizada novamente nas plantas de soja, com o fertilizante de liberação lenta Osmocote® Plus (15% N, 9% P₂O₅, 12% K₂O, 1% Mg, 2,3% S, 0,05% Cu, 0,45% Fe, 0,06% Mn, 0,02% Mo), na proporção de 10 g por vaso. As plantas permaneceram na casa de vegetação por 35 dias, com temperaturas variando de 22 °C a 42 °C.

Após 39 DAS das plantas de soja, todos os vasos foram avaliados quanto à presença de *A. besseyi* nas diferentes partes vegetais e no solo, além dos possíveis sintomas da SHV. Para isso, as plantas foram observadas e fotografadas para observação dos sintomas e, na sequência, a parte aérea foi cortada logo acima do solo, pesada (MFPA) e utilizada para extração dos nematoides, pelo método de Boneti; Ferraz (1981), seguido do funil de Baermann otimizado (MACHADO; SILVA, 2019), conforme descrito anteriormente para a aveia e o milho. As raízes foram separadas do solo, lavadas, pesadas e os nematoides foram extraídos segundo Boneti; Ferraz (1981). Todo o volume de solo contido em cada vaso foi utilizado para extração dos nematoides, através do método de flotação e peneiração seguido de funil de Baermann otimizado (MACHADO; SILVA, 2019). Os nematoides assim extraídos foram quantificados em câmara de Peters, sob microscópio de luz.

7.5 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise de variância, foram verificados os pressupostos do modelo linear e, em caso de não atendimento, os dados foram transformados usando-se o método de BoxCox para identificação da melhor opção para transformação dos dados. Após, em caso de verificação de interação entre os fatores, foi realizado o desdobramento das interações pelo teste de Tukey a 5% de significância. Todas as análises foram realizadas com auxílio do software estatístico R (R Core Team, 2020).

8 RESULTADOS

A infecção das sementes de aveia e milho a partir de areia infestada com *A. besseyi* foi realizada de maneira satisfatória, sendo encontrada uma média de 10,03 e 10,50 nematoides por semente de aveia e milho, respectivamente.

Além disso, a coloração com fucsina-ácida das glumas das sementes de aveia e milho possibilitou a observação da presença de *A. besseyi* em seu interior (Figura 4). Na Figura 4, é possível observar a presença de fêmeas adultas do nematoide nas glumas de sementes de aveia (A e B) e a presença de nematoides em posição enrolada nas glumas das sementes de milho (C) e aveia (D).

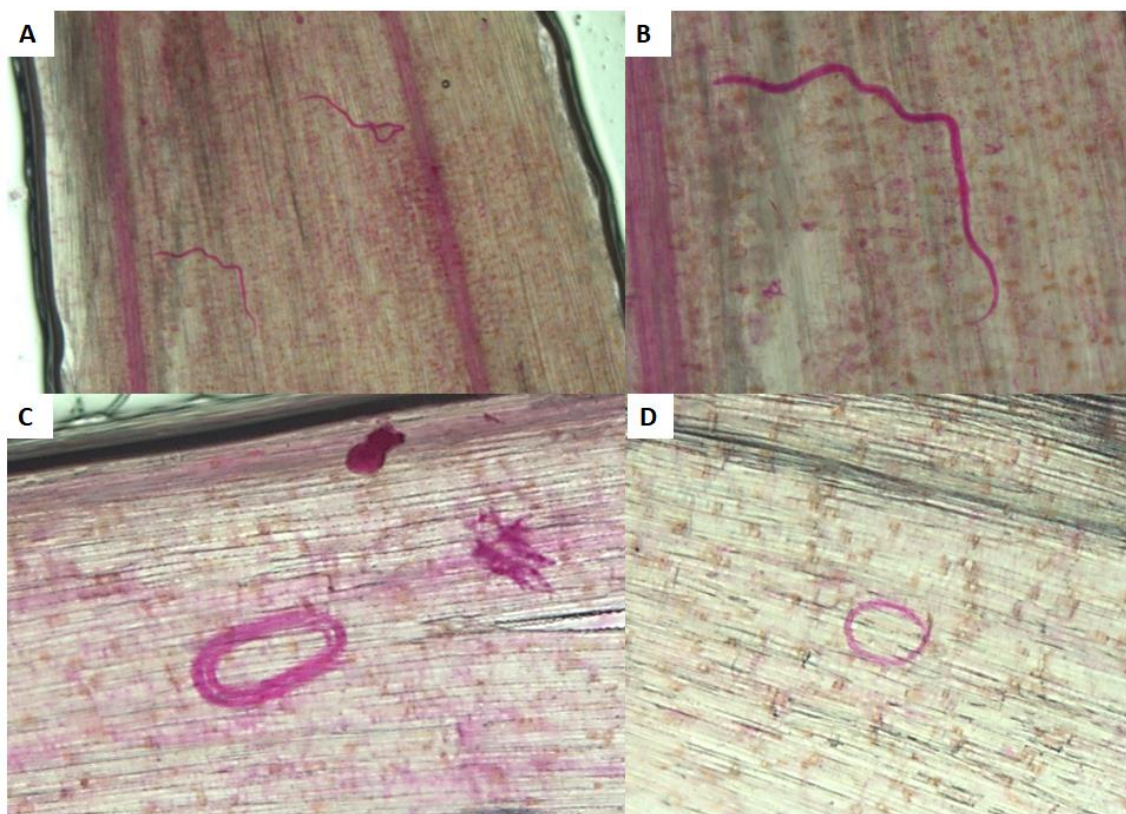


Figura 4. Exemplos de *Aphelenchoides besseyi* observados no interior das glumas de sementes de aveia e milho. Em A e B, presença de fêmeas adultas do nematoide nas glumas de sementes de aveia e, em C e D, presença de nematoides em posição enrolada nas glumas das sementes de milho (C) e aveia (D).

Dessa forma, após a constatação da presença do nematoide nas glumas das sementes, a confirmação da espécie se deu por PCR com o conjunto de primers

específicos desenvolvido por Sercero (2019), extraindo-se o DNA total da amostra de sementes contendo os nematoides. É possível observar na Figura 5 a presença dos fragmentos de DNA de 570 pb, característicos de *A. besseyi*, nas amostras obtidas de sementes de aveia, milho e no controle positivo (*A. besseyi* cultivado em colônias de *Fusarium* sp.; população utilizada e caracterizada em Meyer et al., 2017).

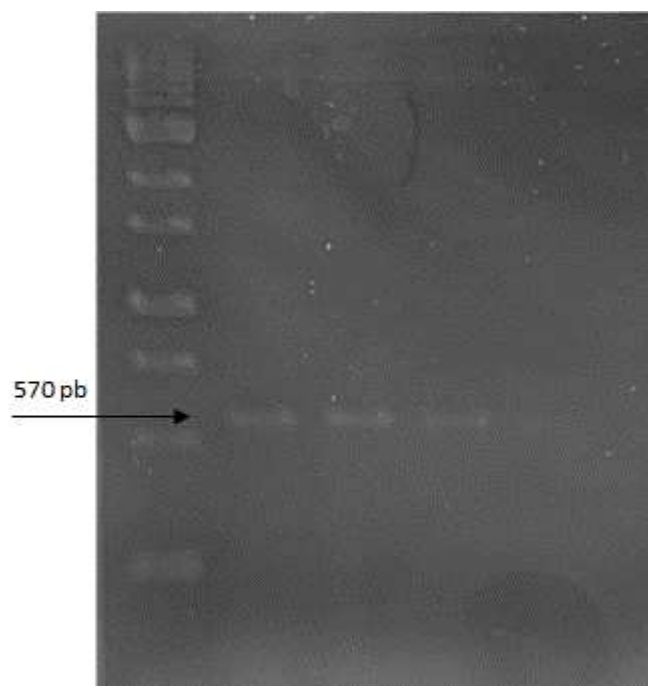


Figura 5. Amplificação da região D2/D3 rDNA de amostras de DNA de *Aphelenchoides besseyi*, utilizando-se o conjunto de primers espécie-específicos A_bess 11 (SERCERO, 2019), visualizado em gel de agarose a 1%. Da esquerda para a direita: marcador molecular 1 Kb; amostra de sementes de aveia; amostra de sementes de milho; controle positivo (*A. besseyi* de Meyer et al., 2017).

O desenvolvimento das plantas de aveia e milho, bem como a população de *A. besseyi* presente no solo, nas raízes, na parte aérea das plantas de aveia e milho e a população total do nematoide foram avaliados aos 62 DAS das sementes infectadas ou 46 DAI dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas (Tabelas 3 a 7).

Os dados obtidos quanto ao desenvolvimento das plantas de aveia e milho estão descritos na Tabela 3. Não foi realizada análise estatística comparativa entre os valores de MFR e MFPA obtidos para as plantas de aveia e milho, inoculadas com o nematoide em diferentes locais de inoculação, pois são espécies vegetais diferentes e esse tipo de

comparação não traria nenhuma informação importante ao trabalho. Dessa foram, apenas o descritivo dos resultados está contido na Tabela 3.

Tabela 3. Massa fresca de raízes (MFR) e de parte aérea (MFPA) das plantas de aveia e milho, inoculadas com *Aphelenchoides besseyi* em diferentes locais de inoculação (parte aérea, semente ou solo). Avaliação aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas.

Cultura	Inoculação					
	Parte aérea		Semente		Solo	
	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA
Aveia	16,50	10,50	4,25	1,75	15,37	7,50
Milho	136,25	194,50	53,00	78,75	56,50	96,25

Cada valor representa a média de 6 repetições. Valores apenas descritivos.

Para os valores de número de *A. besseyi* presentes no solo de aveia e milho, a análise fatorial mostrou interação entre os fatores cultura e local de inoculação (Tabela 4). Para a cultura da aveia, a inoculação do nematoide no solo proporcionou os maiores valores de número de nematoides presentes no solo em relação às inoculações realizadas na parte aérea ou na semente. Já para a cultura do milho, a inoculação do nematoide na parte aérea apresentou o valor superior para a variável número de nematoides no solo, enquanto a inoculação na semente, o valor menor; a inoculação no solo apresentou valores intermediários de número de nematoides no solo.

Em relação aos locais de inoculação, não foram observadas diferenças significativas entre as culturas da aveia e milho inoculadas na parte aérea e nas sementes, porém a inoculação no solo na cultura da aveia proporcionou valor superior de número de nematoides no solo, em relação à inoculação no solo em milho.

Tabela 4. Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes no solo em plantas de aveia e milho, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas.

Cultura	Inoculação			Média
	Parte aérea	Semente	Solo	
Aveia	65,25 aB	56,00 aB	229,50 aA	116,92
Milho	138,00 aA	22,75 aB	41,50 bAB	67,42
Média	101,25	39,37	135,50	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por \log^*y .

Interação significativa entre os fatores cultura e local de inoculação também foi observada para a variável número de nematoides presentes nas raízes das plantas de aveia e milho (Tabela 5). Para a cultura da aveia, a inoculação de *A. besseyi* na parte aérea das plantas proporcionou o valor superior para essa variável, seguido da inoculação no solo; a inoculação na semente apresentou o valor menor de número de nematoides nas raízes de aveia. Já para o milho, não foram observadas diferenças significativas entre os locais de inoculação do nematoide para a essa variável.

Para o local de inoculação do nematoide, a inoculação na semente não diferiu entre as culturas da aveia e do milho. No entanto, as inoculações na parte aérea e no solo proporcionaram os valores maiores para o número de nematoides nas raízes nas plantas de aveia, em relação ao milho.

Tabela 5. Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes nas raízes de plantas de aveia e milho, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas.

Cultura	Inoculação			Média
	Folha	Semente	Solo	
Aveia	681,00 aA	133,50 aC	445,75 aB	420,08
Milho	42,50 bA	55,75 aA	41,50 bA	46,58
Média	361,75	94,62	243,62	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados não foram transformados.

Não foi observada interação significativa entre os fatores cultura e local de inoculação de *A. besseyi* em relação à variável número de nematoides na parte aérea (Tabela 6). Porém, as plantas de aveia apresentaram números superiores de nematoides na parte aérea, em relação à cultura do milho. Para o local de inoculação do nematoide, não foram observadas diferenças significativas para essa variável.

Tabela 6. Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes na parte aérea de plantas de aveia e milho, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas.

Cultura	Inoculação			Média
	Folha	Semente	Solo	
Aveia	80,25	45,50	74,25	66,67 a
Milho	2,00	0,75	1,25	1,33 b
Média	41,12 A	23,12 A	37,75 A	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por $\sqrt{y + 0,5}$.

Para o número total de *A. besseyi* presente na parte aérea + raízes + solo de plantas de aveia e milho, interação significativa entre os fatores cultura e local de inoculação foi observada (Tabela 7). Dessa forma, pelo desdobramento da interação, verificou-se que, para a cultura da aveia, a inoculação do nematoide na parte aérea ou no solo proporcionou os valores superiores para essa variável, em relação à inoculação na semente. Já para a cultura do milho, não foram observadas diferenças significativas entre os locais de inoculação para essa variável.

Em relação ao local de inoculação, a inoculação do nematoide na parte aérea, na semente ou no solo proporcionou os valores superiores para essa variável na cultura da aveia, em relação à cultura do milho (Tabela 7).

Tabela 7. Número total de *Aphelenchoides besseyi* presentes na parte aérea + raízes + solo de plantas de aveia e milho, aos 62 dias após a semeadura (DAS) das sementes infectadas ou 46 dias após a inoculação (DAI) dos nematoides no solo e/ou na parte aérea das plantas.

Cultura	Inoculação			Média
	Folha	Semente	Solo	
Aveia	826,50 aA	235,00 aB	749,50 aA	603,67
Milho	182,50 bA	79,25 bA	84,25 bA	115,33
Média	504,50	157,12	416,87	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados não foram transformados.

Na cultura da soja cultivada na sequência das culturas da aveia e do milho, inoculadas com *A. besseyi*, sintomas característicos da síndrome da haste verde e retenção foliar foram observados em todos os tratamentos, independente da cultura antecessora e do local de inoculação do nematoide na cultura antecessora. Tais sintomas incluíram afilamento, retorcimento e deformação de folhas, que ficaram com aspecto coriáceo e com embolhamento (Figura 6 A, B, C). Na parte reprodutiva, verificou-se necrose dos pecíolos e das inflorescências (Figura 6 D, E, F). Também foram observados engrossamentos típicos dos nós e entrenós, como descrito em Meyer et al. (2017), cuja visualização é possível na Figura 6 F.

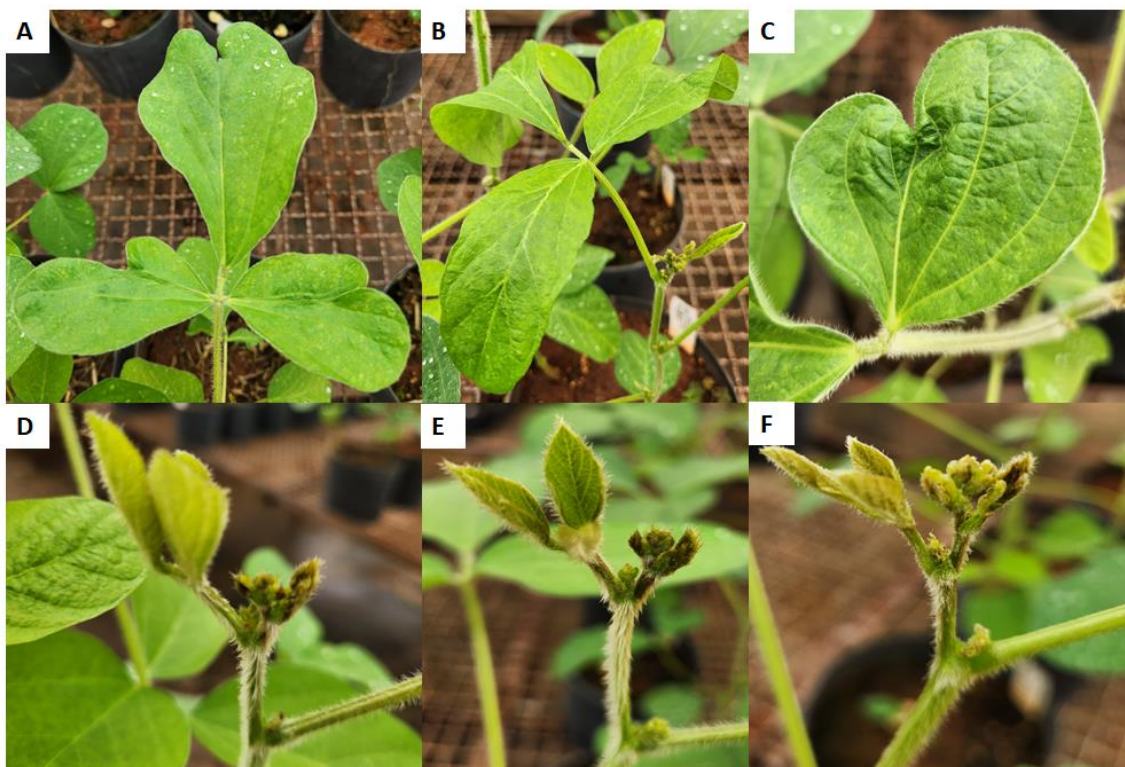


Figura 6. Sintomas da síndrome da haste verde e retenção foliar observados em plantas de soja no experimento. A, B e C) afilamento, retorcimento e deformação de folhas; D, E e F) necrose de pecíolos e inflorescências e engrossamento de nó (F).

Para a variável massa fresca de raízes (MFR) (Tabelas 8, 9 e 10), foi observado apenas efeito da cultura antecessora, sem efeito para os demais fatores ou interação entre eles. Dessa forma, o cultivo antecessor de aveia proporcionou redução significativa do valor de MFR nas plantas de soja, em relação ao cultivo antecessor de milho.

Para a variável massa fresca de parte aérea (MFPA) das plantas de soja (Tabelas 8, 9 e 10), foi observado efeito para os fatores cultura antecessora e local de inoculação na cultura antecessora, não sendo observado efeito para o fator palhada nem a interação entre os fatores.

O cultivo antecessor de aveia proporcionou redução significativa do valor de MFPA nas plantas de soja, em relação ao cultivo antecessor de milho.

Tabela 8. Massa fresca de raízes (MFR) e massa fresca de parte aérea (MFPA) de plantas de soja cultivadas na sequência das culturas da aveia e do milho inoculadas ou não com *Aphelenchoides besseyi*. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.

Variável	Cultivo antecessor	Inoculação no cultivo antecessor				Média
		Folha	Semente	Solo	Testemunha	
	Aveia	45,25	46,78	43,93	46,88	45,71 b
MFR	Milho	116,44	93,89	79,87	79,12	92,33 a
	Média	80,84 A	70,33 A	61,89 A	63,00 A	
		Folha	Semente	Solo	Testemunha	
	Aveia	22,94	39,62	24,06	36,31	30,73 b
MFPA	Milho	32,06	56,19	30,94	49,50	42,17 a
	Média	27,50 B	47,90 A	27,50 B	42,90 A	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (para cada variável) e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por \log^*y , para a variável MFR. Dados não transformados para a variável MFPA.

Já em relação ao local de inoculação de *A. besseyi* no cultivo antecessor, a inoculação do nematoide no solo ou na parte aérea do cultivo antecessor interferiu negativamente na variável MFPA de soja. A presença de palhada não interferiu no desenvolvimento da parte aérea das plantas de soja.

Tabela 9. Massa fresca de raízes (MFR) e massa fresca de parte aérea (MFPA) de plantas de soja cultivadas na sequência das culturas da aveia e do milho inoculadas ou não com *Aphelenchoides besseyi*. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.

Variável	Local de inoculação	Presença de palhada		
		Com	Sem	Média
MFR	Solo	63,03	60,76	61,89 a
	Semente	62,54	78,12	70,33 a
	Parte aérea	94,62	67,06	80,84 a
	Testemunha	62,91	63,08	63,00 a
	Média	70,78 A	67,26 A	
MFPA	Solo	27,12	27,87	27,50 b
	Semente	42,52	53,29	47,90 a
	Parte aérea	26,44	28,56	27,50 b
	Testemunha	42,81	43,00	42,90 a
	Média	34,72 A	38,18 A	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (para cada variável) e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por \log^*y , para a variável MFR. Dados não transformados para a variável MFPA.

O cultivo antecessor de aveia proporcionou redução significativa do valor de MFR nas plantas de soja, em relação ao cultivo antecessor de milho. O local de inoculação na cultura antecessora e a presença de palhada não interferiram na MFR.

Tabela 10. Massa fresca de raízes (MFR) e massa fresca de parte aérea (MFPA) de plantas de soja cultivadas na sequência das culturas da aveia e do milho inoculadas com *Aphelenchoides besseyi*. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.

Variável	Cultivo antecessor	Presença de palhada		
		Com	Sem	Média
MFR	Aveia	47,15	44,26	45,71 b
	Milho	94,40	90,25	92,33 a
	Média	70,78 A	67,26 A	
MFPA	Aveia	29,54	31,92	30,73 b
	Milho	39,90	44,44	42,17 a
	Média	34,72 A	38,18 A	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (para cada variável) e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por \log^*y , para a variável MFR. Dados não transformados para a variável MFPA.

Para as variáveis relacionadas à população de *A. besseyi*, houve interação tripla significativa entre os fatores para as variáveis número de nematoides presentes nas raízes e na parte aérea das plantas de soja (Tabelas 11 e 12), e somente efeito para os três fatores, sem interação entre eles, para as variáveis número de nematoides presentes no solo e número total de nematoides presentes na parcela (Tabelas 13 e 14).

Em relação ao número de nematoides nas raízes de soja, observou-se que, para a cultura da aveia, a presença de palhada proporcionou aumento do número de nematoides quando a inoculação na aveia se deu na parte aérea. Por outro lado, quando a inoculação foi realizada no solo, a presença de palhada reduziu os valores de nematoides encontrados nas raízes de soja, enquanto para a inoculação nas sementes de aveia, não foram observadas diferenças significativas entre os valores dessa variável na presença ou

ausência de palhada (Tabela 11). Para a cultura do milho, não foram observadas diferenças significativas em relação à presença ou ausência de palhada e os diferentes locais de inoculação para a variável número de nematoides nas raízes de soja (Tabela 11).

Para a variável número de nematoides presentes na parte aérea de soja, tendo a cultura da aveia como cultivo antecessor, a presença de palhada proporcionou incremento no número de nematoides na parte aérea de soja quando inoculado na parte aérea das plantas de aveia, enquanto para a inoculação do nematoide nas sementes de aveia, foram observadas diferenças significativas entre a presença ou ausência de palhada para essa variável. Porém, quando a inoculação se deu no solo, não foram observadas diferenças entre as variáveis presença e ausência de palhada da cultura antecessor (Tabela 11). Para a cultura do milho, quando a inoculação de *A. besseyi* foi realizada na parte aérea ou nas sementes dessa cultura, a presença de palhada proporcionou incremento nos valores de número de nematoides presentes na parte aérea da soja. Ao contrário, quando a cultura do milho foi inoculada no solo, a presença de palhada reduziu o número de nematoides presentes na parte aérea da soja cultivada na sequência (Tabela 11).

Ainda em relação às interações triplas observadas para a variável número de nematoides nas raízes de soja, observou-se que, na ausência de palhada, o cultivo antecessor de milho inoculado na parte aérea proporcionou valores superiores para essa variável, em relação à aveia, enquanto, na presença da palhada, não foram observadas diferenças significativas entre as culturas da aveia e do milho inoculados na parte aérea (Tabela 11). Para a inoculação nas sementes do cultivo antecessor, não foram observadas diferenças significativas entre as culturas da aveia e do milho, tanto na presença quanto na ausência de palhada (Tabela 11). Quando o nematoide foi inoculado no solo do cultivo antecessor, a presença de palhada proporcionou incremento nos valores de número de nematoides nas raízes da soja na cultura do milho, em relação à aveia, enquanto, na ausência de palhada, não foram observadas diferenças significativas entre as culturas da aveia e do milho para essa variável (Tabela 11).

Na interação tripla observada para a variável número de nematoides na parte aérea da soja, observou-se também que, na presença de palhada, os valores dessa variável foram superiores na cultura da aveia, em relação ao milho, quando o nematoide foi inoculado na parte aérea do cultivo antecessor, enquanto na ausência de palhada, não foram observadas diferenças significativas neste caso (Tabela 11). Quando o nematoide foi inoculado nas sementes do cultivo antecessor, também não foram observadas diferenças significativas entre milho e aveia na presença ou ausência de palhada (Tabela 11). Para

a inoculação no solo do cultivo antecessor, na presença de palhada, os valores de número de nematoides na parte aérea de soja foram superiores quando o cultivo antecessor foi a aveia, em relação ao milho, enquanto na ausência de palhada, não foram observadas diferenças significativas entre os cultivos (Tabela 11).

Tabela 11. Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes nas raízes e na parte aérea de plantas de soja, em função do cultivo antecessor, local de inoculação no cultivo antecessor e presença ou ausência de palhada do cultivo antecessor. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.

Inoculação no cultivo antecessor						
Cultivo antecessor	Parte aérea		Semente		Solo	
	Com Palhada	Sem Palhada	Com Palhada	Sem Palhada	Com Palhada	Sem Palhada
Número de nematoides nas raízes						
Aveia	323,00 aA	54,75 bB	131,25 aA	98,50 aA	93,75 bB	207,75 aA
Milho	209,00 aA	193,50 aA	134,00 aA	61,50 aA	471,50 aA	372,50 aA
Número de nematoides na parte aérea						
Aveia	625,00 aA	174,50 a B	189,25 aA	53,00 aB	419,75 aA	308,75 aA
Milho	264,75 bA	98,50 aB	225,50 aA	11,25 aB	179,00 bB	379,75 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (para cada variável) e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por \log^*y , para a variável número de nematoides nas raízes, e, transformados por $\sqrt{y + 0,5}$, para a variável número de nematoides na parte aérea das plantas.

Analisando-se a interação tripla por outro foco, verificou-se que, para a cultura da aveia, na presença de palhada, a inoculação na parte aérea resultou em maior quantidade de nematoides nas raízes de soja cultivada na sequência, enquanto a inoculação no solo, no menor valor para essa variável (Tabela 12). Na ausência de palhada, o comportamento dessa variável em aveia foi inverso, ou seja, a inoculação do nematoide no solo resultou

em maior quantidade de nematoides nas raízes da soja, enquanto a inoculação na parte aérea, no menor valor. Para a cultura do milho, na presença de palhada, a inoculação do nematoide no solo resultou na maior quantidade de nematoides nas raízes da soja, enquanto a inoculação na semente, no menor valor. Na ausência de palhada, mesmo comportamento dessa variável foi observado quando o cultivo antecessor foi o milho.

Em relação ao comparativo entre as duas culturas antecessoras na presença de palhada, apenas quando a inoculação foi realizada no solo observou-se diferença significativa entre as culturas, sendo maior quantidade de nematoides encontrada nas raízes de soja quando o cultivo antecessor foi o milho; para inoculação na parte aérea ou nas sementes, não foram observadas diferenças significativas entre as culturas antecessoras (Tabela 12). Na ausência de palhada, por outro lado, apenas na inoculação na parte aérea houve diferença entre os cultivos antecessores, com maior quantidade de nematoides nas raízes de soja na cultura do milho; nas inoculações no solo ou nas sementes, não foram observadas diferenças significativas entre os cultivos antecessores para essa variável (Tabela 12).

Para a variável número de nematoides na parte aérea de soja, na cultura da aveia na presença de palhada, as inoculações na parte aérea ou no solo resultaram em valores superiores para essa variável, em relação à inoculação nas sementes, o mesmo sendo observado na ausência de palhada (Tabela 12). Para a cultura do milho, na presença de palhada, não foram observadas diferenças significativas em relação ao local de inoculação do nematoide no cultivo antecessor, enquanto na ausência de palhada, a inoculação no solo resultou em maior valor, a inoculação nas sementes, o menor valor, e a inoculação na parte aérea, valor intermediário para essa variável (Tabela 12).

Em relação ao comparativo entre as duas culturas antecessoras na presença de palhada, a inoculação na parte aérea e no solo em aveia resultou em maior quantidade de nematoides na parte aérea da soja cultivada na sequência, em relação ao milho, enquanto a inoculação nas sementes, em menor quantidade (Tabela 12). Na ausência de palhada, não foram observadas diferenças significativas entre aveia e milho e os diferentes locais de inoculação no cultivo antecessor para a variável número de nematoides presentes na parte aérea de soja (Tabela 12).

Tabela 12. Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes nas raízes e na parte aérea de plantas de soja, em função do local de inoculação no cultivo antecessor, presença ou ausência de palhada do cultivo antecessor e cultura antecessora. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.

Inoculação no cultivo antecessor	Presença de palhada			
	Com palhada		Sem palhada	
	Aveia	Milheto	Aveia	Milheto
Número de nematoides nas raízes				
Parte aérea	323,00 aA	209,00 abA	54,75 bB	193,50 abA
Semente	131,25 abA	134,00 bA	98,50 abA	61,50 bA
Solo	93,75 bB	471,50 aA	207,75 aA	372,50 aA
Número de nematoides na parte aérea				
Parte aérea	625,00 aA	264,75 aB	174,50 abA	98,50 bA
Semente	189,25 bA	225,50 aA	53,00 bA	11,25 cA
Solo	419,75 aA	179,00 aB	308,75 aA	379,75 aA

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (para cada variável) e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por \log^*y , para a variável número de nematoides nas raízes, e, transformados por $\sqrt{y + 0,5}$, para a variável número de nematoides na parte aérea das plantas.

Para as variáveis número de nematoides no solo e número total de nematoides, não foram observadas significâncias nas interações triplas, mas foi observado efeito para os três fatores. Dessa forma, a inoculação de *A. besseyi* na parte aérea ou no solo no cultivo antecessor resultou em maior número de nematoides no solo na cultura da soja, enquanto a inoculação nas sementes, em menor número (Tabela 13). Quando o cultivo antecessor foi o milho, maior quantidade de nematoides foi encontrado no solo da cultura da soja cultivada na sequência, em relação à cultura da aveia (Tabela 13). Para o

número total de nematoides encontrado na cultura da soja, o mesmo comportamento do número de nematoides no solo foi observado (Tabela 13).

Tabela 13. Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes no solo e número total de nematoides em plantas de soja, em função do cultivo antecessor e local de inoculação no cultivo antecessor. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.

Cultivo antecessor	Inoculação no cultivo antecessor			Média
	Parte aérea	Semente	Solo	
	Número de nematoides no solo			
Aveia	2842,87	510,25	2845,00	2066,04 b
Milheto	3941,25	1566,87	5657,00	3721,87 a
Média	3392,06 A	1038,56 B	4251,25 A	
Número total de nematoides				
Aveia	3431,50	746,25	3360,00	2512,58 b
Milheto	4324,12	1783,00	6358,87	4155,33 a
Média	3877,81 A	1264,62 B	4859,44 A	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (para cada variável) e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por \log^*y , para a variável número de nematoides no solo, e, transformados por $\sqrt{y + 0,5}$, para a variável número total de nematoides na parcela.

Já em relação à presença de palhada, com palhada foi observada maior quantidade de nematoides no solo na cultura da soja, em relação à ausência de palhada, enquanto as inoculações no solo ou na parte aérea do cultivo antecessor também resultaram em maior quantidade de nematoides no solo na cultura da soja (Tabela 14). Para a variável número total de nematoides na cultura da soja, novamente na presença de palhada maiores valores foram observados, em relação à ausência de palhada, e as inoculações no solo ou na parte

aérea do cultivo antecessor também resultaram em maior quantidade total de nematoides na cultura da soja (Tabela 14).

Tabela 14. Número de *Aphelenchoides besseyi* presentes no solo e número total de nematoides em plantas de soja, em função do local de inoculação no cultivo antecessor e presença ou ausência de palhada. Avaliação aos 39 dias após a semeadura da soja.

Presença de palhada	Local de inoculação no cultivo antecessor			
	Solo	Semente	Parte aérea	Média
	Número de nematoides no solo			
Com	4277,00	1299,75	4469,87	3348,87 a
Sem	4225,50	777,37	2314,25	2439,04 b
Média	4251,25 A	1038,56 B	3392,06 A	
Número total de nematoides				
Com	4859,00	1639,75	5180,75	3893,17 a
Sem	4859,87	889,50	2574,87	2774,75 b
Média	4859,43 A	1264,62 B	3877,81 A	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (para cada variável) e maiúscula na linha não diferem entre si de acordo com o teste de Tukey a 5% de significância. Dados transformados por \log^*y , para a variável número de nematoides no solo, e, transformados por $\sqrt{y + 0,5}$, para a variável número total de nematoides na parcela.

9 DISCUSSÃO

Aphelenchoides besseyi tem se mostrado um patógeno agressivo e potencialmente danoso em várias regiões produtoras de soja e algodão no Brasil (FAVORETO et al., 2023). As condições ideais para o desenvolvimento da SHV estão presentes nas regiões agrícolas mais ao norte do país, porém esse nematoide está presente em quase todo o território nacional (SYNGENTA, 2023).

Uma das principais estratégias de manejo de patógenos reside no princípio da exclusão, que é evitar sua entrada em áreas indenidas (AGRIOS, 2005). Nematoides têm sua disseminação facilitada pelo transporte de máquinas e implementos agrícolas que carregam solo contaminado de uma área infestada para lavouras saudáveis (FERRAZ; BROWN, 2016). Além disso, *Aphelenchoides* spp. são também disseminadas de maneira eficiente através de sementes infectadas, principalmente de gramíneas que possuem glumas, onde o nematoide consegue se abrigar e sobreviver durante vários anos em anidrobiose (FAVORETO, 2008).

Quando estão protegidos dentro das glumas, geralmente os nematoides desse grupo não são afetados por produtos químicos (FAVORETO, 2008), o que dificulta sobremaneira seu manejo e permite sua introdução em áreas indenidas. Tratamentos que envolvem termoterapia têm apresentado bons resultados para o controle desse nematoide em sementes de gramíneas forrageiras (MARCHI et al., 2007; CORRÊA et al., 2017), porém na prática tais tratamentos mostram-se impraticáveis do ponto de vista operacional e até podem causar a inviabilidade das sementes, caso sejam aplicados de maneira equivocada (CORRÊA et al., 2017).

É sabido que *A. besseyi* consegue sobreviver em sementes de diversas gramíneas, como as braquiárias ou *Panicum* spp. (FAVORETO et al., 2006, 2011; MARCHI et al., 2007; TENENTE, 2003), porém sua associação com outras culturas de cobertura que apresentam a presença de glumas em seu material propagativo, a semente, é pouco estudada. Num dos poucos estudos encontrados na literatura, Calandrelli et al. (2018) afirmaram que a aveia branca é boa hospedeira de *A. besseyi*, porém poucas informações foram apresentadas a respeito da presença do nematoide nas sementes utilizadas como material de propagação.

No presente trabalho, foi possível comprovar que as sementes de aveia e milho podem se infectar com *A. besseyi* e se tornar um agente de disseminação do nematoide. Sem dúvida, as chances de as sementes dessas duas culturas se infectarem com o nematoide em condições de campo são pequenas, pois as sementes necessitam entrar em contato com o nematoide presente no solo para se infectarem. Ao contrário das sementes de braquiária, por exemplo, que são colhidas após sua queda no solo, aveia e milho são colhidas com máquinas, com contato mínimo com o solo, o que reduz as chances de contaminação com o nematoide. Porém, caso isso ocorra, certamente o nematoide conseguirá infectar as sementes de aveia e milho e, dessa forma, tal material propagativo se tornará um meio de disseminação de *A. besseyi*.

Obteve-se infecção artificial das sementes de aveia e milho com *A. besseyi* em números comparáveis aos encontrados em braquiária e *Panicum* spp., portanto, é razoável sugerir cautela com o cultivo dessas plantas em áreas infestadas pelo nematoide para evitar tal contaminação. Marchi et al. (2007) identificaram a presença de *A. besseyi* nas cultivares de *P. maximum* Massai (52 nematoides em 10 g de amostra), Mombaça (57) e Tanzânia (85), além de *B. brizantha* cultivares Marandu (156), Xaraés (91) e Basilisk (73), enquanto no presente trabalho encontramos 10,03 e 10,50 nematoides por semente de aveia e milho, respectivamente.

Em adição à relevância na disseminação desse nematoide pelas sementes dessas espécies vegetais, outro efeito de *A. besseyi* nas plantas de cobertura, que é pouco avaliado, é o efeito direto na produtividade de massa vegetal que pode ocorrer em função do parasitismo desse nematoide. Em sendo hospedeiras, é possível inferir que danos sejam causados na interação planta-nematoide, mesmo que isso não seja facilmente detectável em condições de campo. Ao analisarmos os dados relacionados ao desenvolvimento da parte aérea da aveia e do milho no presente estudo observam-se diferenças significativas em relação às plantas não inoculadas. Verificou-se redução de até 67% do desenvolvimento da parte aérea das plantas de aveia e de 10% nas plantas de milho quando *A. besseyi* estava presente nas sementes dessas culturas e de mais de 20% de redução no volume do sistema radicular de aveia e milho quando o inóculo do nematoide estava presente nas sementes de aveia ou no solo da cultura do milho.

Seguindo-se a recomendação de uma densidade populacional de 350.000 plantas por hectare para a aveia branca, com espaçamento entre linhas de 0,17 m, a formação de palhada esperada é de 4 a 5,8 toneladas por hectare (CASTRO et al., 2012). Trazendo tal informação para os resultados obtidos no presente trabalho, pode-se calcular um valor médio de MFPA por planta de 11,43 a 16,58 g para a cultura da aveia. Considerando-se os diferentes locais em que o nematoide foi inoculado, o desenvolvimento das plantas pode sofrer uma redução que varia de 25% a 87,50%. O mesmo raciocínio pode valer para a cultura do milho, demonstrando que *A. besseyi* tem o potencial de causar redução no desenvolvimento de ambas as culturas, potencializando o problema que esse nematoide representa.

Outro efeito observado no presente estudo é a capacidade de plantas de aveia e milho em multiplicar *A. besseyi*, contribuindo não somente na disseminação e manutenção do nematoide na lavoura, por propiciar ambiente favorável para sua sobrevivência, mas também no seu aumento populacional que incrementará a fonte de inóculo para a cultura subsequente. A aveia já havia sido relatada como boa hospedeira de *A. besseyi* anteriormente. No trabalho de Calandrelli et al. (2018), plantas de aveia inoculadas com populações do nematoide provenientes de soja, algodão e arroz apresentaram uma população final de 423,5, 371 e 10 nematoides por grama de tecido vegetal, respectivamente, sustentando a conclusão de que a aveia é uma boa multiplicadora desse nematoide, como também salientado por Loreto et al. (2023).

No caso do milho, apesar dos menores valores de número de nematoides por grama de tecido vegetal, também foi observada multiplicação de *A. besseyi* no presente trabalho. Sugere-se, portanto, que o milho pode multiplicar as populações de *A. besseyi* presentes no solo e deve ser classificado como boa hospedeira desse nematoide. Entretanto, tal afirmativa contradiz os resultados apresentados por Loreto et al. (2023), que sugerem que o milho não é considerado uma planta hospedeira desse nematoide, e por Andrade et al. (2019), que propõem que o milho pode ser uma opção viável como planta de cobertura em áreas produtoras de soja com histórico da presença da SHV.

Além de ambas as culturas serem consideradas hospedeiras de *A. besseyi* neste trabalho, é crucial destacar a presença desse patógeno nas palhadas dessas plantas como um fato agravante para a cultura subsequente. Diversos estudos ressaltam que a palhada de várias plantas pode servir como meio para possibilitar a sobrevivência desse nematoide durante o período de ausência da cultura de interesse. Um exemplo é o trabalho de Meyer et al. (2017), que avaliaram o potencial de sobrevivência de *A. besseyi* na palhada de *Urochloa ruziziensis* e concluíram que a palhada contaminada pelo nematoide proporcionou a manutenção da população, facilitando assim a infecção da cultura subsequente.

Outro estudo que reforça essa hipótese é o de Andrade et al. (2019), que detectaram a presença de *A. besseyi* na cultura da soja plantada sob sistema de plantio direto com palhada de *Crotalaria juncea*, *U. ruziziensis* e sorgo. Meyer et al. (2015) já haviam destacado a importância do acompanhamento de áreas infestadas por *A. besseyi* e que adotam o sistema de plantio direto. Os autores sugerem que, embora algumas plantas utilizadas no sistema de plantio direto possam não aumentar as densidades populacionais do nematoide, a palhada fornecida por essas plantas pode manter essas populações, prejudicando a cultura que será plantada na sequência.

Além disso, Favoreto; Meyer (2019) destacam que, quando o nematoide está presente na palhada e sua sobrevivência é afetada a ponto de levar à morte do indivíduo, ele inicia um processo chamado anidrobiose. Esse processo confere ao nematoide a capacidade de se manter vivo por longos períodos, tanto em glumas de sementes quanto na própria palhada, facilitando sua disseminação em longas distâncias e sua manutenção na área. A infestação de novos locais na mesma área também pode ser facilitada pelo deslocamento da palhada através do uso de implementos agrícolas e vento.

Embora esses estudos forneçam dados relevantes, e que a presença da palhada tanto do milho quanto da aveia branca auxiliou na manutenção das populações do nematoide em nosso trabalho, é importante ressaltar que isso não desqualifica ou torna o sistema de plantio direto inviável. Na presença do nematoide, são necessários um acompanhamento mais criterioso e o uso de práticas de manejo que visem reduzir a população do patógeno presente na palhada. Portanto, são necessários estudos adicionais para desenvolver estratégias de controle do nematoide na palhada, sem afetar negativamente o sistema de plantio direto.

No presente estudo foi confirmado que as palhadas de milho e aveia levaram ao desenvolvimento da SHV na soja cultivada na sequência. Favoreto et al. (2018) destacaram que o potencial de infecção da cultura de interesse por meio da palhada contaminada está diretamente vinculado ao manejo da palhada. Nesse sentido, mencionaram que alguns estudos têm mostrado boa eficiência com o uso de herbicidas no manejo da palhada, dessecando-se a cultura de cobertura 15 a 30 dias antes do plantio da soja, além do controle adequado de plantas invasoras para reduzir os sintomas no início da cultura da soja.

Considerando essas informações e fazendo referência ao estudo de Meyer et al. (2017), que destaca o alto potencial de desenvolvimento da população de *A. besseyi* nas plantas de *U. ruziziensis*, observa-se que a presença dos resíduos culturais dessas plantas contaminadas sobre o solo (sistema de plantio direto) contribui para a manutenção e sobrevivência desse nematoide na cultura subsequente nas áreas onde ele está presente. No entanto, a remoção dessa palhada resulta em uma redução na população. Andrade et al. (2019) destacaram que a incorporação da palhada no solo pode ser uma prática eficaz no manejo de populações de *A. besseyi* em áreas infestadas.

Como verificado no presente trabalho, as plantas de soja cultivadas em vasos com presença de palhada contaminada apresentaram uma média de 3.893,17 nematoides por planta, enquanto aquelas cultivadas em vasos sem palhada registraram uma média de 2.774,75 nematoides por planta. Isso evidencia a influência direta da presença da palhada na manutenção da população e na eficácia da contaminação subsequente.

Ao compararmos a capacidade de infecção de *A. besseyi* nas plantas de soja cultivadas em vasos com palhada de milho neste estudo, maior que nos vasos com palhada de aveia branca, podemos sugerir que a diferença relacionada à decomposição da palhada entre ambas as culturas pode influenciar de alguma forma. Conforme descrito por Giacomini et al. (2003), a aveia branca possui uma relação carbono/nitrogênio (C/N) de 36,5, enquanto o milho, conforme Teixeira et al. (2009), tem uma relação C/N aproximada de 30,0.

Isso indica que o potencial de decomposição da matéria seca do milho é mais rápido do que o da aveia. Podemos considerar que um dos motivos pelos quais os vasos com palhada de milho apresentaram maior capacidade de contaminação da cultura da soja cultivada na sequência é a rápida decomposição da matéria seca do milho. Em um curto espaço de tempo, o nematoide entra em contato com o solo devido à decomposição dessa matéria seca, facilitando seu retorno do estado de anidrobiose e acelerando o processo de contaminação da cultura da soja. Por outro lado, a decomposição mais lenta da palhada da aveia pode contribuir para uma maior persistência do nematoide na área, que pode permanecer em anidrobiose na palhada, além de não reduzir o potencial de contaminação da cultura subsequente.

Diante dessas informações e ao contemplarmos métodos de manejo para esse nematoide na palhada, é necessário ponderar sobre a eficácia de produtos de controle em palhadas com relação C/N alta, as quais demandam períodos prolongados para decomposição. O uso exclusivo

de produtos de controle imediato pode ter eficácia direta na população de nematoides em plena atividade. No entanto, os nematoides ainda protegidos pela palhada e em estado de anidrose podem não ser controlados de forma eficaz. Ao considerar palhadas com relação C/N baixas, produtos com potencial de eficácia mais vinculado ao residual ou desenvolvimento contínuo ao longo do ano podem apresentar desempenho inferior. Isso porque, até atingirem o auge de controle, os nematoides já terão infestado a cultura subsequente, resultando em redução na produtividade. Portanto, no manejo desse nematoide na palhada, é fundamental não apenas avaliar o desempenho do produto em relação ao nematoide, mas também considerar fatores intrínsecos à palhada, como a relação C/N ou mesmo o volume de calda para melhor permeabilidade na palhada.

É importante avaliar as condições climáticas, a propensão agrícola da região, as culturas de melhor desempenho e aquelas adequadas para diferentes manejos das áreas produtivas na região de maior ocorrência da SHV no Brasil. Meyer et al. (2017) descreveram que a condição climática adequada para esse nematoide está predominantemente presente nos estados do Mato Grosso, Pará, Amapá, Tocantins e Maranhão, que apresentam clima quente e chuvoso. Nesse sentido, os presentes resultados em relação à cultura do milho ganham relevância, pois essa é uma planta bastante utilizada para produção de palhada no sistema de plantio direto nas regiões de ocorrência da SHV (EMBRAPA, 1997). A cultura do milho também é importante no cerrado brasileiro, onde as gramíneas forrageiras têm sido consideradas um grande trunfo para cobertura do solo e disponibilização de nutrientes para a cultura subsequente (SILVA et al., 2006). Destaca-se nesse caso o uso do milho, que se adequa bem em ambientes com baixa nutrição e temperaturas elevadas. No entanto, como ressaltado por Pereira et al. (2003), a melhor época de plantio do milho no cerrado para formação de fitomassa ocorre nos meses de setembro/outubro, que coincide com o início da estação chuvosa (EITEN et al., 1994), o que pode favorecer o desenvolvimento e multiplicação desse nematoide na cultura. Essas condições apresentadas destacam como a recomendação inadequada ou o uso de cultivares não apropriadas podem agravar os problemas. Em adição, tem-se cultivos sob pivô para irrigação, o que pode facilitar a manutenção e multiplicação desse nematoide nas áreas e até criar condições favoráveis ao desenvolvimento da SHV em áreas ainda sem relatos de sua ocorrência.

Ao considerarmos a cultura da aveia branca, predominantemente usada na região sul como uma cultura de rotação de inverno, percebemos sua diversidade de usos, como pastagem de inverno para o gado, consumo humano, gramínea forrageira para ciclagem de nutrientes do solo e cobertura como palhada para o sistema de plantio direto (CBPA, 2006). Segundo Fontaneli et al. (1996), a aveia é uma das culturas mais recomendadas para a formação de forragem nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, devido às condições edafoclimáticas favoráveis para o desenvolvimento pleno. Floss et al. (2007) também afirmam que o uso da aveia branca

pode se estender até o estado de São Paulo, na região de Piracicaba, alcançando altos níveis de rendimento de matéria vegetal e produção de grãos.

Além do estudo de Calandrelli et al. (2018), Favoreto et al. (2019) também indicaram a presença de *A. besseyi* em lavouras de plantas forrageiras, como a aveia branca. Levantamentos populacionais de nematoides recentes mostram a presença de *A. besseyi* em áreas agrícolas de estados brasileiros que não têm relatos da presença da SHV, como o Paraná (SYNGENTA, 2023). Provavelmente, devido às condições climáticas ainda não tão favoráveis ao aparecimento dessa síndrome na região, esse nematoide ainda não seja considerado um problema para esses estados, porém, com as mudanças climáticas cada vez mais intensas, é possível que a área de ocorrência da SHV possa aumentar num futuro próximo.

Conforme verificado no presente trabalho, as plantas de soja cultivadas sempre que o cultivo antecessor recebeu inoculação do nematoide, com ou sem a presença de palhada de ambas as culturas, apresentaram os sintomas característicos da síndrome da haste verde e retenção foliar, como afilamento e embolhamento do limbo foliar, engrossamento das nervuras de folhas mais novas e lesões necróticas marrons, conforme descrito por Meyer et al. (2017). O desenvolvimento das plantas de soja foi reduzido com a presença do nematoide em comparação com a testemunha.

Os resultados obtidos no presente trabalho são de suma importância para o entendimento do sistema produtivo que pode envolver a síndrome da haste verde e retenção foliar. As implicações de cultivar-se plantas hospedeiras de *A. besseyi*, bem como a permanência da palhada desses cultivos e a intensidade do desenvolvimento de sintomas na soja cultivada na sequência foram reveladas. Embora em condições experimentais de casa de vegetação, o presente estudo traz informações que podem ser extrapoladas para lavouras infestadas, visando-se reduzir os danos causados pelo nematoide a partir da antecipação da adoção de estratégias específicas de manejo para evitar o problema. Em adição, os resultados como um todo trazem muitos questionamentos e levantam hipóteses que devem ser melhor investigadas, evidenciando que, quanto mais avançamos no entendimento da SHV, mais linhas de pesquisa podem ser abertas para avançarmos também no desenvolvimento de estratégias de manejo que tragam melhoria das produtividades em áreas infestadas por *A. besseyi*.

10 CONCLUSÕES

As sementes sadias que apresentam glumas, em contato com solo infestado por *A. besseyi*, podem se contaminar e se tornar um método de disseminação desse nematoide. Dessa forma, a avaliação de lotes de sementes para comercialização é de extrema importância para que não haja a contaminação de áreas indenas.

A inoculação em diferentes partes da planta demonstrou eficácia, uma vez que a população de *A. besseyi* sofreu incrementos em todos os métodos de inoculação. Isso sugere que a contaminação por *A. besseyi* pode ocorrer em qualquer estágio produtivo das plantas forrageiras, tornando-as um problema em áreas infestadas.

Observou-se que as palhadas de aveia e de milho contribuíram para a manutenção da população de *A. besseyi* para a cultura da soja cultivada na sequência. No entanto, a ausência de palhada reduziu a densidade de nematoides presente nos vasos.

Os sintomas da SHV foram evidentes nas plantas de soja, em ambas as culturas e na presença ou ausência de palhada. Isso confirma que, mesmo com menores populações, os danos causados por *A. besseyi* podem aparecer na cultura da soja, sugerindo ser essa síndrome mais relacionada com aspectos fisiológicos causados pelo nematoide nas plantas e menos uma questão relacionada ao parasitismo direto.

Pode-se afirmar, portanto, que tanto a cultura da aveia quanto a do milho são suscetíveis a *A. besseyi* e permitem a multiplicação e manutenção desse nematoide nas áreas infestadas. Dessa forma, não podem ser recomendadas como plantas para manejo integrado desse nematoide. Além disso, é crucial realizar o acompanhamento de áreas com a presença desse patógeno, pois a palhada pode desempenhar um papel importante na sobrevivência e manutenção do nematoide, sendo um elemento a ser considerado no manejo dessa espécie.

11 REFERÊNCIAS

- ANDRADE, D. F. M.; MOREIRA, A.; MEYER, M. C.; FAVORETO, L.; LORETO, R. B.; FRANÇA, P. P.; SILVA, S. A. Avaliação quantitativa de *Aphelenchoides besseyi* na cultura da soja em resposta a diferentes coberturas de solo e controles químico e biológico. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA**, 36., 2019. Caldas Novas. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2019.
- BERNARDINO, F.S.; GARCIA, R. Sistemas silvipastoris. **Pesquisa Florestal Brasileira**, n. 60, p. 77-87, 2009.
- BONETTI, J. I. S; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, DF, v.6, n.3, p.553, 1981.
- BRIDGE, J.; PLOWRIGHT, R.A.; PENG, D. Nematode parasites of rice. In: **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford UK: Cabi Publishing, 2005. p. 87-130.
- BUENO, E.R.V.; PRATES, M.; TENENTE, R.C.V. Avaliação de métodos tradicionais de extração de nematóides aplicados a sementes de *Panicum maximum* infestadas por *Aphelenchoides besseyi*. **Nematologia Brasileira**, v.26, p.213-217, 2002.
- BYRD, D.W., T. KIRPATRICK; K.R. BARKER. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v. 15, p. 142-143, 1983.
- CALANDRELLI, A et al. Hospedabilidade de arroz e aveia branca a populações de *Aphelenchoides besseyi*. **Jornada Acadêmica da Embrapa Soja**, 13, 223–228, 2018.
- CALANDRELLI, A. et al. Host-parasite relationship between *Aphelenchoides besseyi* and soybean. **Nematology**, v. 25, n. 1, p. 33-44, 2022.
- CASTRO, G. S. A.; COSTA, C. H. M.; NETO, J. F. Ecofisiologia da aveia branca. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 11, n. 3, p. 1-15, 2012.
- CHENG, Xi et al. Molecular characterization and functions of fatty acid and retinoid binding protein gene (Ab-far-1) in *Aphelenchoides besseyi*. **PLoS One**, v. 8, n. 6, p. e66011, 2013.
- CHRISTIE, J. R. et al. A description of *Aphelenchoides besseyi* n. sp., the summer-dwarf nematode of strawberries, with comments on the identity of *Aphelenchoides subtenuis* (Cobb, 1926) and *Aphelenchoides hodsoni* Goodey, 1935. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 9, p. 82-4, 1942.
- COMISSÃO BRASILEIRA DE PESQUISA DE AVEIA – CBPA. Indicações técnicas para a cultura da aveia. Guarapuava: **Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária**, 2006. 82 p.

CORRÊA, B. O. et al. PATÓGENOS EM SEMENTES DE ESPÉCIES FORRAGEIRAS. **Reitoria da Universidade Anhanguera Uniderp**, v. 4, p. 44, 2017.

CURI, S. M.; DA SILVEIRA, S. G. P.; RODRIGUES, SM NETTO. Nematóides associados à aveia preta (*Avena strigosa*), no estado do Paraná. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 58, n. 1-2, p. 63-64, 1991.

DE ALMEIDA, M. C. R. et al. Produção de milho e leguminosas em sistemas consorciados para regiões semiáridas. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 3, p. e5712340407-e5712340407, 2023.

DE JESUS, D. S. et al. Morphological and molecular characterisation of *Aphelenchoides besseyi* and *A. fujianensis* (Nematoda: Aphelenchoididae) from rice and forage grass seeds in Brazil. **Nematology**, v. 18, n. 3, p. 337-356, 2016.

DE SÁ AMOEDO, P.; GUIMARÃES, C. P.; VIEIRA, H. D. Efeito de *Aphelenchoides besseyi* na germinação de sementes e desenvolvimento de *Brachiaria brizantha*. **Confict**, 2014.

DEMINICIS, B. B. et al. Adubação nitrogenada, potássica e fosfatada na produção e germinação de sementes de capim quicuío-da-amazônia. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 32, p. 59-65, 2010.

DUNCAN, L. W.; MOENS, Maurice. Migratory endoparasitic nematodes. In: **Plant nematology**. Wallingford UK: CABI, 2013. p. 144-178.

EITEN, G. et al. Vegetação do cerrado. **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**, v. 2, p. 17-73, 1994.

ESCUER, M.; PÉREZ, A. B. Nematodos del género *Aphelenchoides* de interés fitopatológico y su distribución en España. **Boletín de sanidad vegetal. Plagas**, v. 26, n. 1, p. 47-64, 2000.

FAVORETO, L. **Estudo de nematóides em sementes de gramíneas forrageiras**. 2004. 43p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FAVORETO, L. et al. Diagnose e manejo de fitonematoides na cultura da soja. **Informe Agropecuário**, v. 40, n. 306, p. 18-29, 2019.

FAVORETO, L. et al. Diagnose e manejo de fitonematoides na cultura da soja. **Informe Agropecuário**, v. 40, n. 306, p. 18-29, 2019.

FAVORETO, L. et al. Estudo fitossanitário, multiplicação e taxonomia de nematoides encontrados em sementes de gramíneas forrageiras no Brasil. **Nematologia Brasileira**, p. 20-35, 2011.

FAVORETO, L. et al. First report of *Aphelenchoides besseyi* infecting the aerial part of cotton plants in Brazil. **Plant Disease**, v. 102, p. 2662, 2018.

FAVORETO, L. **Estudo de nematóides em sementes de gramíneas forrageiras** 2004. 43p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

FAVORETO, L.; MEYER, M. C. Desvendando a Soja Louca II. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA**. 2019. p. 143-144.

FAVORETO, L.; MEYER, M. C. Diagnose, hospedeiros e manejo de *Aphelenchoides besseyi*. In: **Brazilian Congress of Nematology. Nematology: emerging problems and management strategies**. Annals. Pelotas: Brazilian Society of Nematology. 2018.

FAVORETO, L.; MEYER, M. C. O nematoide da haste verde. **Circular Técnica Embrapa Soja**, 147, 2019.

FAVORETO, L.; MEYER, M.C.; CALANDRELLI, A.; SILVA, M.C.M. DA. Patogenicidade do nematoide da haste verde da soja em feijoeiro comum. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA**, 50., 2017, Uberlândia. Anais eletrônicos. Brasília: SBF, 2017.

FAVORETO, L.; SANTOS, J.M. dos; CALZAVARA, S.A.; BARBOSA, J.C. Avaliação comparativa de métodos para extração de nematóides de sementes de gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, v.30, p.71-74, 2006.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. Nematologia de plantas: fundamentos e importância. **Manaus, AM: Norma Editor**, v. 1, p. 167-171, 2016.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F.; (org.). Nematologia de plantas: fundamentos e importância. Campos dos Goytacazes: SBN, [2016]. 250p. acesso em 06 de junho de 2022.

FORTUNER, R. On the Morphology of *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942 and *A. siddiqii* n.sp. (Nematoda, Aphelenchoidea). **Journal of Helminthology**, v. 44, n. 2, p. 141–152, 1970.

FORTUNER, R.; K.J.O. WILLIAMS. Review of the literature on *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942, the nematode causing white tip disease of rice. **Helminthological Abstracts**, v. 44, p. 1-40, 1975.

GARCIA, J.W.; TENENTE, R.C.V.; MENDES, M.A.S. Termoterapia Aplicada às Sementes de *Panicum maximum* na Erradicação de *Aphelenchoides besseyi* e Fungos Fitopatogênicos. **Nematologia Brasileira**, v. 24, p. 41-47, 2000.

GIACOMINI, S. J. et al. Matéria seca, relação C/N e acúmulo de nitrogênio, fósforo e potássio em misturas de plantas de cobertura de solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 27, p. 325-334, 2003.

GIOMETTI, F. H. C. et al. Virulência de nematóides entomopatogênicos (Nematoda: Rhabditida) a *Sphenophorus levis* (Coleoptera: Curculionidae). **Bragantia**, v. 70, p. 81-86, 2011.

GOKTE, NANDINI; MATHUR, V. K. Treatment schedule for denematization of seeds of *Setaria italica* and *Panicum miliaceum* infested with *Aphelenchoides besseyi*. **Nematologica**, v. 39, n. 2, p. 274-276, 1993.

GOMES, D. P. et al. Qualidades Física, Fisiológica e Sanitária de Sementes de Capim Tanzânia e Capim Quicuiu. **Cadernos de Agroecologia**, v. 17, n. 2, 2022.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004.

GUZMÁN-PIEDRAHITA, O. A. et al. First report of foliar nematode (*Aphelenchoides pseudobesseyi*) on soybean in Colombia. **Plant Disease**, 2023. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-23-1117-PDN>

HAWERROTH M. C. et al. Redução do acamamento em aveia-branca com uso do regulador de crescimento etil-trinexapac. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.50, n.2, p.115-125, 2015.

HOCKLAND, S. *Aphelenchoides besseyi*. **EPPO Bulletin**, v. 34, n. 2, p. 303-308, 2004.

HUANG, C. S.; HUANG, S. P.; CHIANG, Y. C. Mode of reproduction and sex ratio of rice white-tip nematode, *Aphelenchoides besseyi*. **Nematologica**, v. 25, n. 2, p. 255-260, 1979.

JAGDALE, G. B.; GREWAL, P. S. Infection behavior and overwintering survival of foliar nematodes, *Aphelenchoides fragariae*, on hosta. **Journal of Nematology**, v. 38, n. 1, p. 130, 2006.

JESUS, D. S.; CARES, J. E. Gênero *Aphelenchoides*. **Diagnose de Fitonematoides**, p. 99-118, 2016.

JI, H. et al. Complete genome sequencing of nematode *Aphelenchoides besseyi*, an economically important pest causing rice white-tip disease. **Phytopathology Research**, v. 5, n. 1, pág. 1-13, 2023.

JONES, J. T. et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 14, n. 9, p. 946-961, 2013.

LIMA, M. L. M. FERNANDES, J. J RESENDE, CARVALHO, E. R. SANTOS, S. C. ROCHA, F. M. Substituição do milho triturado por casca de soja em dietas para vacas mestiças em lactação. **Ciência Animal Brasileira**, Vol. 10 n° 4 – 2009

LORDELLO, LGE. Nematóides parasitos de folhas (Gênero: *Aphelenchoides*). **Nematóides das Plantas Cultivadas**, Livraria Nobel SP, p. 202-206, 1981.

LORETO, R. B.; FAVORETO, L.; MEYER, M. C. **Curso de Atualização no Cultivo da Soja: IDENTIFICAÇÃO E MANEJO DO NEMATOIDE DA HASTE VERDE (*Aphelenchoides besseyi*) EM SOJA**. Embrapa Soja. Embrapa Soja. 20 nov. 2023. power

point. 46 slides. Color. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/>. Acesso em: 10 jan. 2024.

LUCCA-FILHO, O.A.; PORTO, M.D.M.; MAIA, M.S. Fungos em sementes de azevé manual (*Lolium multiflorum* Lam) e seus efeitos no estabelecimento da pastagem. **Revista Brasileira de Sementes**, v.21, n.2, p.142-147, 1999.

MACHADO, A.C.Z.; SILVA, S.A.; FERRAZ, L. C. C. B. **Métodos em Nematologia Agrícola**. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, p. 184, 2019.

MARCANTE, N.C. et al. Teores de nutrientes no milho como cobertura de solo. **Bioscience Journal**, v. 27, p. 196-204, 2011.

MARCHI, C. E. et al. Nematofauna fitopatogênica de sementes comerciais de forrageiras tropicais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 655-660, 2007.

MARTINS, L.; SILVA, W. R. D. Comportamento da dormência em sementes de braquiária submetidas a tratamentos térmicos e químicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 7, p. 997-1003, 2001.

MENTEN, J.O.M.; MORAES, M.H.D. Sanidade das sementes previne doenças. **Visão Agrícola**, v. 3, n. 6, p. 41-43, 2006.

MEYER, M. C.; FAVORETO, L.; CALANDRELLI, A.; SILVA, M. C. M. da. Efeito da palhada de braquiária em cobertura de solo, na sobrevivência de *Aphelenchoides besseyi*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 50., 2017, Uberlândia. **Do manejo à edição do genoma: resumos**. Brasília, DF: SBF, 2017b.

MEYER, M. C.; KLEPKER, D. Efeito do manejo de solo e sistemas de cultivo na incidência de Soja Louca II. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 48., 2015. São Pedro. **Anais...** Brasília, DF: Embrapa, 2015.

MEYER, Maurício C. et al. Soybean green stem and foliar retention syndrome caused by *Aphelenchoides besseyi*. **Tropical Plant Pathology**, v. 42, p. 403-409, 2017.

MINAS, R. S. Caracterização biológica de uma linhagem de nematoide entomopatogênico visando o controle do gorgulho da goiaba (*Conotrachelus psidii*) em dois sistemas de cultivo. **Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Brazil**, 2012.

MOBASSERI, M.; POURJAM, E.; PEDRAM, M. Morphological and molecular characterisation of *Aphelenchoides primadentus* n. sp. (Nematoda: Aphelenchoididae) from northern Iran. **Nematology**, v. 20, n. 2, p. 97-109, 2018.

MONTEIRO, T. S. A. et al. Inoculum reduction of *Aphelenchoides besseyi* in *Brachiaria brizantha* seeds treated with essential oils. **Ciência Rural**, v. 44, n. 7, p. 1149-1155, 2014.

MORAL, R.A.; HINDE, J.; DEMETRIO, C.G.B. **hnp: Half-normal plots with simulation envelopes**. R package version 1.2-3. 2017. <https://CRAN.R-project.org/package=hnp>.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: The Macmillan, 1979. v.1, 839p.

NUNES, G. S. et al. Overcoming dormancy in seeds of grass of the genus *Brachiaria*. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 4, p. 25575-25586, 2022.

OLIVEIRA, C. M. G. https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4152777/mod_resource/content/1/Aula12_Aphelenchoides_Quarentena.pdf

PEREIRA FILHO, I. A. et al. Manejo da cultura do milho. Sete Lagoas, MG: Empresa brasileira de pesquisa agropecuária – **EMBRAPA-CNPMS**. (Circular Técnica, 28), 2003.

PERRY, R. N.; MOENS, M. (Ed.). **Plant Nematology**. Cabi, 2013.

PESKE, S. T.; VILLELA, F. A.; MENEGHELLO, G. E. Sementes: fundamentos científicos e tecnológicos. **Pelotas: UFPel**, 2012.

PINHEIRO, J.; BATES, D.; DEBROY, S.; SARKAR, D.; R CORE TEAM. **nlme: linear and nonlinear mixed effects models**. 2017. R package version 3.1-131. Available at: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>.

PITOL, C. A cultura da aveia no Mato Grosso do Sul. Cotrijuí-CTC, 34 p. **Boletim técnico**, v. 2, 1988.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. AGIPLAN. Brasília, 289p. 1985.

RANULFI, A. C. et al. Nutritional characterization of healthy and *Aphelenchoides besseyi* infected soybean leaves by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). **Microchemical Journal**, v. 141, p. 118-126, 2018.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BIANCHIN, V. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 85-91, 2011.

ROSSETTI, C. et al. Padrões sanitários em sementes. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 7, p. e4711726719-e4711726719, 2022.

SHARMA, R. D.; CAVALCANTI, M.; VALENTIN, J. F. Nematóides associados ao capim-marandu no Estado do Acre. **Comunicado Técnico**, 46, n. 46, p. 1-4, 2001.

SILVA, E. C. da et al. Aproveitamento do nitrogênio (¹⁵N) da crotalária e do milho pelo milho sob plantio direto em Latossolo Vermelho de Cerrado. **Ciência Rural**, v. 36, p. 739-746, 2006.

SILVA, M. A. et al. Sistema de plantio direto e rotação de culturas no Cerrado. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, e376111335568, 2022.

SOUSA, A. I.; GOMES, V. F.; TENENTE, R. C. V. Tratamento físico aplicado às sementes de melão (*Cucumis melo* L.), importadas da Holanda, na erradicação de *Ditylenchus dipsaci* (Khun, 1857) Filipjev, 1936. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 223-225, 2003.

SOUZA, F.H.D. Produção e comercialização de sementes de plantas forrageiras tropicais no Brasil. In: **SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS**, 2, 2001, Lavras - MG. Anais... Lavras: Núcleo de Estudos em Forragicultura, UFLA, 2001. v. único. 282p.

SUBBOTIN, S. A. et al. The taxonomic status of *Aphelenchoides besseyi* Christie, 1942 (Nematoda: Aphelenchoididae) populations from the southeastern USA, and description of *Aphelenchoides pseudobesseyi* sp. n. **Nematology**, v. 23, n. 4, p. 381-413, 2020.

TEIXEIRA, C. M. et al. Decomposição e liberação de nutrientes das palhadas de milheto e milheto+ crotalária no plantio direto do feijoeiro. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, p. 647-653, 2009.

TENENTE, R.C.V. et al. Techniques to eradicate *Aphelenchoides besseyi* Christie (1942) from infested *Brachiaria brizantha* seeds. **Nematologia Brasileira**, v. 30, p. 239-244, 2006.

TERRA-LOPES, M. L.; CARVALHO, P. C. F.; ANGHINONI, I.; SANTOS, D.T., AGUINAGA, A. A. Q.; FLORES. Sistema de integração lavoura-pecuária: efeito do manejo da altura em pastagem de aveia preta e azevém anual sobre o rendimento da cultura da soja. **Ciência Rural**, n.39, p.1499-1506, 2009.

TERRES, A. L. S. et al. Melhoramento genético e cultivares de arroz irrigado. **Arroz irrigado no Sul do Brasil. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica**, p. 161-235, 2004.

TIMOSSI, P. C.; DURIGAN, J. C.; LEITE, G. J. Formação de palhada por braquiárias para adoção do sistema plantio direto. **Bragantia**, Campinas, v. 66, n. 4, p. 617-622, 2007.

TIWARI, S. P. et al. White tip caused by *Aphelenchoides besseyi*, an important seed-borne disease of rice. **Advances in Nematology**, p. 103-114, 2003.

VASCONCELOS, S. E.; REIS, S. M. Análise não-paramétrica da sanidade de sementes e índices de eliminação e classificação de genótipos de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, 2018.

VENABLES, W.N.; RIPLEY, B.D. **Modern applied statistics with R**. 4th edition. New York, NY, USA, Springer, 2002.

WANG, F. et al. Transcriptomic analysis of the rice white tip nematode, *Aphelenchoides besseyi* (Nematoda: Aphelenchoididae). **PloS One**, v. 9, n. 3, p. e91591, 2014.