



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS HUMANAS-CAMPUS IX**  
**COLEGIADO DE ENGRNHARIA AGRONÔMICA**

**FITOPATOLOGIA**

**ENGENHARIA AGRONÔMICA**

**CAIO FELIPE DE BARROS SOUZA**

**Efeito do biofertilizante Protector NM sobre o parasitismo do nematoide de galhas**  
***Meloidogyne incognita* na soja**

**Barreiras - BA**

**Dezembro - 2017**

**CAIO FELIPE DE BARROS SOUZA**

**Efeito do biofertilizante Protector NM sobre o parasitismo do nematoide de galhas  
*Meloidogyne incognita* na soja**

Monografia apresentada como exigência da disciplina de monografia, como requisito para a conclusão do curso de Engenharia Agrônômica do Campus IX da Universidade do Estado da Bahia.

Orientador: Dr. João Luiz Coimbra

**Barreiras - BA**

**Dezembro - 2017**

**CAIO FELIPE DE BARROS SOUZA**

**Efeito do biofertilizante Protector NM sobre o parasitismo do nematoide de galhas**  
*Meloidogyne incognita* na soja

Monografia apresentada como exigência da disciplina de monografia, como requisito para a conclusão do curso de Engenharia Agrônômica do Campus IX da Universidade do Estado da Bahia.

Aprovada em 11 de dezembro de 2017

**Banca Examinadora:**

---

Prof. D. Sc. João Luís Coimbra  
Orientador (UNEB)

---

Prof. D. Sc. Joaquim Soares Neto  
Avaliador (UNEB)

---

M. Sc. Heliab Bonfim Nunes  
Avaliador (UNEB)

**Barreiras, 2017**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por ter dado saúde e forças ao longo da jornada.

Aos meus pais Ednalva Barros e Rivaldo Souza e aos meus irmãos Ayana, Gabriel, Júlio e também a minha Namorada Nathalia Kreling pelo apoio e incentivo incondicional.

As amizades adquiridas e fortalecidas ao longo dos anos na universidade, em especial aos grandes amigos Ane Pimentel, Maikon Lemos, Matheus Caraciola, Camila Oliveira, Hélen Andrade e Letícia Barreto, esses e aos muitos outros que tive a honra de conhecer.

Ao orientador e agora bom amigo Professor João Luís Coimbra.

A todo o corpo docente do curso de Engenharia Agrônômica da Universidade do Estado da Bahia, em especial ao professor Tadeu Cavalcante Reis.

A todo corpo técnico e administrativo do Campus IX da UNEB.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação, o meu muito obrigado.

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Propriedades químicas do substrato utilizado no teste em casa de vegetação .. **Erro!**

**Indicador não definido.**3

Tabela 2 - Valores médios das variáveis do teste em casa de vegetação com plantas de soja inoculadas com ovos de *M. incógnita* e doses crescentes do biofertilizante.....266

Tabela 3 - Resultados em porcentagem dos testes de mobilidade, mortalidade e eclosão realizados in vitro .....288

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo de de vida do <i>Meloidogyne</i> sp. ....	14
Figura 2 – Funis sendo utilizados na técnica de Baermann para obtenção de juvenis de segundo estágio.....	18
Figura 3 - Vidros de penicilina autoclavados e identificados sendo adicionado as diluições do produto com uma pipeta. ....	19
Figura 4 - Micrografia dos juvenis de segundo estágio, um móvel com corpo serpentiforme (A) e o imóvel com corpo ereto (B). ....	20
Figura 5 - Contagem dos J2 eclodidos em microscópio estereoscópico (A), temperatura constante da BOD a 25°C (B) e acomodação dos vidros de penicilina no interior da BOD (C) .....	21
Figura 6 - Temperatura média (°C) e insolação (horas/dia) durante o período do experimento .....	22
Figura 7 - Mistura das partes de areia solo e esterco bovino (1:1:1) para formar o substrato..	23
Figura 8 - Raízes na solução de floxina B a 0,15% para coloração das massas de ovos (A), raiz na lupa estereoscópica para contagem de galhas e massas de ovos (B) e vista da raiz na lupa (C).....	25
Figura 9 – Análise de regressão do efeito do biofertilizante na altura de planta (A), peso do sistema radicular (B), peso da parte aérea fresca e seca (C e D respectivamente).....	29
Quadro 1 - Descrição dos tratamentos a serem realizados na casa de vegetação.....	22

## Sumário

1.	INTRODUÇÃO.....	10
2.	REVISÃO DE LITERATURA .....	12
2.1.	Soja no Brasil e no Oeste da Bahia.....	12
2.2.	Caracterização da Espécie <i>Meloidogyne incognita</i> .....	13
2.3.	Importância Econômica do <i>Meloidogyne incognita</i> .....	14
2.4.	Nematóides na Cultura da Soja.....	15
2.5.	Fitoextratos no Controle de Nematóides .....	16
2.6.	Biofertilizantes.....	16
3.	MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1.	Local do experimento.....	18
3.2.	Obtenção do inoculo do nematoide de galhas.....	18
3.3.	Tratamentos.....	19
3.3.1.	Efeito do biofertilizante Protector NM na mobilidade, mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) <i>Meloidogyne incognita</i> . .....	19
3.3.2.	Efeito do biofertilizante Protector NM na eclosão de ovos de <i>Meloidogyne incognita</i> .....	20
3.4.	Efeito do biofertilizante Protector NM na patogenicidade de <i>M. incognita</i> na soja. 21	
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	26
5	CONCLUSÃO.....	31
6	REFERÊNCIAS .....	32
7	APÊNDICES .....	39
A)	Relatório estatístico In vitro (Sisvar) .....	39
B)	Relatório estatístico casa de Vegetação (Sisvar).....	41

**Efeito do biofertilizante Protector NM sobre o parasitismo do nematoide de galhas  
*Meloidogyne incognita* na soja**

**RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o biofertilizante Protector NM a base de extrato de plantas no controle do nematoide das galhas *M. incognita* na soja. O teste *in vitro* foi conduzido no laboratório de fitopatologia da Universidade do Estado da Bahia com as doses de 0 mL L<sup>-1</sup> (somente água), 30 mL L<sup>-1</sup>, 35 mL L<sup>-1</sup>, 40 mL L<sup>-1</sup>, 45 mL L<sup>-1</sup> e 50 mL L<sup>-1</sup> do biofertilizante colocados em vidros de penicilina e adicionado uma alíquota contendo 100 juvenis de segundo estágio. Para o teste de eclosão foi adicionada uma alíquota contendo 200 ovos de *M. incognita*. No teste em casa de vegetação a soja foi semeada em substrato autoclavado contendo areia, solo e esterco bovino na proporção de 1:1:1 (v:v:v) e os tratamentos de 0 mL L<sup>-1</sup> (somente água), 30 mL L<sup>-1</sup>, 35 mL L<sup>-1</sup>, 40 mL L<sup>-1</sup>, 45 mL L<sup>-1</sup> e 50 mL L<sup>-1</sup> de biofertilizante foram aplicados no dia do plantio, a inoculação com 5.000 ovos de *M. incognita* foi feita aos 14 dias após a emergência das plântulas, a colheita foi feita aos 60 dias após a inoculação dos ovos. Todas as concentrações testadas do biofertilizante reduziram significativamente o número de galhas e massa de ovos por sistema radicular da soja quando comparado com a testemunha. A porcentagem de redução do número de galhas no sistema radicular da soja variou de 25% a 51% em relação à testemunha. A concentração de 35 mL L<sup>-1</sup> de biofertilizante foi a que possibilitou maior redução do número de galhas e ovos nas raízes da soja além de ter proporcionado junto com a concentração de 40 e 50 mL L<sup>-1</sup> um maior peso da matéria seca quando comparado com a testemunha.

**Palavras chave:** Controle alternativo; Nim; Eclosão; Fitoextratos.

**Effect of the biofertilizer Protector NM on the parasitism of the root-knot nematode  
*Meloidogyne incognita* in soybean**

**ABSTRACT**

The present work aimed to evaluate the effect of biofertilizer Protector NM composed of a plant extract on control of root-knot nematode *M. incognita* in soybean. The in vitro test was conducted at the phytopathology laboratory of Bahia State University with the doses 0 mL L<sup>-1</sup> (water only), 30 mL L<sup>-1</sup>, 35 mL L<sup>-1</sup>, 40 mL L<sup>-1</sup>, 45 mL L<sup>-1</sup> e 50 mL L<sup>-1</sup> of the biofertilizer placed in glasses of penicilin and added na alíquota with 100 juveniles of second stage, for the hatching test was added na alíquota with 200 eggs of *M. incognita*. In the greenhouse test the soybean was sown in autoclaved substrate, containig sand, soil and bovine manure in the rate 1:1:1 (v:v:v) and the treatments 0 mL L<sup>-1</sup> (water only), 30 mL L<sup>-1</sup>, 35 mL L<sup>-1</sup>, 40 mL L<sup>-1</sup>, 45 mL L<sup>-1</sup> e 50 mL L<sup>-1</sup> of biofertilizer was applied in the sown day, the inoculation with 5.000 *M. incognita* eggs was made at 14 days of germination, the harvest occurred at 60 days after inoculation of the eggs. All tested concentrations of the biofertilizer decreased significantly the number of galls and eggs mass per root system of soybean when compared with the control. The reduction percentage of root galls varied between 25% and 51% if compared with control. The concentration of 35 mL L<sup>-1</sup> was the one made possible a greater reduction of galls and eggs in the roots of soybean, besides to provided together 40 e 50 mL L<sup>-1</sup> an increase of dry matter when compared with the control.

**Key words:** Alternative control; Nim; Hatch; Phytoextracts.

## 1. INTRODUÇÃO

A região Oeste da Bahia conta atualmente com 1,5 milhões de hectares de soja segundo levantamento feito pela AIBA (2017), tendo a sojicultura como principal atividade econômica que resultou na crescente preocupação da sociedade com os aspectos ambientais, somado ao crescimento da agricultura orgânica em todo o mundo,

As grandes limitações da cultura da soja têm origem nos problemas fitossanitários, com destaque para ataque do nematóide do gênero *Meloidogyne* (KOFOID e WHITE 1919; CHITWOOD 1949). O parasitismo de *M. incognita* além da formação de galhas no sistema radicular da planta, provoca redução na translocação de água e nutrientes das raízes para as folhas, causando sintomas, na parte aérea, idênticos aos de deficiência nutricional. A severidade dos sintomas, como redução do porte e de produção, é variável de acordo com a população de nematóides, com a associação a outros patógenos (*Fusarium spp.*, *Rhizoctonia spp.* etc.) e com outros fatores, como grau de suscetibilidade da variedade e fertilidade do solo. Segundo Lopes (2015) em levantamento sobre as populações de nematoides em propriedades produtoras de soja situadas no Oeste da Bahia, foi encontrada incidência de *M. incognita* em 19% das áreas amostradas. Muitas pesquisas têm sido dedicadas à procura de compostos naturais, biologicamente ativos contra pragas agrícolas (LOPES et al., 2005). Dentre as alternativas estudadas, a utilização de biofertilizantes a base de extratos vegetais tem sido frequentemente relatada para esse fim.

Muitas vezes, o uso de nematicidas é o método mais utilizado no controle de fitonematóides, devido à facilidade de obtenção e utilização, porém, a pressão social contra o uso indiscriminado desses pesticidas químicos, e sua substituição por métodos de controle com menor toxicidade ao ser humano e ao ambiente (ALMEIDA et al., 2008). Desta forma, o controle alternativo com usos de biofertilizantes, se torna atrativo, pois, é menos agressivo, mas ao mesmo tempo eficiente e viável economicamente (CADIOLLI et al., 2007; CADIOLLI et al., 2009; AMARAL et al., 2009; NUNES et al., 2010).

Apesar do seu uso frequente, biofertilizantes, seja ele como adubo ou no controle de pragas (SANTOS e SAMPAIO, 1993) ou no controle de doenças com o seu comprovado efeito fungistático e bacteriostático (SANTOS, 1991), o seu modo de ação ainda é pouco ou

parcialmente conhecido, mesmo com os resultados satisfatórios a nível de campo. Dessa forma esse trabalho teve como objetivo avaliar o biofertilizante Protector NM a base de extrato de plantas no controle do nematoide das galhas *M. incognita* na soja.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Soja no Brasil e no Oeste da Bahia

No Brasil, até os anos 60 a soja não tinha importância econômica dentre as principais culturas no país, como a cana de açúcar, algodão, milho, feijão, laranja e etc. Foi no fim da década de 60 que a soja obteve um crescimento extraordinário devido ao aumento significativo do preço nos mercados internacionais do grão, adaptação das cultivares provenientes do sul dos EUA e políticas econômicas para o aumento da área plantada de soja dentre outros fatores que alavancaram a produção de soja no Brasil.

A soja era plantada em apenas 171.400 hectares com produção de 205.744 toneladas em meados dos anos sessenta (IBGE, 1992). Atualmente a soja é plantada em quase 35 milhões de hectares espalhados por todo o país com produção estimada para safra 2016/17 de 104,6 milhões de toneladas segundo dados da Conab (2017).

Até 1975 a produção de soja brasileira era concentrada nos estados da região Sul onde as condições encontradas eram próximas a dos EUA de onde vinham os cultivares e as técnicas utilizadas no cultivo (ARANTES e SOUZA, 1992), a partir de então com os esforços do governo para aumento da produção de soja no país foi criado o Centro Nacional de Pesquisa de Soja com incumbência de criar novas tecnologias independentes para a produção brasileira. Só então a soja pôde ser produzida em clima tropical do Cerrado, com a primeira cultivar brasileira. O Cerrado, até então visto como improdutivo para a agricultura, chama atenção de agricultores do Brasil, em especial do sul. Inicia-se uma grande migração para as áreas do Cerrado entre elas a região Oeste da Bahia.

Nas décadas de 1980 e 1990, a região conheceu uma expansão agropecuária sem precedentes, e devido ao acréscimo significativo em áreas de cultivo de grãos, cultivos perenes e na agricultura irrigada, o desenvolvimento dessa região fez da Bahia um importante polo produtor nacional de grãos, café, carnes, frutas e fibras (MENDONÇA, 2006).

O Oeste da Bahia tem soja como principal atividade agrícola, a produção está concentrada nos municípios de Barreiras, Luís Eduardo Magalhães, São Desidério, Formosa do Rio Preto, Correntina, Riachão das Neves, Jaborandi, Cocos e Baianópolis (SOJA PLUS BAHIA). A sojicultura movimentou a economia com a comercialização de 50% da soja *in natura* para indústrias da região e com a exportação de 47% da produção para países como China, Alemanha e Japão (SABAI, 2015).

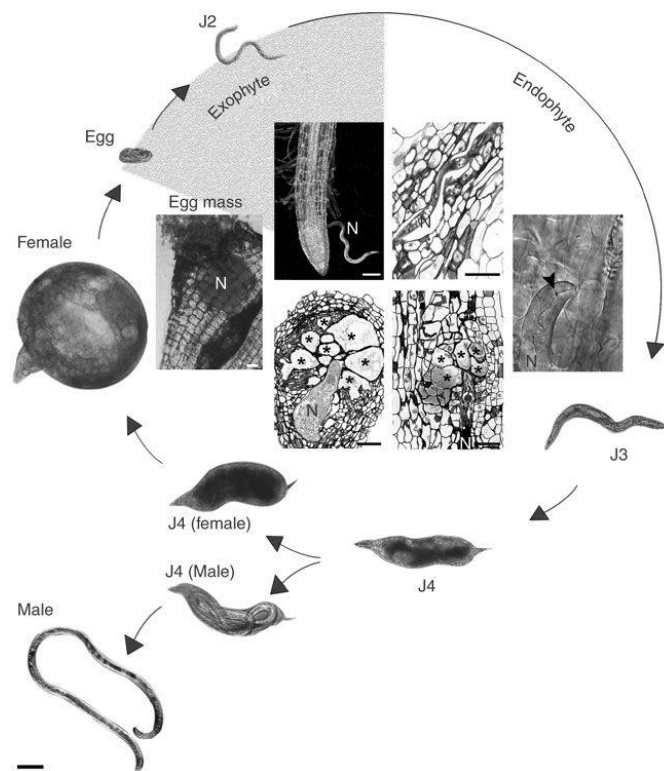
A estimativa de produção da soja para a safra 2016/17 é de mais de 5 milhões de toneladas, em uma área de 1,5 milhão de hectares (AIBA, 2017).

Os dados apresentados acima denotam a importância econômica da sojicultura em âmbito tanto regional quanto nacional, sendo uma das principais *commodities* de exportação do mundo globalizado.

## **2.2. Caracterização da Espécie *Meloidogyne incognita***

Os nematóides são organismos pertencentes ao filo Nematoda, a família Meloidogynidae e ao gênero *Meloidogyne*, que possuem tamanho reduzido, variando de 0,3 a 3,0 mm de comprimento e 15 a 50  $\mu\text{m}$  de diâmetro, são tubulares de coloração transparente. Se alimentam do conteúdo citoplasmático de células nutridoras, normalmente 6, hipertrofiadas por alterações fisiológicas causadas por secreções injetadas pelo estilete, provenientes das glândulas esofagianas. A fêmea madura possui o corpo globoso, deposita seus ovos em um único local da raiz, originando uma massa de ovos, contendo até 400 ovos (FERRAZ e MONTEIRO, 2011).

Nos ovos se encontram juvenis de primeiro estágio (J1), que ainda dentro do ovo sofre sua primeira ecdise se torna um juvenil de segundo estágio (J2), após eclodido o J2 se movimentam no solo em busca da rizosfera onde penetram na radícula da planta até a borda do cilindro vascular onde inicia o processo de parasitismo. O nematoide vai se tornando gradativamente mais robusto com movimentação comprometida pelo corpo “salcichéide” se tornando de fato um parasita, ainda como J2 ele chega ao tamanho máximo e já com a forma de pera sofre a terceira e a quarta ecdise.



**Figura 1** - Ciclo de vida do *Meloidogyne sp.*

Fonte: Abad et. al, 2008.

### 2.3.Importância Econômica do *Meloidogyne incognita*

O potencial da agricultura mundial tem sido constantemente ameaçado pelo ataque de diversos organismos patogênicos e, os nematoides fitoparasitas estão entre as principais limitações ao aumento da produtividade agrícola em todo o mundo (CAMPOS, 1997; MOURA, 1997). As perdas devidas ao ataque de nematoides na agricultura mundial estão estimadas entre US\$100 e US\$157 bilhões anualmente (SINGH et al., 2013). No Brasil, a quantificação de perdas não é precisa, devido principalmente às interações com danos provocados por pragas e outras doenças, condições climáticas, presença de plantas invasoras e inadequação de tratamentos culturais (RITZINGER e FANCELLI, 2006). Agrios (2005) afirma que os fitonematoides são responsáveis por ações espoliadoras e tóxicas nas plantas hospedeiras, que direta ou indiretamente afetam os principais processos fisiológicos como respiração, fotossíntese, absorção e translocação de água e nutrientes e balanço hormonal.

Segundo Freitas (2001) os nematoides do gênero *Meloidogyne*, são tidos como os mais importantes nematoides fitopatogênicos, pois apresentam ampla distribuição geográfica e enorme gama de hospedeiros, causando grandes danos às culturas. *M. incognita*, no contexto da agricultura mundial, fundamenta-se em três pontos: o elevado grau de polifagismo, a sua

larga dispersão geográfica e a dificuldade do seu controle (ANDRADE e PONTE, 1999). Com o ataque do *M. incognita* a planta entra em declínio, podendo facilmente sucumbir, após um quadro sintomatológico que inclui desfolhação, clorose e sintomas de deficiência nutricionais. É altamente polífaga, sendo capaz de infestar um grande número de vegetais, apresenta controle mais difícil que qualquer outra espécie (BRASS et. al 2008).

Mesmo com os grandes avanços fruto de décadas de pesquisa com o desenvolvimento de cultivares resistentes e técnicas de controle, a convivência com fitonematoides ainda é complicada e gera custos ambientais e econômicos elevados decorrente da gama de hospedeiros e os fatores de resistência inerentes a eles.

#### **2.4.Nematóides na Cultura da Soja**

Segundo Lopes (2015) Entre os nematoides de galhas, o *M. incognita* é uma das espécies mais importantes para a cultura da soja no Brasil. A espécie está presente em todas as regiões de cultivo do país.

Os sintomas na parte aérea da planta causados por *Meloidogyne* spp. aparecem mais tarde, a partir da floração, geralmente o amarelecimento foliar causado pelos nematoides-das-galhas apresenta padrão internerval. As plantas afetadas não apresentam sintomas aéreos, típicos da doença, nos locais onde há baixa densidade de nematóides, mas se nota a redução da produção e o desenvolvimento apical deficiente (AGROLINK, 2015).

No local onde o nematóide penetra e a partir de onde começa a alimentar-se ocorre a formação de células gigantes, causado pela hipertrofia e hiperplasia das células. Observa-se, então, a formação de galhas de variados tamanhos. O sistema radicular torna-se ineficiente na absorção de água e nutrientes, afetando o crescimento das plantas. Quando a infestação é severa, as folhas murcham nos períodos mais quentes do dia.

A distribuição da doença no campo é tipicamente em “reboleiras”, em áreas localizadas, onde se concentram plantas de tamanho reduzido e fortemente depauperadas (FERRAZ e MONTEIRO, 2011), mais perceptível no período da floração.

## 2.5. Fitoextratos no Controle de Nematóides

Atualmente os métodos mais utilizados para o controle de nematóides tem sido o uso de nematicidas, variedades resistentes e rotação de culturas (FERRAZ e FREITAS, 2016). Os nematicidas, além de caros, podem ser nocivos ao ambiente, à saúde humana e aos organismos benéficos do solo. Usar variedades resistentes é uma maneira natural e altamente recomendável de controlar pragas e doenças. Mas no que diz respeito a nematoides ainda há poucas variedades existentes.

A possibilidade de controle de fitonematoides por meio do uso de extratos de origem vegetal com propriedades nematicidas tem estimulado pesquisadores em todo o mundo (CHITWOOD, 2002), testando-se metabólitos e componentes químicos de muitas plantas para o controle do nematoide das galhas (FERRIS e ZENG, 1999).

A *Azadirachta indica* conhecida popularmente como nim tem sido observado, principalmente nas últimas décadas, que substâncias obtidas desta planta podem afetar mais de 200 espécies de insetos e também ácaros, nematóides, fungos, bactérias e mesmo alguns fitovirus (FERRAZ e FREITAS, 2016).

A pimenta contém capsaicina e capsainóides, responsáveis pelo ardor e atua como um irritante do sistema nervoso de vários animais (NEVES, 2003). Foi observado por Freitas et al. (2000) uma grande redução do número de ovos e na formação de galhas de *Meloidogyne javanica* em tomateiro com uso de produto a base de pimenta.

Os fitoextratos possuem grande potencial no controle de pragas e doenças, o nim e a pimenta se mostram bastante eficientes no controle de nematoides das galhas, além de possuírem baixo impacto ambiental preservando os organismos benéficos do solo.

## 2.6. Biofertilizantes

O termo “biofertilizante” aparece pela primeira vez no decreto nº 86.955, de 18 de fevereiro de 1982 do Ministério da Agricultura, que de acordo com o as disposições pode ser definido como um produto que contenha princípio ativo ou agente capaz de atuar, direta ou indiretamente, sobre o todo ou partes das plantas cultivadas, elevando a sua produtividade (PARANÁ, 1997).

Alguns autores como Penteadó (2000), Santos (1992) e Anvisa (2002) definem biofertilizantes como efluentes pastosos resultantes da fermentação anaeróbica de matéria orgânica, como restos culturais, esterco bovino e subprodutos da agroindústria, podem ser biologicamente

ativos ou não. No entanto, não há uma receita padrão para a fabricação de biofertilizantes, existem várias fórmulas sendo testadas e utilizadas (MEDEIROS, 2002).

No que diz respeito a parte analítica de sua composição, o biofertilizante apresenta macro e micronutrientes assimiláveis pela planta, como nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, sílica, molibdênio, dentre outros, com pH variando de 7,0 a 8,0 (SANTOS, 1992).

Apesar do seu uso frequente, biofertilizantes, seja ele como adubo ou no controle de pragas e doenças, o seu modo de ação ainda é pouco ou parcialmente conhecido, apesar dos resultados satisfatórios nível de campo (FERNANDES, 2000; PINHEIRO, 1996; SANTOS e AKIBA, 1996).

Com uso de biofertilizantes Carvalho (2009) alcançou um controle de 60% sobre *Phakopsora pachyrhizi* em soja, indicando multifuncionalidade dos biofertilizantes e o amplo campo de estudo que ele se insere. Na Colômbia o uso de biofertilizante nas grandes áreas de soja já está altamente difundido (EFE AGRO, 2015), e tem efeito positivo na fixação de nitrogênio atmosférico.

Os biofertilizantes por apresentarem diversas formas de preparo e obtenção, apresentam várias utilidades práticas, participando desde o condicionamento do solo até no controle de pragas e doenças uma vez que na sua composição contenha os componentes que ajam como tal, como ácidos húmico e fúlvico, micronutrientes como cobre ou enriquecidos com extratos vegetais.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local do experimento

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de Fitopatologia e casa de vegetação pertencentes ao Departamento de Ciências Humanas da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Campus IX, em Barreiras, Bahia.

#### 3.2. Obtenção do inoculo do nematoide de galhas

Os inóculos dos nematoides utilizados nos ensaios foram obtidos de populações puras de *Meloidogyne incognita*. Estas populações foram multiplicadas em plantas de tomateiro ‘Santa clara’, mantidas em casa de vegetação. Para a extração dos ovos dos nematoides seguiu o método descrito por Hussey e Barker (1973), modificado por Boneti e Ferraz (1981). A contagem dos ovos para a calibração da suspensão foi feita em microscópio estereoscópio, utilizando lâmina de contagem (câmara de Peters).

Os juvenis de segundo estágio para o teste de mobilidade e mortalidade foram obtidos a partir da técnica de Baermann (1917 apud KENNETH, 1970) que consiste em um funil de vidro preenchido com água (figura 2), possui uma peneira e uma membrana onde os ovos são depositados, após eclodidos os juvenis atravessam a membrana e se depositam no fundo do funil onde a alíquota é coletada, quantificada e padronizada para 100 juvenis por mL.



**Figura 2** – Funis sendo utilizados na técnica de Baermann para obtenção de juvenis de segundo estágio.

### 3.3. Tratamentos

Nos testes *in vitro* foram verificados o efeito das doses do produto Protector NM na mobilidade, mortalidade e eclosão de *M. incognita*, sendo as doses 0 mL L<sup>-1</sup> (somente água), 30 mL L<sup>-1</sup>, 35 mL L<sup>-1</sup>, 40 mL L<sup>-1</sup>, 45 mL L<sup>-1</sup> e 50 mL L<sup>-1</sup>.

#### 3.3.1. Efeito do biofertilizante Protector NM na mobilidade, mortalidade de juvenis do segundo estágio (J2) *Meloidogyne incognita*.

##### 3.3.1.1. Montagem e condução do experimento

Para a avaliação do efeito do biofertilizante, foram montados bioensaios utilizando-se vidros vazios de penicilina previamente esterilizados em autoclave.

Em cada vidro de penicilina foram colocados 5mL do produto (figura 3) e 1 mL de uma suspensão de cerca de 100 J2 de *M. incognita*. Os vidros foram fechados e mantidos em BOD com temperatura constante de 25 °C. Após 24 horas foram avaliados, com auxílio de microscópio biológico, as porcentagens de J2 móveis e imóveis (figura 4). Foram considerados mortos os nematoides que, após terem sido retirados do extrato e transferidos para água, não recuperarem a mobilidade após 24 horas.



**Figura 3** - Vidros de penicilina autoclavados e identificados sendo adicionado as diluições do produto com uma pipeta.



**Figura 4** - Micrografia dos juvenis de segundo estágio, um móvel com corpo serpentiforme (A) e o imóvel com corpo ereto (B).

### **3.3.1.2. Delineamento experimental**

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) com 6 repetições para cada tratamento. As médias dos tratamentos quando significativas foram comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância com auxílio do programa estatístico sisvar versão 5.6. e os dados foram transformados pela equação  $\arcsen\sqrt{x/100}$ .

### **3.3.2. Efeito do biofertilizante Protector NM na eclosão de ovos de *Meloidogyne incognita***

#### **3.3.2.1. Montagem e condução do experimento**

Para a avaliação do efeito do produto na eclosão de juvenis de *M. incognita* foi montado o bioensaio, usando vidros tipo penicilina devidamente esterilizados. Na montagem do bioensaio, em cada vidro de penicilina foi colocado 1 mL da suspensão com cerca de 200 ovos de *M. incognita* extraídos de plantas de tomate usadas para multiplicação do nematóide. Em seguida foi adicionado 5 mL do produto. Os vidros foram fechados e mantidos em temperatura de 25°C (figura 5B) numa câmara de incubação tipo BOD (figura 5C). Após 15 dias o número de juvenis

foi quantificado com auxílio de um microscópio estereoscópico (figura 5A) e transformados em porcentagem para análise estatística.



**Figura 5** - Contagem dos J2 eclodidos em microscópio estereoscópico (A), temperatura constante da BOD a 25°C (B) e acomodação dos vidros de penicilina no interior da BOD (C)

### **3.3.2.2. Delineamento experimental**

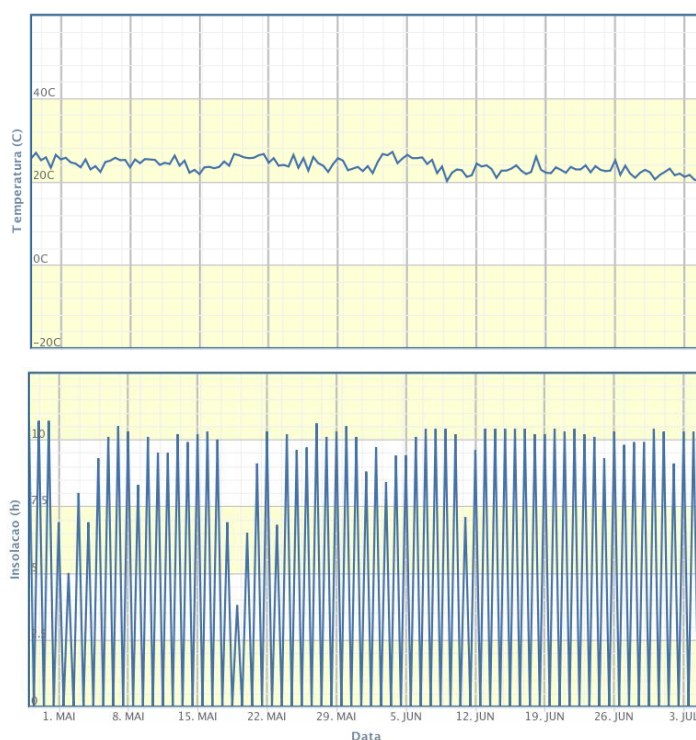
O delineamento experimental adotado foi semelhante ao adotado no teste de mobilidade e mortalidade.

## **3.4. Efeito do biofertilizante Protector NM na patogenicidade de *M. incognita* na soja.**

### **3.4.1. Local do experimento**

Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação do Departamento de Ciências Humanas da Universidade do Estado da Bahia (UNEB), campus IX, em Barreiras, Bahia. O

ensaio ocorreu entre os dias 28 de abril a 5 de julho de 2017, com temperatura média variando entre 20 e 26 °C e insolação diária entre 4 e 11 horas (Figura 6).



**Figura 6** - Temperatura média (°C) e insolação (horas/dia) durante o período do experimento

Fonte: Inmet

### 3.4.2 Delineamento experimental

Nos testes em casa de vegetação foi testado o efeito das doses do produto Protector NM na patogenicidade do *M. incognita*, sendo os tratamentos como é descrito no quadro 1.

**Quadro 1** - Descrição dos tratamentos a serem realizados na casa de vegetação

Tratamento	Descrição do tratamento
T <sub>0</sub> <sup>A</sup>	Testemunha absoluta, sem a inoculação dos ovos e sem a dose do produto.
T <sub>0</sub> <sup>i</sup>	Testemunha inoculada apenas, sem o produto.
T <sub>0</sub> <sup>P</sup> <sub>1, 2, 3, 4, 5</sub>	Testemunha sem inoculação, apenas com o produto.
T <sub>1</sub>	Tratamento com dose do produto de 30 mL L <sup>-1</sup> , mais a inoculação dos ovos.
T <sub>2</sub>	Tratamento com dose do produto de 35 mL L <sup>-1</sup> , mais a inoculação dos ovos.

**Quadro 1.** Continuação.

T <sub>3</sub>	Tratamento com dose do produto de 40 mL L <sup>-1</sup> , mais a inoculação dos ovos.
T <sub>4</sub>	Tratamento com dose do produto de 45 mL L <sup>-1</sup> , mais a inoculação dos ovos.
T <sub>5</sub>	Tratamento com dose do produto de 50 mL L <sup>-1</sup> , mais a inoculação dos ovos.

<sup>A</sup>: Testemunha absoluta; <sup>i</sup>: sem o produto e inoculada; <sup>P<sub>n</sub></sup>: testemunha sem o inóculo e *M. incognita* mas com as doses dos produtos.

Então o teste de patogenicidade possuiu um total de 9 tratamentos, cada tratamento foi realizado com 10 repetições, o delineamento foi inteiramente casualizado (DIC).

### 3.4.3 Substrato

O substrato foi esterilizado em autoclave por 2 horas a 120°C, contendo a proporção de 1:1:1 de esterco, areia e solo (figura7) e suas propriedades químicas (Tabela 1) foram analisadas no laboratório de química do solo da Universidade do Estado da Bahia, onde a correção e a adubação não foram necessárias de acordo com as recomendações da EMPRABA – CPAC (1996).

**Tabela 1** - Propriedades químicas do substrato utilizado no teste em casa de vegetação

pH H <sub>2</sub> O	Ca <sup>2+</sup> + Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	Al <sup>3+</sup> + H <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	CTC	P (Mel)	Sat. Bases	Sat. Al
	cmolc /dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>	%	%					
7,29	5,21	3,2	0	1,03	1,44	7,68	79,09	86,62	0

**Figura 7** - Mistura das partes de areia solo e esterco bovino (1:1:1) para formar o substrato

### **3.4.5. Plantio da soja**

As sementes de soja (*Glycine max*) da cultivar BRS 8349IPRO sem gene de resistência a nematoides das galhas, foram plantadas no dia 28 de abril de 2017, em sacos de polietileno com capacidade de 1 litro contendo o substrato autoclavado, foram colocadas 3 sementes por saco que após o aparecimento das primeiras folhas verdadeiras (fase V1) foram desbastadas deixando-se apenas uma planta (a mais vigorosa) por saco. As sementes foram microbiolizadas com *Bradyrhizobium elkanii* na dose de 50g para 50 kg de sementes, no dia do plantio. Os tratamentos foram aplicados no momento do plantio.

### **3.4.6 Inoculação dos ovos de *M. incognita***

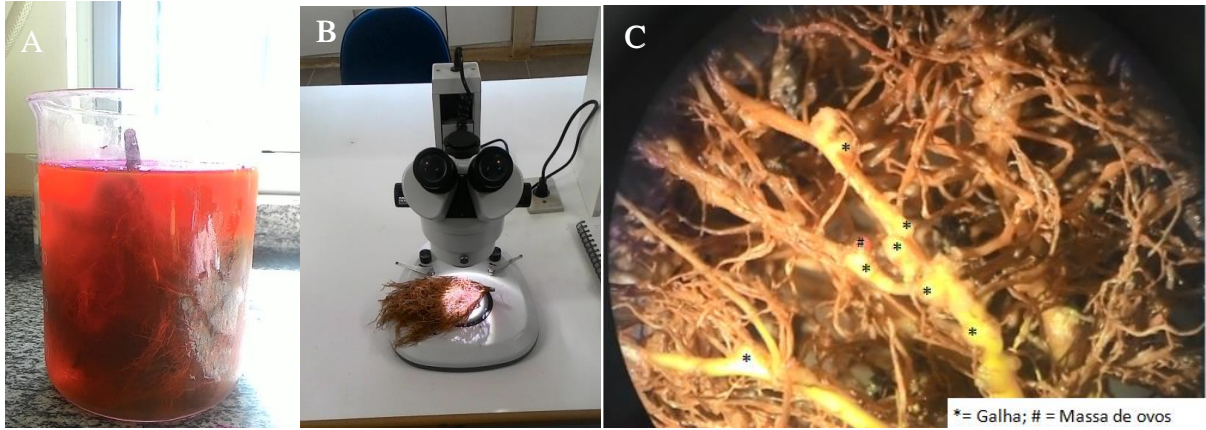
Foi adicionado uma alíquota contendo cerca de 5000 ovos de *M. incognita* aos 14 dias de germinação da soja, extraídos de acordo a técnica de Hussey e Barker (1973) modificada por Boneti e Ferraz (1981) de plantas de tomateiro infectadas mantidas em casa de vegetação da UNEB Campus IX. A suspensão de ovos retida na peneira de 500 mesh foi coletada com auxílio de uma pisseta e acondicionada em tubos de ensaio. Em microscópio óptico/estereoscópio foi quantificado o número de ovos por mL de suspensão utilizando-se lâminas de Peters.

### **3.4.7 Coleta de dados**

Sessenta dias após a inoculação dos ovos foi realizada a avaliação do experimento. Para isso cada planta de soja teve sua parte aérea medida com auxílio de uma trena, em seguida retirada cuidadosamente dos vasos e cortada na altura do coleto para separar a parte aérea das raízes. A parte aérea foi acondicionada em sacos de papel para secagem em estufa à 50°C por 48 horas. As raízes foram imersas em solução de floxina B a 15 mg L<sup>-1</sup> durante 20 minutos (figura 8A) para colorir as massas de ovos e em seguida lavados novamente para retirada do excesso. Em seguida, foi realizada a contagem do número de galhas e massa de ovos empregando-se um contador manual e lupa eletrônica (figuras 8B e C).

Todo o sistema radicular foi cortado em pedaços de 0,5cm de comprimento para extração dos ovos pela técnica de Hussey e Barker, modificado por Boneti e Ferraz (1981). Sendo os ovos quantificados com auxílio de uma lâmina de Peters e microscópio óptico para se quantificar o número de ovos. As médias dos tratamentos quando significativas foram comparadas pelo teste

de Tukey, ao nível de 5% de significância, com auxílio do programa estatístico sisvar versão 5.6. e os dados foram transformados pela equação  $\log(x + 1)$ .



**Figura 8** - Raízes na solução de floxina B a 0,15% para coloração das massas de ovos (A), raiz na lupa estereoscópica para contagem de galhas e massas de ovos (B) e vista da raiz na lupa (C).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as concentrações testadas do biofertilizante reduziram significativamente o número de galhas e massa de ovos por sistema radicular da soja quando comparado com a testemunha (tabela 2). A porcentagem de redução do número de galhas no sistema radicular da soja variou de 25% a 51% em relação à testemunha. A concentração de 35 mL/L de biofertilizante foi a que possibilitou maior redução do número de galhas e ovos nas raízes da soja além de ter proporcionado junto com a concentração de 40 e 50mL/L maior peso da matéria seca quando comparado com a testemunha (tabela 2). A concentração de 35 mL/L também permitiu maior aumento do peso do sistema radicular da soja não se diferenciando da concentração de 50ml/l (tabela 2). Concentrações mais altas que 35mL/L e 40mL/L apesar de reduzir o número de galhas significativamente tiveram uma eficiência menor (tabela 2). Quanto a redução do número de ovos do nematoide todas as concentrações do biofertilizante reduziram significativamente em relação à testemunha (tabela 2).

**Tabela 2** - Valores médios das variáveis do teste em casa de vegetação com plantas de soja inoculadas com ovos de *M. incógnita* e doses crescentes do biofertilizante

Concentração do Produto (mL L <sup>-1</sup> )	Variáveis					
	Altura de planta (cm)	Peso Raiz (g)	Peso parte aérea seca (g)	Número de Galhas	Número de Massa de Ovos	Nº Ovos /Sist. Radicular
0 (Ti)	51,7 bc	13,9 d	7,0 c	59 a	17 a	5998 a
30	48,1 cd	16,4 bcd	8,5 ab	44 b	7 b	4145 bc
35	46,7 d	29,0 a	8,4 ab	28 c	5 cd	1727 c
40	51,3 b	17,3 bc	8,0 bc	29 c	4 d	2089 c
45	54,0 a	15,6 cd	7,4 c	37 b	8 b	2354 bc
50	49,4 bc	19,4 b	9,2 a	41 b	5 c	2202 c
0 (Ta)	50,2 bc	18,4 bc	8,6 ab	0 d	0 e	0 d
CV(%)	0,58	3,33	2,97	3,89	6,58	3,58

Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. CV: Coeficiente de Variação. Ti: Testemunha inculada com ovos de *M. inconita*; Ta: Testemunha absoluta, não inoculada.

O número de massa de ovos também foi reduzido com o uso do produto, com a testemunha apresentando o maior valor com 17 massas de ovos e os demais tratamentos apresentando valores em média 66% menores que a testemunha, ao mesmo tempo, o número de ovos por

sistema radicular foi encontrado para a concentração de 35mL L<sup>-1</sup> e o maior valor foi encontrado na testemunha.

Os resultados encontrados no teste em casa de vegetação (tabela 2) são, em certos níveis, como na redução do número de galhas, explicados pelos testes realizados *in vitro* (tabela 3) onde o produto age aumentando a imobilidade e mortalidade dos juvenis e reduzindo a eclosão dos ovos, reduzindo, portanto, a capacidade infectiva do nematoide, conseqüentemente reduzindo o número de galhas, devido ao poder nematicida e nematostático do nim e da pimenta presentes na formulação do produto.

Alguns autores mostraram em seus trabalhos a eficiência do nim (*Azadirachta indica*) no controle de nematoide das galhas em diversas culturas, reduzindo tanto a sua capacidade de parasitismo como a capacidade reprodutiva (RAO et al., 1997; FERRAZ e FREITAS, 2010; BALDIN et. al , 2012 e MUSABYIMANA e SAXENA, 1999), corroborando os resultados encontrados no presente trabalho, assim como extrato de pimenta que mostrou eficiência na redução de galhas e ovos no trabalho Neves et. al (2009) testando extratos botânicos.

O tratamento com 45mL L<sup>-1</sup> do produto apresentou plantas maiores que os demais tratamentos diferindo estatisticamente (tabela 2). As doses, portanto, não apresentaram relação direta com a altura das plantas, o que pode ser explicado pelo hábito de crescimento determinado da cultivar M 8349IPRO que cessa seu crescimento após sua floração, floração essa, que ocorreu prematuramente pelo fato do plantio ter sido feito em uma época de dias curtos (figura 6), com fotoperíodo diário menor que 11 horas, favorecendo a floração precoce, o que explica também o porte baixo da planta, com média de 50,2 cm, diferindo de outros trabalhos utilizando a mesma cultivar que apresentaram altura média de 71cm (ALMEIDA, 2016; CARNEIRO, 2017).

Quanto ao peso de raiz, o tratamento com 35mL L<sup>-1</sup> apresentou um maior valor, no entanto em termos gerais, podemos perceber um aumento do peso da raiz com a adição do biofertilizante se compararmos com a testemunha com 0mL L<sup>-1</sup> que apresentou estatisticamente o menor valor, o que pode demonstrar uma capacidade do biofertilizante em aumentar o volume de raízes mesmo com o ataque do *M. incognita*, que com seu parasitismo reduz o desenvolvimento radicular.

O acúmulo de matéria seca da parte aérea demonstrou um comportamento semelhante ao das raízes, mesmo com o parasitismo, mostrou um maior valor em comparação com a testemunha. Os valores médios tanto de peso de raiz, quanto de peso da parte aérea seca e na altura de planta não apresentaram uma relação direta com aumento da dose, podem ser resultado do parasitismo

do nematoide, que ao iniciar as ações espoliadoras no córtex das raízes, reduz o vigor da planta em maior ou menor nível, podem gerar dados heterogêneos ou até mesmo divergentes como mostram os autores Teixeira (2013) e Nunes et. al (2010) em seus trabalhos testando a reação de cultivares de soja a *M. incognita* e uso de agentes de agentes microbianos no controle da mesma, respectivamente.

De modo geral, o aumento da dose mostrou interação com todas as variáveis analisadas, sendo mobilidade, mortalidade e eclosão (tabela 3). Quanto a mobilidade, as doses entre 35 mL<sup>-1</sup> e 50 mL<sup>-1</sup> não mostraram diferença estatística, mesmo após 24 horas em água os juvenis não retomaram sua movimentação, causando mortalidade de até 100% nos tratamentos com 45 mL<sup>-1</sup> e 50 mL<sup>-1</sup>.

**Tabela 3** - Resultados em porcentagem dos testes de mobilidade, mortalidade e eclosão realizados in vitro

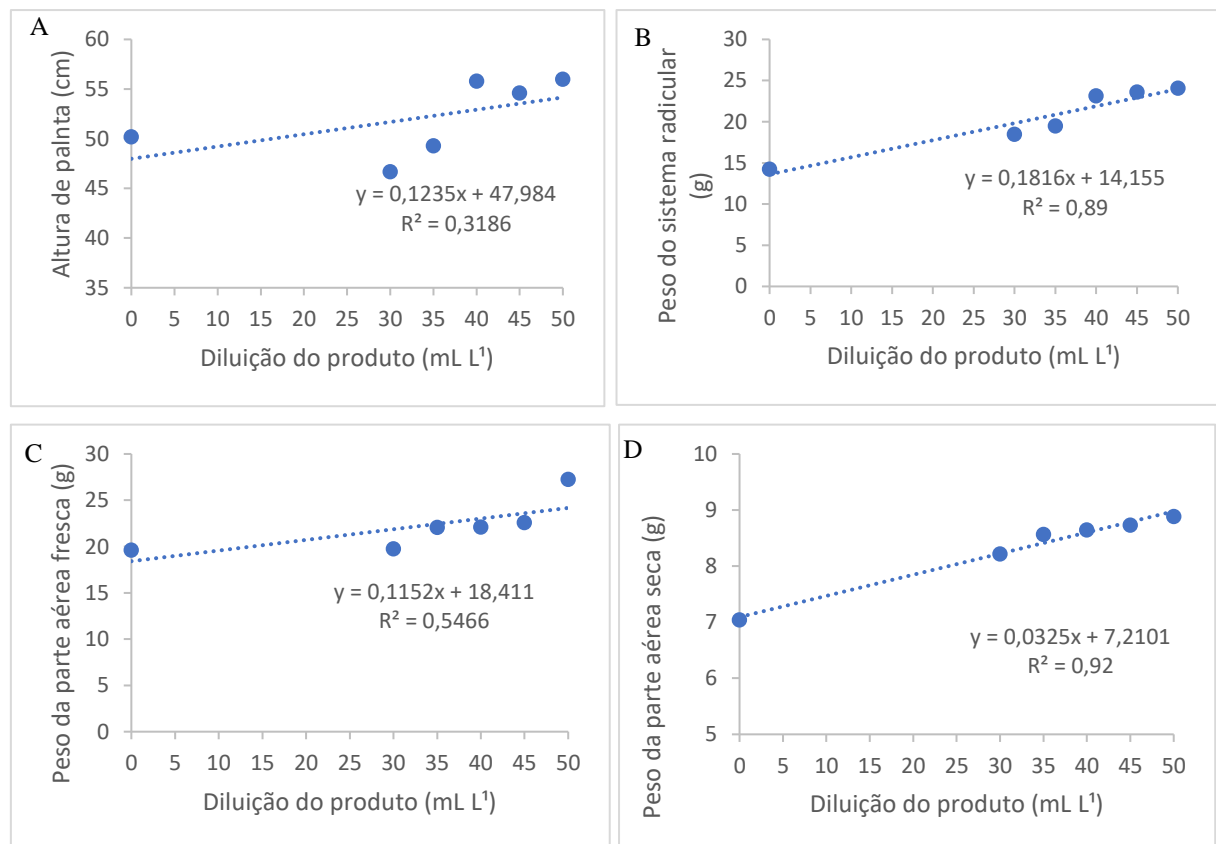
Tratamentos (mL L <sup>-1</sup> )	%		
	Imobilidade	Mortalidade	Eclosão
0 (Testemunha)	4,0 c	6,2 b	24,3 a
30	24,0 b	90,4 a	6,3 b
35	34,5 b	91,7 a	6,0 b
40	77,5 a	92,5 a	2,7 c
45	80,3 a	100,0 a	4,0 bc
50	83,4 a	100,0 a	3,5 bc
CV %	11,2	13,6	16,0

Letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. CV: Coeficiente de Variação

Quanto a eclosão as doses de 30 mL L<sup>-1</sup>, 35 mL L<sup>-1</sup>, 40 mL L<sup>-1</sup>, 45 mL L<sup>-1</sup> e 50 mL L<sup>-1</sup> mostraram se eficientes na redução da eclosão, reduzindo em média 50% da eclosão em relação ao controle com água, sendo que nenhuma das doses apresentaram diferença estatística com exceção do controle. Autores como SILVA e PEREIRA (2008), AKHTAR (2000) e AMARAL (2002) mostram em seus trabalhos o efeito de extrato de nim sobre a mobilidade de nematoides do

gênero *Meloidogyne* mas com algumas inconsistências quanto a mortalidade, diferente dos resultados obtidos com a execução deste trabalho que mostrou resultados 87% maiores que a testemunha. Trabalhos utilizando pimenta (FREITAS et al., 2000; MOREIRA, 1998; NEVES et al., 2005) também mostram interação quanto a mobilidade, mortalidade e eclosão dos ovos de nematoides reduzindo em média 47% a mobilidade e 90% da eclosão.

A altura de planta não mostrou um padrão claro e obteve um grau de determinação não satisfatório (figura 9A), esse comportamento também ocorreu na presença do inóculo *M. incognita* (tabela 2), desfazendo a ideia da ação dos nematoides sobre a altura da planta nesse caso em específico, diferindo do que se encontra na literatura, onde relata a alteração do tamanho da planta em função do parasitismo de *Meloidogyne spp.*, no entanto o fato do plantio do ensaio ter sido feito fora da janela ideal de plantio para região edafoclimática, que seria entre outubro e novembro (SILVA NETO et. al, 2016), sendo a cultivar de crescimento determinado e tendo seu florescimento precoce, contribuiu para que as plantas tivessem o seu tamanho reduzido e pouca diferença entre as mesmas variando entre 47 a 56 cm.



**Figura 9** – Análise de regressão do efeito do biofertilizante na altura de planta (A), peso do sistema radicular (B), peso da parte aérea fresca e seca (C e D respectivamente).

Já o crescimento radicular obteve um padrão linear crescente quanto a variável resposta (figura 9B), alcançando um grau de determinação de 0,89, com incremento de 0,18 gramas para cada mL de produto adicionado. O peso da parte aérea fresca não apresentou uma correlação direta entre o aumento da dose e a variável resposta (figura 9C). O peso da parte aérea seca também mostrou um crescimento linear em resposta ao aumento da dose do produto elevando o seu peso em 0,032 gramas para cada mL adicionado (figura 9D), devido ao incremento de nutrientes e matéria orgânica proporcionando uma maior fertilidade do solo, como é mostrado por Bellini et. al (2012), testando a influência do biofertilizante nas características químicas e físicas do solo sob plantio de soja, milho e arroz.

O Protector NM mostrou controle do nematoide das galhas da soja a nível de casa de vegetação, no entanto, é necessário realizar testes em campo, incluindo diferentes formas de utilização do produto, como no tratamento da semente e aplicação foliar, bem como a utilização de doses maiores levando em consideração o efeito de fitotoxidez e a viabilidade econômica da aplicação.

## 5 CONCLUSÃO

Tendo em vista a ação nematicida, nematostática e ovicida, do biofertilizante Protector NM a base de nim, pimenta e cobre foi possível concluir que o produto é eficiente no controle de *M. incognita* nas raízes da soja.

## 6 REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Agroecologia**: Fundamentos técnicos da produção orgânica. Anvisa. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/tox/agro/fundamentos/index.htm> > Acesso em 23 de fevereiro de 2017.

AGROLINK. **Nematóide das galhas**: Nematóide (*Meloidogyne incognita*). [S.l.:s.n.], 2015 Disponível em < [http://www.agrolink.com.br/culturas/soja/nematoide-das-galhas\\_523.htmL](http://www.agrolink.com.br/culturas/soja/nematoide-das-galhas_523.htmL) > Acessado em 17 de fevereiro de 2017.

AIBA. Associação de Irrigantes da Bahia. **1º Estimativa para a safra 2016/17**. Disponível em < <http://aiba.org.br/wp-content/uploads/2017/01/1-Lvto-Safra-2016-17.pdf> > Acessado em 15 de fevereiro de 2017.

AKHTAR, M. Nematicidal Potential of the Neem Tree *Azadirachta indica*. **Integrated Pest Management Reviews**. v.5, p. 57-66. 2000.

ALMEIDA, C.D.S.; et. al. Fracionamento de extrato aquoso de sementes de *Crotalaria spectabilis* efetivo no controle de juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita*. **Circular Técnica**. EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2008.

ALMEIDA, R. E. M. et al. Desempenho de Cultivares de Soja na Região Centro Norte do Estado do Tocantins na safra 2015/2016. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. Embrapa Pesca e Aquicultura. Palmas, TO: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2016.

AMARAL, D. R. et al. Efeito de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.26, n. 1, p. 43-48, 2002.

AMARAL., D.R.; et. al. Efeito de metabólitos vegetais e fúngicos sobre *Meloidogyne exigua*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.33, Edição especial. p.1861–1865, 2009.

ANDRADE, N. C.; PONTE, J. J. Efeito do sistema de plantio em camalhão e do consórcio com *Crotalaria spectabilis* no controle de *Meloidogyne incognita* em quiabeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 11-16, 1999.

ARANTES, N. E.; SOUZA, P. I. M. **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba, 1993. p. 30.

BAERMANN, G. Eine einfache Methode zur Auffindung de Ankylostomum (Nematoden) larven em Erdproben. **Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlandsch Indië**, v.57, p.131-137, 1917.

BALDIN, E.L.L; et. al. Uso de extratos vegetais, manipueira e nematicida no controle do nematoide das galhas em cenoura. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.1, p.36-41, 2012.

BELLINI, G. et. al. Influência da aplicação de um fertilizante biológico sobre alguns atributos físicos e químicos do solo no cultivo rotacionado de arroz (*Oriza sativa*), milho (*Zea mays*) e soja (*Glycine max*). **Anais. VI Mostra Interna de Trabalhos de Iniciação Científica** 23 a 26 de outubro de 2012

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, p.553, 1981.

BRASS, F. Emmanuel. Braz; VERONEZZE, N. C; PACHECO, E. Aspectos biológicos do meloidogyne spp. relevantes à cultura de café. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia: Ano VII – Número 14**. Garça, 2008.

CADIOLLI, M.C. et al. Efeito de isolados de *Paecilomyces lilacinus* no desenvolvimento de cafezais e na população de *Meloidogyne paranaenses*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.3, p.713-720, 2009.

CADIOLLI, M.C.; SANTIAGO, D.C.; HOSHINO, A.T.; HOMECHIN, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne paranaensis* em diferentes temperaturas in vitro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.2, p.305-311, 2007.

CARNEIRO, G. E. S. et al. Avaliação de variedades de cultivares de soja no cerrado da Bahia, safra 2016/17. **Boletim Técnico**. N° 04. Fundação Bahia. Luís Eduardo Magalhães, BA. 2017. p. 18-21.

CARNEIRO, R.M.D.G.; CARVALHO, F.L.C.; KULCZYNSKI, S.M. Seleção de plantas para o controle de *Msocriconema xenoplax* e *Meloidogyne* spp. através de rotação de culturas. **Nematologia Brasileira**, v.22, n.2, p.41-48. 1998.

CARVALHO, W. P. Uso de caldas e biofertilizante no controle da ferrugem asiática da soja em sistema orgânico no distrito federal. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Brasília, Vol. 4 No. 2. 2009. p.170-173.

CHITWOOD, D. J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, p. 221, 2002.

CHITWOOD, D.J. Phytochemical based strategies for nematode control. **Annual Review of Phytopathology**, 40: 221-249, 2002 .

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**- v.1, n.3. Brasília, 2017. p.15.

EFE AGRO. Colombia desenvolve biofertilizante para soja que enriquece o solo. **Efe : Agricultura**. 2015. Disponível em < <http://brasil.efeagro.com/noticia/colombia-desenvolve-biofertilizante-para-soja-que-enriquece-o-solo/> > Acessado em 9 de abril de 2017.

FERNANDES, M. do C. O biofertilizante Agrobio. **Informe do Centro Nacional de Pesquisa de Agrobiologia**, v. 4, n.13, p.1-16. 2000.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematóides. Capítulo 13. In: AMORIM, L. MARQUES, A. R. BERGAMIM FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**. 4 ed. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2011. 704p.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.. **O controle de fitonematóides por plantas antagonistas e produtos naturais**. Disponível em < [https://www.researchgate.net/publication/255617363\\_O\\_CONTROLE\\_DE\\_FITONEMATOIDES\\_POR\\_PLANTAS\\_ANTAGONISTAS\\_E\\_PRODUTOS\\_NATURAIS](https://www.researchgate.net/publication/255617363_O_CONTROLE_DE_FITONEMATOIDES_POR_PLANTAS_ANTAGONISTAS_E_PRODUTOS_NATURAIS) > Acessado em 17 de fevereiro de 2017.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G. Use of antagonistic plants and natural products. In: CHEN, Z.; CHEN, S.; DICKINSON, D.W. (Ed.). **Nematology Advances and Perspectives**. Volume II: Nematode Management and Utilization. Beijing & Wallingford: Tsinghua University Press & CABI Publishing, 2004. p. 931-978.

FERRAZ, S.; VALLE, L. A.C. **Controle de fitonematoides por plantas antagonicas**. Viçosa: Editora UFV, 2001. 73p.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, 31: 241-263, 1999.

FERRIS, H.; ZHENG, L. Plant sources of chinese herbal remedies: effects on *Pratylenchus vulnus* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of nematology**, v. 31, n. 3, p. 263, 1999.

FREITAS L.G.; OLIVEIRA, R.D.L.; FERRAZ, S. **Introdução a Nematologia**. Viçosa: Editora UFV, 2001.

FREITAS, L. G. et. al. Controle de *MMeoidogyne javanica* com extratos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*) e mostarda (*Brassica campestris*). **Fitopatologia Brasileira**, v. 25. 2000.

FREITAS, L. G., et al. Controle de *Meloidogyne incógnita* com aplicação de óleo essencial de pimenta malagueta e mostarda. **Fitopatologia Brasileira**. v. 25. 2000.

GHINI, R. BETTIOL, W. Controle biológico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Editora agrônômica Ceres Ltda, v.1, p.717-728. 1995.

HUSSAINI, S.S.; RAO, R.; PANDU. Toxicity of water soluble leaf extracts against larvae and eg masses of three *Meloidogyne* species. **Indian Journal of Nematology**, 26. 1996.

HUSSEY, R.S. BARKER, K.R.. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. **Plant Disease Reporter**, 57: 1025-1028. 1973

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro, 1992. p54.

KENNETH S. T. JR., NORMAN D. L., FERRON L. A. An Evaluation of the Baermann Technic using Infective Larvae of *Haemonchus contortus*. **The Helminthological Society of Washington**, v.7, n.1. Washington, 1970. p.57-63. Disponível em <<http://bionames.org/bionames-archive/issn/0018-0130/37/57.pdf>> Acessado em 11 de abril de 2017.

LOPES, C. M. L. **Populações de nematoides fitoparasitas em áreas de cultivo de soja, algodão, café e de vegetação nativa do Cerrado na região Oeste da Bahia**. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade de Brasília. Brasília, 2015. 70p.

LOPES, E.A. et al. Efeito dos extratos aquosos de mucuna preta e de manjerição sobre *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. **Nematologia Brasileira**, v.29 n.1. 67-74, 2005.

MANI, A.; CHITRA, K.C. Toxicity of certain plant extracts to *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, v: 17. p: 43-44, 1989.

MEDEIROS, M. B. **Ação de biofertilizantes líquidos sobre a bioecologia do ácaro *Brevipalpus phoenics***. Tese (Doutorado em Entomologia). Escola Superior de Agronomia Luiz Queiros. Piracicaba, 2002. p. 13.

MENDONÇA, J. O. O potencial de crescimento da produção de grãos no oeste da Bahia. **Bahia Agríc.**, v.7, n.2, abr. Salvador, 2006. p. 38-46.

MOREIRA, J. U. V. e FREITAS, L. G. Efeito do filtrado de pimenta malagueta sobre a infectividade de *Meloidogyne incógnita* em raízes de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**. v. 23, Brasília 1998.

MOURA, R. M. O gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte II. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.5. 1997. p. 281-318

MOURA, R.M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4. 1996. p.209-244

Musabyimana, T.; Saxena, R. C. Efficacy of neem seed derivatives against nematodes affecting banana. **Phytoparasitica**. Rehovot, v. 27, p. 43-49, 1999.

NEVES, et. al. Atividade nematicida de extratos botânicos de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*), mostarda (*Brassica campestris*) e alho (*Allium sativum*) sobre o nematóide das galhas, *Meloidogyne javanica*, em casa de vegetação. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.4, p.255-261, 2009.

NEVES, W. S. **Atividade nematicida de extratos de pimenta malagueta, mostrada e alho sobre *Meloidogyne javanica***. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa: Viçosa, 2003.

NEVES, W. S. et al. Atividade dos extratos de alho, mostarda e pimenta malagueta sobre eclosão de juvenis de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**. v. 29. P 273-278. 2005.

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

NUNES. H. T. et. al. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. **Acta Scientiarum. Agronomy**. , v. 32, n. 3, p. 403-409. Maringá. 2010.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná- Departamento de Fiscalização. **Coletânea da Legislação de Fertilizantes, corretivos, inoculantes e biofertilizantes**. Curitiba: SEAB/DEFIS, 1997. 124 p.

PASCUAL-VILLALOBOS, M.J. **Plaguicidas naturales de origem vegetal**: Estado actual de la investigación. Madri, Espana, Instituto Nacional de Investigación Agrária y Alimentaria. (Monografias, 92). 35p.

PENTEADO, S. R. **Introdução à agricultura orgânica**: normas e técnicas de cultivo. Campinas: Grafimagem. 2000. p.110.

PINHEIRO, S.; BARRETO, S. B. Agricultura sustentável, trofobiose e biofertilizantes. Porto Alegre: Junqueira Candiru. 1996. 276p. Tradução de DINCHEV, D. **Agroquímica**. Cidade de La Havana, Cuba: Ed. Revolucionaria, 1996. 295p.

RAO, M. S., et. al. Effect of integration of Calotropis procera leaf and Glomus fasciculatum on the management of Meloidogyne incognita infesting tomato. **Nematologia Mediterranea** 24(1): 59-61. 1996.

RAO, M.S.; REDDY, PP. Studies on the comparative efficacy of certain plant leaves and carbofuran in the management of Meloidogyne incognita on tomato. **Current Nematology**, v. 3. p:5-6, 1992.

RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M. Manejo integrado de nematóides na cultura da bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 2, p. 331-338, 2006.

SABAI, E. E. **Panorama socioeconômico do agronegócio do Oeste da Bahia**. Aiba, 2015. p. 24. Disponível em < <http://aiba.org.br/wp-content/uploads/2013/11/producao-e-destino-dos-graos-do-oeste-da-bahia.pdf> > Acessado em 16 de fevereiro de 2017.

SANTOS, A. C. V. Efeitos nutricionais e fitossanitário do biofertilizante líquido a nível de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.13, n.4, p.275-279, 1991.

SANTOS, A. C. V.; SAMPAIO, H. N. Efeito do biofertilizante líquido obtido da fermentação anaeróbica do esterco bovino, no controle de pragas prejudiciais á lavoura de citros. In: **Seminário bienal de pesquisa**, 6, Seropédica, 1993.

SANTOS, A. C.; AKIBA, F. **Biofertilizantes líquidos: uso correto na agricultura alternativa**. Seropédica: Imprensa Universitária/UFRRJ. 1996. 35p.

SANTOS, A.C.V. dos. Efeitos nutricionais e fitossanitários do biofertilizante líquido a nível de campo. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.13, n.4, p.275-279, 1991.

SANTOS, C. A. V. **Biofertilizante líquido**: o defensivo agrícola da natureza. EMATER. Rio de Janeiro, 1992. p. 16.

SASSER, J.N. Root-knot nematodes: a global menace to crop production. **Plant Disease**, v.64 . 36-41, 1980.

SCOTT,A.J. e KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics** v. 30 n.3: 507-512. 1974.

SILVA NETO, S. P. **Cultivares de soja para o Cerrado**. Embrapa Cerrados. Brasília. 2016

SILVA, G. S. PEREIRA, A. L. Efeito da Incorporação de Folhas de Nim ao Solo sobre o Complexo Fusarium x Meloidogyne em Quiabeiro. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.4, p.368-370, 2008.

SINGH, S. K. Plant-parasitic nematodes of potencial phytosanitary importance, their main host and reported yield losses. **OEPP/EPP Bulletin**, 43(2):334-374, 2013.

SOJA PLUS BAHIA. Programa de Gestão Econômica, Social e Ambiental da Soja Brasileira. **Sobre a região Oeste da Bahia**. Disponível em< <http://sojaplusbahia.com.br/sobre-a-regiao> > Acesso em 15 de fevereiro de 2017.

SOUSA, D. M. G; LOBATO, E. **Correção do Solo e Adubação da Cultura da Soja**. Planaltina: EMBRAPA – CPAC. 1996. 30p. (EMBRAPA – CPAC. Circular técnica número 33).

TEIXEIRA, R. A. **Reação de cultivares de soja a Meloidogyne incognita E M. javanica**. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Goiás, Escola de Agronomia. 2013.

TRATCH, R.; BETTIOL, W. Efeito de biofertilizantes sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.32, n.11, p.1131-1139, 1997.

VIDA, J.B. et al.. Efeito do efluente de biodigestor no controle de oídio em feijão vagem cultivado em estufa plástica. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, supl., p.264, 1993.

## 7 APÊNDICES

### A) Relatório estatístico *In vitro* (Sisvar)

Variável analisada: ECLOSÃO

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NT	5	1378.850214	275.770043	48.652	0.0000
erro	24	136.037992	5.668250		
Total corrigido	29	1514.888206			
CV (%) =	16.00				
Média geral:	14.8822181	Número de observações:	30		

Teste Tukey para a FV NT

DMS: 4,65696229752384 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 1,06472998099938

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
4	9.312635	a1
6	10.491841	a1 a2
5	11.377083	a1 a2
3	14.196074	a2
2	14.454877	a2
1	29.460798	a3

Variável analisada: IMOBILIDADE

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NT	5	12810.674833	2562.134967	102.518	0.0000
erro	24	599.809149	24.992048		
Total corrigido	29	13410.483981			
CV (%) =	11.18				
Média geral:	44.7354105	Número de observações:	30		

Teste Tukey para a FV NT

DMS: 9,77865577497986 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 2,2357123189573

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	11.431523	a1
2	28.976185	a2
3	35.877366	a2
4	62.177241	a3
5	63.821278	a3
6	66.128871	a3

Variável analisada: MORTALIDADE

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )

#### TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
NT	5	20364.394507	4072.878901	43.183	0.0000
erro	24	2263.619121	94.317463		
Total corrigido	29	22628.013628			
CV (%) =	13.62				
Média geral:	71.3209550	Número de observações:	30		

Teste Tukey para a FV NT

-----  
 DMS: 18,9965306450428 NMS: 0,05  
 -----

Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 4,34321225308286  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
1	14.371595	a1
2	76.470930	a2
4	77.821167	a2
3	79.262038	a2
6	90.000000	a2
5	90.000000	a2

-----

## B) Relatório estatístico casa de Vegetação (Sisvar)

-----  
 Variável analisada: ALTURA DE PLANTA

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )  
 -----

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
N__TRAT	6	0.012275	0.002046	21.114	0.0000
erro	28	0.002713	0.000097		

-----

Total corrigido 34 0.014988  
 -----

CV (%) = 0.58

Média geral: 1.6972322 Número de observações: 35  
 -----

-----  
 Teste Tukey para a FV N\_\_TRAT  
 -----

DMS: 0,0197538426137063 NMS: 0,05

-----  
 Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,00440218337115937  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
2	1.669251	a1
1	1.682049	a1 a2
0	1.692788	a2 a3
5	1.693591	a2 a3
6	1.700595	a2 a3
3	1.709979	a3
4	1.732371	a4

-----

-----  
 Variável analisada: PESO DE RAIZ

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )  
 -----

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
N__TRAT	6	0.314171	0.052362	29.847	0.0000
erro	28	0.049122	0.001754		
Total corrigido	34	0.363292			
CV (%) =	3.33				
Média geral:	1.2562843	Número de observações:	35		

-----

-----  
 Teste Tukey para a FV N\_\_TRAT

-----  
 DMS: 0,0840535145201071 NMS: 0,05  
 -----

Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0187314939753128  
 -----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	1.141018	a1
4	1.193839	a1 a2
1	1.211803	a1 a2 a3

3	1.237694	a2 a3
6	1.261119	a2 a3
5	1.286324	a3
2	1.462193	a4

Variável analisada: PESO DA PARTE AÉREA SECA  
 Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
N__TRAT	6	0.049287	0.008214	11.221	0.0000
erro	28	0.020498	0.000732		
Total corrigido	34	0.069785			
CV (%) =	2.97				
Média geral:	0.9103654	Número de observações:	35		

Teste Tukey para a FV N\_\_TRAT

DMS: 0,054296771223295 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0121001441623811

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
0	0.847502	a1
4	0.868978	a1
3	0.900258	a1 a2
2	0.926023	a2 a3
1	0.930278	a2 a3
6	0.936625	a2 a3
5	0.962894	a3

Variável analisada: NÚMERO DE GALHAS  
 Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )

## TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
N__TRAT	6	11.084337	1.847390	664.086	0.0000
erro	28	0.077892	0.002782		
Total corrigido	34	11.162229			
CV (%) =	3.89				
Média geral:	1.3554818	Número de observações:	35		

Teste Tukey para a FV N\_\_TRAT

DMS: 0,105843799211749 NMS: 0,05

Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0235875025402397

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
6	0.000000	a1
2	1.448070	a2
3	1.457220	a2
4	1.563590	a3
5	1.610769	a3
1	1.638414	a3
0	1.770310	a4

Variável analisada: NÚMERO DE MASSAS DE OVOS

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )

## TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
N__TRAT	6	4.131771	0.688629	314.160	0.0000
erro	28	0.061375	0.002192		
Total corrigido	34	4.193146			
CV (%) =	6.58				

Média geral: 0.7113563 Número de observações: 35

-----  
 -----  
 Teste Tukey para a FV N\_\_TRAT

-----  
 DMS: 0,0939540656595894 NMS: 0,05  
 -----

Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0209378516163978

-----  

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
-------------	--------	---------------------

 -----

6	0.000000	a1
3	0.622521	a2
2	0.667970	a2 a3
5	0.731363	a3
1	0.831264	a4
4	0.907941	a4
0	1.218435	a5

 -----

-----  
 Variável analisada: NÚMERO DE OVOS POR SISTEMA RADICULAR

Opção de transformação: Variável sem transformação ( Y )  
 -----

#### TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

-----  

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
N__TRAT	6	51.534767	8.589128	662.910	0.0000
erro	28	0.362787	0.012957		
Total corrigido	34	51.897554			
CV (%) =	3.87				
Média geral:	2.9411340		Número de observações:	35	

 -----  
 -----

Teste Tukey para a FV N\_\_TRAT

-----  
DMS: 0,228426013015099 NMS: 0,05  
-----

Média harmonica do número de repetições (r): 5

Erro padrão: 0,0509051942804069  
-----

Tratamentos	Médias	Resultados do teste
-------------	--------	---------------------

-----

6	0.000000	a1
2	3.231867	a2
5	3.310315	a2
3	3.311744	a2
4	3.369404	a2 a3
1	3.591664	a3 a4
0	3.772944	a4

-----