



INDUTORES DE RESISTÊNCIA E ESTIMULADORES DE CRESCIMENTO VEGETAL NO CONTROLE DO NEMATOIDE DAS GALHAS EM SOJA

RESISTANCE INDUCERS AND PLANT GROWTH STIMULATORS ON ROOT-KNOT NEMATODES CONTROL IN SOYBEAN

Artigo
Completo

Michelly Ragazzi Cardoso^{1*}
Ana Paula Mendes Lopes¹
Angélica Miamoto¹
Heriksen Higashi Puerari²
Claudia Regina Dias Arieira¹

¹Departamento de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, Paraná. *E-mail: miraqazzi@hotmail.com

²Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná.

RESUMO

Os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp., ocasionam, anualmente, perdas significativas na produtividade de soja. O uso de métodos alternativos para controle se faz necessário, a fim de minimizar os prejuízos ocasionados. Assim, o trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de indutores de resistência e de estimuladores de crescimento vegetal no controle de *Meloidogyne javanica* em soja, sob dois níveis de inóculo inicial. Para isso, semeou-se soja em vasos de 2 L, contendo solo previamente autoclavado e, quinze dias após a emergência, inoculou-se 1000 ou 5000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* por vaso, sendo a parte aérea tratada com acibenzolar-s-metil (ASM), EcolifeB®, Stimulate®, silicato de potássio e fosfito de potássio, via pulverização foliar. Plantas não tratadas, inoculadas e não inoculadas, foram usadas como testemunhas. Após 50 dias, parâmetros vegetativos e nematológicos foram avaliados. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições. Observou-se que sob baixa população inicial (Pi= 1000 ovos+J2), os tratamentos ASM, EcolifeB® e Stimulate® reduziram o número total de ovos, mas não houve diferença entre os tratamentos quando se inoculou 5000 ovos+J2. Os parâmetros vegetativos da soja não foram afetados, independente dos indutores e estimuladores utilizados.

Palavra-chave: Fosfito; indução de resistência; manejo; silicato.

ABSTRACT

Annually, root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., cause significant losses on soybean yield. Use of alternative methods is necessary to pathogen control. Therefore, this study aimed to evaluate the application of resistance inducers and growth promoters to *Meloidogyne javanica* control on soybean, in two initial inoculum levels. For this purpose, soybean seeds were sown in 2 L pots, containing autoclaved soil. Fifteen days after the emergency, each pot was inoculated with 1000 or 5000 eggs and eventual juveniles of second stage (J2) of *M. javanica*. The seedling shoots were sprayed with acibenzolar-s-metil (ASM), EcolifeB®, Stimulate®, potassium silicate and potassium phosphite. Untreated plants, inoculated and

uninoculated, were used as controls. The experiment was conducted in completely randomized design, with six replications. After 50 days, vegetative and nematological parameters were evaluated. It was observed that under low initial population (1000 eggs+J2) the treatments with ASM, EcolifeB®, and Stimulate® reduced the total number of eggs. However, there was no difference among treatments when inoculated with 5000 eggs+J2. Soybean vegetative parameters were not affected regardless of treatment.

Key Words: Phosphite; management; resistance inducers; silicate.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merr.) é uma cultura de alto valor comercial, que requer cuidados fitossanitários constantes para garantir maior rendimento na colheita. Dentre os fatores que contribuem para a redução da produtividade, destaca-se a incidência dos nematoides das galhas, principalmente *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood, que se encontra presente em diversas regiões de cultivo do país, possui fácil disseminação e ampla gama de hospedeiros (DIAS et al., 2010).

A formação de galhas no sistema radicular do hospedeiro é o principal sintoma destes patógenos, e elas ocorrem devido à hipertrofia e hiperplasia das células no sítio de alimentação das fêmeas (BRASS et al., 2008). Como sintoma reflexo, observam-se reboleiras com plantas de crescimento reduzido, amarelhecimento e redução na produtividade (DIAS et al., 2010).

O manejo desse parasita é complexo, sendo a rotação e/ou sucessão de culturas com plantas não hospedeiras ou antagonistas e o cultivo de variedades resistentes as principais medidas indicadas (DIAS et al., 2010). Porém, nenhum dos métodos, quando adotado isoladamente, é eficaz na redução das populações à campo, sendo necessária a busca por práticas alternativas e conjuntas que auxiliem na redução desses agentes.

Nesse contexto, o uso de indutores de resistência e estimuladores de crescimento vegetal tem sido investigado para compor o sistema de manejo integrado de nematoides e ambos os métodos têm apresentando resultados promissores em culturas como tomate, cana-de-

açúcar soja e milho (SILVA et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2010; DIAS-ARIEIRA et al., 2012; PUERARI et al., 2013a; PUERARI et al., 2015).

A indução de resistência pode ser classificada como Resistência Sistêmica Induzida (RSI), quando é ativada por microrganismos não patogênicos e tem como substância relacionada à defesa das plantas o ácido jasmônico e o etileno, ou Resistência Sistêmica Adquirida (RSA), desencadeada por indutores abióticos e/ou quando há interação planta-patógeno e é mediada pelo ácido salicílico (HENRY et al., 2012; THAKUR; SOHAL, 2013). Dentre os indutores abióticos, o acibenzolar-s-metil, comumente conhecido como ASM, tem sido o mais pesquisado e seu potencial para o controle dos nematoides das galhas foi confirmado em diferentes patossistemas (OWEN et al., 2002; CHINNASRI et al., 2003; SILVA et al., 2002; MOLINARI; BASER, 2010; PUERARI et al., 2013b).

Além dos indutores de resistência, os produtos fitoestimulantes têm ganhado mercado entre os produtores de soja e há relatos de que alguns deles, como o Stimulate® e fosfito de manganês, possam aumentar o potencial de proteção da planta frente aos nematoides fitoparasitas (DIAS-ARIEIRA et al., 2012; PUERARI et al., 2013a).

Apesar desses resultados, estudos com a aplicação de diferentes produtos em patossistemas envolvendo indução de resistência de plantas contra nematoides são limitados. Desse modo, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de diferentes indutores de resistência e estimuladores de crescimento vegetal no controle de *M. javanica* em soja.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação na Universidade Estadual de Maringá, Campus Regional de Umuarama, Paraná, entre os meses de janeiro a março/2015, em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e seis repetições. Para isso, cinco sementes de soja SYN 1363, sem qualquer tratamento químico ou biológico, foram semeadas em vasos com capacidade de 2 L, contendo solo arenoso (areia 84,20%, argila 1,15% e silte 14,65%), previamente autoclavado (120°C por 2h), corrigido com 1,82 g de calcário e adubado com 0,68 g de formulado NPK 02-16-06 e 0,07 g de KCl por vaso.

Após 15 dias da germinação, realizou-se o desbaste, deixando uma plântula por vaso. No mesmo dia, as plantas foram tratadas, separadamente, via pulverização foliar com os seguintes produtos e doses recomendadas pelo fabricante, convertidas para aplicação em vaso: fosfito de potássio (Ultra K, 18% de fosfito de potássio) - 1,7 mL L⁻¹; silicato de potássio (Silifort, 10% de Silício e 10% de K₂O) - 5 mL L⁻¹; acibenzolar-s-metil (Bion[®], ASM 500 g Kg⁻¹) - 0,05 g L⁻¹; Stimulate[®] (composto por cinetina, 0,09 g L⁻¹, ácido giberélico, 0,05 g L⁻¹, e ácido 4-indol-3-ilbutírico, 0,05 g L⁻¹) - 1,7 mL L⁻¹; e EcolifeB[®] (fertilizante organomineral Classe A, contendo 108,3 g L⁻¹ de carbono orgânico total e 1,71 g L⁻¹ de boro solúvel em água) - 1,7 mL L⁻¹.

Imediatamente após os tratamentos, as plantas foram inoculadas com dois níveis populacionais de *M. javanica*, correspondendo à população inicial (Pi), sendo de 1000 e 5000 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J2) por vaso, distribuídos em um volume de solução de 2 e 5 mL, respectivamente. A suspensão contendo nematoide foi depositada em três orifícios abertos no solo ao redor do colo da plântula, com profundidade de 3 cm. O inóculo foi obtido de uma população pura, mantida em soja, em casa de vegetação, sendo extraídos das raízes conforme o método proposto por Hussey e

Barker (1973), adaptado por Boneti e Ferraz (1981). Plantas não tratadas, inoculadas e não inoculadas com *M. javanica*, foram utilizadas como testemunhas. As plantas foram irrigadas diariamente, de forma manual.

Após 50 dias da inoculação, as plantas foram coletadas e a parte aérea separada do sistema radicular. Foi avaliada a altura das plantas, massa seca da parte aérea e massa fresca de raiz. Para obtenção da massa seca, a parte aérea foi depositada em sacos de papel e mantida em estufa de secagem por circulação forçada a 65 °C, até o peso constante. O sistema radicular foi lavado e colocado sobre papel absorvente para eliminação do excesso de água. Em seguida, foi determinada a massa fresca da raiz e, posteriormente, aferido o número de galhas por sistema radicular. Após a avaliação das galhas, o sistema radicular foi submetido à extração já citada anteriormente e verificado o número total de ovos + J2 por sistema radicular, sob microscópio óptico, utilizando câmara de Peters. O número total de ovos por sistema radicular foi dividido pela massa da raiz, obtendo-se o número de ovos por grama de raiz.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância a 5% de probabilidade de erro e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao mesmo nível de significância. Para análise dos dados nematológicos, os valores originais foram transformados por $\sqrt{x+1}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para ambas as populações iniciais de *M. javanica*, o número de galha não foi reduzido independente do tratamento utilizado (Tabela 1). Na Pi igual a 1000 ovos + J2, o número final total de ovos foi menor nos tratamentos com Acibenzolar-S-Metil, Stimulate[®] e EcolifeB[®] se comparados à testemunha. A aplicação de Stimulate[®] reduziu o número de ovos por grama de raiz diferindo da testemunha, do EcolifeB[®] e do fosfito de potássio. Para a Pi de 5000 ovos + J2,

os parâmetros nematológicos não foram afetados (Tabela 1).

TABELA 1. Número de galhas, total de ovos e número de ovos por grama de raiz (g^{-1}) de *Meloidogyne javanica* em soja, sob diferentes populações iniciais (Pi= 1000 e Pi= 5000 ovos + J2)

Tratamento	Pi = 1000 ovos+J2			Pi = 5000 ovos+J2		
	Galhas	Total ovos	Ovos g^{-1} raiz	Galhas	Total ovos	Ovos g^{-1} raiz
Testemunha inoculada	32 ^{ns}	2262 a	320 a	111 ^{ns}	5200 ^{ns}	677 ^{ns}
Acibenzolar-S-Metil	29	914 b	216 ab	77	6486	839
Stimulate [®]	27	702 b	136 b	97	6940	1274
EcolifeB [®]	22	1090 b	364 a	118	8530	1321
Silicato de potássio	44	1456 ab	187 ab	62	4492	625
Fosfito de potássio	39	3006 a	421 a	82	5440	877
CV(%)	12,8	21,6	19,6	17,2	22,7	20,2

ns= não significativo. Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Para análise, os dados originais foram transformados pela $\sqrt{x+1}$.

Os dados obtidos para acibenzolar-S-metil sob a população de 1000 ovos + J2 de *M. javanica* corroboram com trabalhos anteriores envolvendo nematoides das galhas, nos quais a aplicação do indutor reduziu a população de *M. javanica* em soja (CHINNASRI et al., 2003; PUERARI et al., 2013b) e em cana-de-açúcar (GUIMARÃES et al., 2010), *M. javanica* e *M. arenaria* (Neal) Chitwood em videira (OWEN et al., 2002) e *M. incognita* (Kofoid & White) Chitwood em tomateiro (SILVA et al., 2002; MOLINARI; BASER, 2010). O produto também foi eficiente no controle de *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev e Schuurmans Stekhoven no milho (PUERARI et al., 2015). Em algumas plantas, a eficiência do ASM está relacionada ao aumento de β 1-3 glucanases nas raízes das plantas tratadas (OWEN et al., 2002), sendo o produto considerado um indutor de resistência por ativar a RSA (THAKUR; SOHAL, 2013).

Quanto ao Stimulate[®], trabalhos anteriores mostraram que o produto foi eficiente em controlar *P. brachyurus* em soja e milho (DIAS-ARIEIRA et al., 2012). O fato de o produto acelerar o crescimento vegetal (CASTRO et al., 1998) pode ter interferido indiretamente na movimentação e reprodução do nematoide. Porém, seu modo de ação precisa ser investigado em trabalhos futuros.

O potencial do EcolifeB[®] para o controle de nematoides foi anteriormente comprovado nas pesquisas com *M. javanica* em soja (PUERARI et al., 2013a) e *P. brachyurus* em milho (PUERARI et al., 2015). Puerari et al. (2015) apontaram a biomassa cítrica que o compõe como um dos possíveis responsáveis pelo efeito, visto que extratos cítricos promoveram a produção da gliceolina em soja (MOTOYAMA et al., 2003), sendo essa fitoalexina responsável por induzir resistência à cultura contra *M. incognita* e *M. javanica* (KAPLAN et al., 1980).

O silicato de potássio e o fosfito de potássio não possibilitaram o controle de *M. javanica* no presente estudo, mas trata-se de produtos com resultados promissores para o manejo de nematoides em outras culturas, como cana-de-açúcar e milho (GUIMARÃES et al., 2008; GUIMARÃES et al., 2010; DIAS-ARIEIRA et al., 2012). Assim, para ambos os produtos, estudos adicionais de dosagens, solubilidade, época de aplicação e modo de ação precisam ser realizados.

Independente da população inicial, os tratamentos não interferiram no desenvolvimento da soja, se comparados com ambas as testemunhas (Tabela 2). Em geral, o uso de indutores não afeta o desenvolvimento vegetativo da planta, como foi observado para acibenzolar-S-metil no patossistema *P.*

brachyurus-milho (PUERARI et al., 2015), EcolifeB® para *M. javanica*-soja (PUERARI et al., 2013a) e silicato de potássio para *M. incognita*-cana-de-açúcar (GUIMARÃES et al., 2008). Stimulate® e fosfito de potássio também não promoveram aumento na altura de milho e soja inoculados com *P. brachyurus*, durante o outono, período do ano menos favorável para o desenvolvimento dessas plantas (DIAS-ARIEIRA et al., 2012).

Apesar do Stimulate® ser um biorregulador de crescimento vegetal (CASTRO et al., 1998), é possível que no espaço delimitado nos experimentos em vaso, a planta não consiga expressar seu potencial. Além disso, diferentes formas e épocas de aplicação do produto podem ser testadas para verificar seu efeito no crescimento e desenvolvimento das plantas.

TABELA 2. Parâmetros vegetativos da soja, sob diferentes populações iniciais de *Meloidogyne javanica* (Pi= 1000 e Pi= 5000 ovos + J2)

Tratamento	Pi = 1000 ovos+J2			Pi = 5000 ovos+J2		
	MSPA (g)	Altura (cm)	MFR (g)	MSPA (g)	Altura (cm)	MFR (g)
Testemunha não inoculada	1,54 ^{ns}	31,3 ^{ns}	7,3 ^{ns}	2,5 ^{ns}	33,4 ^{ns}	9,5 ^{ns}
Testemunha inoculada	1,83	35,3	6,9	1,6	32,0	8,1
Acibenzolar-S-Metil	1,72	31,2	5,2	1,4	31,7	7,9
Stimulate®	1,55	31,4	5,0	1,4	30,2	6,4
EcolifeB®	1,95	39,1	4,0	1,3	27,4	8,6
Silicato de Potássio	1,84	33,6	8,1	1,2	30,5	7,2
Fosfito de Potássio	1,71	34,7	7,0	1,7	30,5	7,0
CV (%)	9,2	10,3	12,8	8,7	12,4	14,2

ns = não significativa a 5% de probabilidade. Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. CV (%) = Coeficiente de Variação. MSPA = Massa seca da parte aérea. MFR = Massa fresca de raiz.

Vale ressaltar que o uso de Acibenzolar-S-Metil, Stimulate® e EcolifeB® foram eficientes em reduzir *M. javanica* somente quando a população inicial foi menor (Pi = 1000 ovos + J2), mostrando a necessidade da integração das técnicas de manejo sob altas populações. Nestes casos, outras práticas de comprovada eficiência para o controle de nematoides, como a rotação de culturas com plantas não hospedeira, precisam ser adotadas.

população inicial. Os diferentes indutores e estimuladores utilizados não afetaram o desenvolvimento vegetativo da soja.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de iniciação científica do primeiro autor e pela bolsa de produtividade do último autor.

CONCLUSÕES

A aplicação de Acibenzolar-S-Metil, Stimulate® e EcolifeB® auxiliaram no controle de *Meloidogyne javanica* sob condições de menor

REFERÊNCIAS

- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 553, 1981.
- BRASS, F. E. B.; VERONEZZE, N. C.; PACHECO, E.; et al.. Aspectos biológicos do *Meloidogyne* spp. relevantes a cultura do café. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, v. 7, n. 14, 7 p., 2008.
- CASTRO, P. R. C.; PACHECO, A. C.; MEDINA, C. L. Efeitos de Stimulate e de micro-citros no desenvolvimento vegetativo e na produtividade da laranjeira pêra (*Citrus sinensis* L. Osbeck). **Scientia Agricola**, v. 55, n. 2, p. 338-341, 1998.
- CHINNASRI, B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Effects os Acibenzolar-S-Methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 35, n. 1, p. 110-114, 2003.
- DIAS, W. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; et al.. **Nematoides em soja: identificação e controle**. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 8 p. (Embrapa soja. Circular Técnica 76).
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; MARINI, P. M.; FONTANA, L. F.; et al.. Effect of *Azospirillum brasiliense*, Stimulate® and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematropica**, v.42, n.1, p.170-175, 2012.
- GUIMARÃES, L. M. P.; PEDROSA, E. M. R.; COELHO, R. S. B.; et al.. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 50-55, 2008.
- GUIMARÃES, L. M. P.; PEDROSA, E. M. R.; COELHO, R. S. B.; et al.. Eficiência e atividade enzimática elicitada por metil jasmonato e silicato de potássio em cana-de-açúcar parasitada por *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 11-15, 2010.
- HENRY, G.; THONART, P.; ONGENA, M. Pamps, Mamps, Damps and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnologie Agronomie Societe et Environnement**, v. 16, n. 2, p. 257-268, 2012.
- KAPLAN, D. T.; KEEN, N. T.; THOMASON, I. J. Studies on the mode of action of glyceollin in soybean incompatibility to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Physiology Plant Pathology**, v. 16, n. 3, p. 319-325, 1980.
- MOLINARI, S.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v. 29, p. 1354-1362, 2010.
- MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; et al.. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum-Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 491-496, 2003.
- OWEN, K. J.; GREEN, C. D.; DEVERALL, B. J. A. Benzothiadiazole applied to foliage reduces development and egg deposition by *Meloidogyne* spp. In: glasshouse-grown grapevine roots. **Australasian Plant Pathology Society**, v. 31, n. 1, p. 47-53, 2002.
- PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; CARDOSO, M. R.; et al.. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. **Phytoparasitica**, v. 14, n. 1, p. 447-449, 2015.

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; DADAZIO, T. S.; et al.. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 1, p. 44-48, 2013b.

PUERARI, H. H.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; TAVARES-SILVA, C. A.; et al.. Ecolife® and manganese phosphite in the control of *Meloidogyne javanica* and in the development of soybean cultivars susceptible and resistant to the nematode. **Nematropica**, v. 43, n. 1, p. 105-112, 2013a.

SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; CAMPOS, V. P.; et al.. Época de aplicação do acibenzolar-S-metil e da abamectina no controle de *Meloidogyne* sp. em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, v. 4S, p. 194, 2002.

THAKUR, M.; SOHAL, B. S. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. **International Scholarly Research Notices**, v. 2013, p. 1 -10, 2013.

Recebido: 16/08/2016
Aceito: 13/06/2017