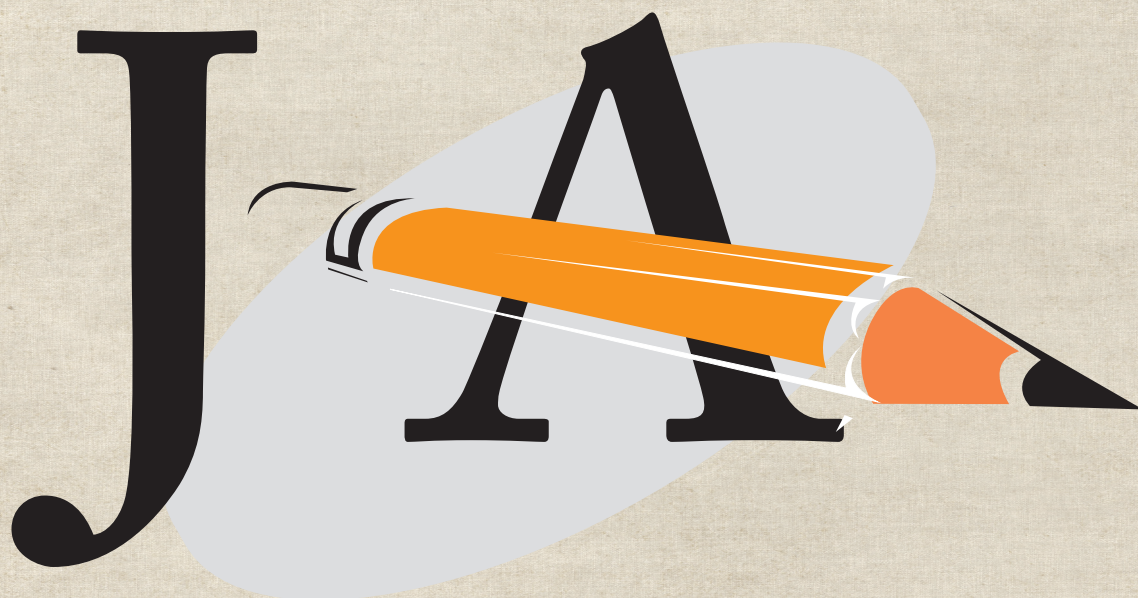


VIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja

Resumos expandidos



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

Documentos 339

VIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja

Resumos expandidos

Editor Técnico

Paula Geron Saiz-Melo

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass - Acesso Orlando Amaral
Caixa Postal 231 - 86001-970 - Londrina, PR
Fone: (43) 3371-6000 - Fax: 3371-6100
Home page: www.cnpso.embrapa.br
e-mail (sac): sac@cnpso.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Ricardo Villela Abdelnoor
Secretário-Executivo: Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite
Membros: Adeney de Freitas Bueno
Adônis Moreira
Alvadi Antonio Balbinot Junior
Claudio Guilherme Portela de Carvalho
Decio Luiz Gazzoni
Francismar Correa Marcelino-Guimarães
Fernando Augusto Henning
Norman Neumaier

Supervisão editorial: Vanessa Fuzinato Dall'Agnol

Normalização bibliográfica: Ademir Benedito Alves de Lima

Editoração eletrônica: Marisa Yuri Horikawa

Capa: Marisa Yuri Horikawa

1ª edição

Versão Eletrônica

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais
(Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Soja

Jornada Acadêmica da Embrapa Soja (8. : 2013: Londrina, PR).
Resumos expandidos [da] VIII Jornada Acadêmica da
Embrapa Soja Londrina: Embrapa Soja, 2013.
213 p. (Documentos / Embrapa Soja, ISSN 2176-2937;
n.339)

Editor técnico: Paula Geron Saiz Melo.

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

CDD 633.34072

© Embrapa 2013

Apresentação

A Jornada Acadêmica da Embrapa Soja tem como objetivo promover o trabalho desenvolvido pelos estudantes que integram o Programa de Estágio de Complementação Educacional da Embrapa, junto às equipes de pesquisa e apoio da Unidade.

Por meio da inscrição de trabalhos nas modalidades escrita e oral, os participantes vivenciam a dinâmica de um evento científico, contando com o suporte de seus orientadores e do Comitê de Publicações da Embrapa Soja. Além disso, interagem com seus pares, com a comunidade convidada e com o público interno da empresa, em um significativo processo de aprendizagem.

Em sua 8ª Edição, realizada em julho de 2013, a Jornada contou com 43 trabalhos inscritos e com 33 apresentações orais. Os resumos encontram-se nesta publicação, que temos a satisfação de apresentar.

Cabe à Embrapa Soja agradecer aos orientadores e estagiários que contribuíram para a realização da VIII Jornada Acadêmica da Embrapa Soja. Aproveitamos, ainda, para parabenizar a todos pelos bons resultados alcançados.

*Ricardo Vilela Abdelnoor
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento
Embrapa Soja*

Sumário

Diversidade genética de isolados monouredinias de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> coletados em diferentes regiões do Brasil. Yokoyama, A. ; Darben, L.M.; Lopes-Caitar, V.S.; Aoyagi, L.N.; Carvalho, M.C.C.G. de; Soares, R.M.; Almeida, A.M.R.; Marcelino-Guimarães, F.C.	11
Eficiência de uso da radiação fotossinteticamente ativa pela soja em dois arranjos de plantas. Rio, A.; Sibaldelli, R. N. R.; Crusiol, L. G. T.; Carvalho, J. F. C.; Ferreira, L. C.; Neiverth, W.; Procopio, S.O.; Almeida, A.M.R.; Neumaier, N.; Nepomuceno, A.L.; Farias, J. R. B.....	16
Área foliar e comportamento espectral de cultivares de soja sob distintos arranjos de plantas. Rio, A.; Sibaldelli, R. N. R.; Crusiol, L. G. T.; Carvalho, J. F. C.; Ferreira, L. C.; Neiverth, W.; Almeida, A.M.R.; Procopio, S.O.; Neumaier, N.; Nepomuceno, A.L.; Farias, J. R. B.	20
Capacidade de Vôo de <i>Telenomus remus</i> Nixon (Hymenoptera: Platygastriidae) criado em hospedeiro natural e alternativo. Sanzovo, A.W.; Pomari, A.F; Bueno, A.F; Queiroz, A.P; Barbosa, G.C.; Bortolotto, O.C.; Stopa, Y.C.; Braga, K.	25
Efeito da interação glifosato e zinco na atividade fotossintética da soja. Navarro, A.T; Canizella B.T; Moreira A.; Moraes, L.A.C.....	29
Densidade de pragas e inimigos naturais em resposta ao tratamento de sementes de soja com inseticidas. Vieira, A.C.; Sismeiro, M.N.S.; Visentini, A.; Tura, G.M.; Fazam, J.C.; Silva, J.E.P da; Pasini, A.; Roggia, S.....	32
Capacidade de dispersão do parasitoide <i>Telenomus remus</i> Nixon (1937) (Hymenoptera: Platygastriidae) na cultura do milho. Queiroz, A.P; Pomari, A.F; Bueno, A.F; Barbosa, G.C; Bortolotto, O.C; Stopa, Y.C.; Braga, K.....	37
Identificação e eficiência de <i>Bacillus</i> spp. inibidor do crescimento de <i>Macrophomina phaseolina</i> . Silva, A. R.; Silva, M. R.; Delamuta, J. R. M.; Santos, J. A.; Ribeiro, R. A.; Binneck, E.; Hungria, M.; Oliveira, M. C. N.; Fantinato, G. G. P.; Cattelan, A. J.; Almeida, A. M. R.	42
Otimização de um método de extração de DNA eficiente, rápido e de baixo custo de sementes de soja para fins de seleção assistida por marcadores moleculares. Brumer, B.B.; Maia, M.S.; Dalcin, M.B.; Kuwahara, M.K.; Novaes, R.M.L.; Silva, D.C.G.; Marcelino-Guimaraes, FC; Abdelnoor, R. V	46
Flutuação populacional de Noctuídeos determinada pela captura com armadilhas luminosas na região norte de Londrina, Paraná. Piotto, B.K.; Sosa-Gómez, D.R.....	51
Varição nos Teores de Óleo e Proteína em Grãos de Soja, com diferentes intensidades de ataque de percevejo, da colheita ao armazenamento, utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR). Delafrente, B.; Vilas Boas R.L.P; Leite, R.S.; Mandarino, J.M.G.; Quirino, J.R.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Lorini, I.; Oliveira, M.A.	55
Evolução dos defeitos da soja comercial durante o armazenamento em função da infestação de percevejos na lavoura. Bocatti, C. R.; Lorini, I. ² ; Quirino, J. R.; Rosa, E. S.; Corrêa-Ferreira, B. S.; Oliveira, M. A. de	60
Determinação de matéria orgânica em amostras de solo - Estudo comparativo de métodos. Bazoni, C.H.V.; Kleinert, J.J.; Germano, M.G.; Leite, R.S.; Oliveira Junior, A. de	65

Uso da krigagem indicatriz na avaliação espacial de percevejos da espécie <i>Piezodorus guildinii</i> na Safra 2011/12. <i>Farias, C.H.; Oliveira, M.C.N. de; Roggia, S.</i>	70
Métodos Exploratórios na Avaliação da Distribuição Espacial de Percevejos da Soja. <i>Farias, C.H.¹; Oliveira, M.C.N. de²; Roggia, S.²</i>	77
Interferências metodológicas nos valores de NDVI: Posicionamento do sensor e área amostral. <i>Crusiol, L. G. T.; Neiverth, W.; Rio, A.; Sibaldelli, R. N. R.; Ferreira, L. C.; Carvalho, J. F. C.; Nepomuceno, A. L.; Neumaier, N.; Farias, J. R. B.</i>	82
NDVI de estádios de desenvolvimento da soja BRS 284 em condições de campo. <i>Crusiol, L. G. T.; Neiverth, W.; Rio, A.; Sibaldelli, R. N. R.; Ferreira, L. C.; Carvalho, J. F. C.; Nepomuceno, A. L.; Neumaier, N.; Farias, J. R. B.</i>	87
Flutuação populacional do ácaro-verde, <i>Mononychellus planki</i> , em soja safrinha. <i>Ferrari, F.; Roggia, S.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Rodrigues, L.V.; Visentini, A.; Maziero, E.C.</i>	92
Alternativas culturais para o manejo do nematoide das lesões radiculares durante a entressafra da soja no Mato Grosso. <i>Mendes, F. L.; Araújo, K.; Debiasi, H.; Franchini, J. C.; Dias, W. P.; Ramos Junior, E. U.; Silva, J. F. V.</i>	97
Controle biológico de lepidópteros-praga da soja com liberação de <i>Trichogramma pretiosum</i> <i>Barbosa, G.C.; Pomari, A. F.; Bortolotto, O.C.; Bueno, A.F.; Braga, K. B.; Queiroz, A.P.; Cruz, Y.K.S.; Sanzovo, A.W.</i>	104
Avaliação da Distribuição Espacial de <i>Euschistus heros</i> pelo Método da <i>Krigagem Ordinária</i> . <i>Santos, J.A.dos, Oliveira, M.C.N.de, Roggia, S.</i>	109
Efeito da soja Bt sobre a frequência e densidade populacional de pragas e predadores. <i>Fazam, J.C., Sismeiro, M.N.S.; Roggia, S.; Pasini, A.; Tura, G.M.; Visentini, A.; Vieira, A.C.; Silva, J.E.P. da; Lopes, G.H.¹</i>	115
Aspectos Biológicos de <i>Spodoptera eridania</i> (Lepidoptera: Noctuidae) desenvolvida em Milho Bt e Não Bt. <i>Oliveira, K.B., Bortolotto, O.C., Queiroz, A.P., Silva, G.V., Barbosa, G.C., Cruz, S. Y., Pomari, A.F., Sanzovo, A., Bueno, A.F., Silva, M. E.</i>	119
Produtividade e teor foliar de nitrogênio na soja em função da pressão de pastejo, época de dessecação e aplicação de nitrogênio em sistema lavoura-pecuária. <i>Araujo, K.; Mendes, F.L.; Debiasi, H.; Balbinot Jr, A.A.; Franchini, J.C.</i>	125
Teor de clorofila e NDVI de soja em resposta ao ataque do percevejo-marrom, <i>Euschistus heros</i> . <i>Rodrigues, L.V.; Roggia, S.; Crusiol, L.G.; Cavallari, L.S.; Pereira, J.P.V.; Ferrari, F.</i>	129
Aplicações preventivas de inseticidas intensificam o ataque do percevejo-marrom <i>Euschistus heros</i> em soja. <i>Cavallari, L.S.; Roggia, S.; Campos, T.A. de; Sismeiro, M.N.S.; Pereira, J.P.V.; Lopes, G.H.; Pasini, A.</i>	133
Algumas características das cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16 em diferentes regimes hídricos. <i>Bianco, L. F.; Trevizan, F. H.; Nicolino Filho, C. J.; Oliveira, T. B. M.; Neiverth, W.; Crusiol, L. G. T.; Rio, A.; Sibaldelli, R. N. R.; Carvalho, J. F. C.; Ferreira, L. C.; Nepomuceno, A. L.; Neumaier, N.; Farias, J. R. B.</i>	137
Identificação do número de inserções via <i>Southern blot</i> em linhagens de soja geneticamente modificadas. <i>Lima, L.F.S.; Freitas, R.A.; Marin, S.R.R.; Nepomuceno, A.L.</i>	142
Método de extração de DNA de folhas de soja adaptado para larga escala. <i>Maia, M.S.; Brumer, B.B.; Novaes, R.M.L.; Silva, D.C.G.; Kuwahara, M.K.; Dalcin, M.B.; Marcelino-Guimaraes, F.C.; Abdelnoor, R.V.</i>	146

Aspectos Biológicos de <i>Anticarsia gemmatalis</i> e <i>Spodoptera frugiperda</i> sob diferentes temperaturas na cultura da soja. Souza, M.A.; Salvador, M.C.; Gois, M. S.; Oliveira, T.B.; Luski, P.G.G.; Ueda, T.E.; Vieira, S.S; Graça, J.P; Oliveira, M.C.N. de; Ventura, M.U.; Hoffmann-Campo, C.B.	152
Indução de metabólitos secundários em plantas de soja tratadas com diferentes concentrações de Metil-Jasmonato. Gois, M. S.; Oliveira, T.B.; Souza, M.A.; Luski, P.G.G.; Salvador, M.C.; Ueda, T.E.; Graça, J.P; Oliveira, M.C.N. de; Hoffmann-Campo, C.B.	156
Avaliação da suscetibilidade de linhagens de soja ao vírus causador de necrose da haste. Silva, M. R.; Silva, A. R.; Almeida, A. M. R.	160
Comparação de Configurações para Leitura de Potássio em ICP-OES. Ferreira, M.I.L.; Germano, M.G.; Oliveira Junior, A.	163
Resistência induzida em genótipos de soja infestados por <i>Bemisia tabaci</i> biótipo B. Luski, P.G.G.; Vieira, S. S.; Graça, J.P; Gois, M. S.; Ueda, T.E; Souza, M.A.; Salvador, M.C.; Oliveira, M. C. N. de; Hoffmann-Campo, C.B	168
Suscetibilidade de <i>Euschistus heros</i> a tiametoxam, lambda-cialotrina e acefato em mesorregiões do Paraná, Brasil. Husch, P. E.; Sosa-Gómez, D. R.	174
Uso de pseudorrepetição no estudo do controle biológico de percevejos em lavouras de soja orgânica. Santos, J. A. dos; Oliveira, M.C.N. de, Corrêa-Ferreira, B.S., Peres, W.A.A.	178
Variação no Perfil de Ácidos Graxos em Grãos de Soja, com diferentes intensidades de ataque de percevejo, da colheita ao armazenamento, utilizando a cromatografia gasosa. Vilas Boas R.L.P.; Delafrente, B.; Leite, R.S.; Mandarino, J.M.G.; Quirino, J.R.; Corrêa-Ferreira, B.S.; Lorini, I.; Oliveira, M.A.	185
Plantio cruzado em cultivar de soja de tipo de crescimento determinado. Babolim, R.C.G.; Procópio, S.O.; Balbinot Jr., A.A.; Debiasi, H.; Franchini, J.C.; Simionato, U.R.	189
Calibração dos Níveis Críticos de Potássio nas Folhas de Soja de Cultivares com Tipo de Crescimento Indeterminado em Diferentes Estádios de Desenvolvimento. El Kadri, S.; Germano, M.G.; Oliveira, F.A. de; Castro, C. de; Oliveira Junior, A. de	193
Plantio cruzado na cultura da soja em uma cultivar de tipo de crescimento indeterminado. Simionato, U.R.; Procópio, S.O.; Balbinot Jr., A.A.; Debiasi, H.; Franchini, J.C.; Babolim, R.C.G. .	196
Desempenho produtivo de genótipos de girassol cultivados nas safrinhas 2011 e 2012. Chinaglia, V. G.; Grunvald, A. K.; Carvalho, C. G. P.; Carvalho, H. W. L. de; Oliveira, A. C. B. de; Godinho, V. de P. C.; Amabile, R. F.; Ribeiro, J. L.	200
NDVI de estádios fenológicos da soja BRS 284 de crescimento indeterminado em casa de vegetação. Neiverth, W.; Crusiol, L. G. T. ; Carvalho, J. F. C.; Ferreira, L. C.; Rio, A.; Sibaldelli, R. N. R.; Neumaier, N.; Farias, J. R. B.	204
Biologia de <i>Dichelops melacanthus</i> (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com soja Bt em diferentes temperaturas. Cruz, Y.K.S.; Bortolotto, O.C.; Bueno, A.F.; Barbosa, G.C; Silva, G.V; Braga, K.; Pomari, A. F; Queiroz, A.P; Sanzovo, A. W. S.	210

Diversidade genética de isolados monouredinias de *Phakopsora pachyrhizi* coletados em diferentes regiões do Brasil.

Yokoyama, A.^{1*}; Darben, L.M.²; Lopes-Caitar, V.S.³; Aoyagi, L.N.⁴; Carvalho, M.C.C.G. de¹; Soares, R.M.⁵; Almeida, A.M.R.⁵; Marcelino-Guimarães, F.C.⁵.

¹Univ. Est. do Norte do Paraná/ Bolsista CNPq*; ²Dep. de Agronomia, Univ. Est. de Maringá; ³Depto de Ciência da Computação, UTFPR – Campus Cornélio Procopio; ⁴Dep. de Bioquímica e Biotecnologia, Univ. Est. de Londrina; ⁵Embrapa Soja, Londrina.

*E-mail: ale_yokoyama@hotmail.com

Introdução

A soja cultivada é uma planta da família Fabaceae, gênero *Glycine* e espécie *Glycine max* (L.) Merrill. A sojicultura brasileira apresenta números expressivos que traduzem a grande importância econômica e social que a atividade gera para a economia do país. Na safra atual (2013/14), espera-se que o Brasil se torne o maior produtor mundial, ultrapassando os Estados Unidos, chegando à produção de 81,94 milhões de toneladas (Conab, 2013). No entanto, fatores bióticos e abióticos ainda limitam a produtividade dessa cultura. Atualmente, a principal doença que afeta a produção de soja no Brasil é a ferrugem asiática da soja (FAS), causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow. De modo geral, as ferrugens são parasitas obrigatórios (biotróficos), desenvolvendo estratégias eficientes para explorar células vivas como fontes de alimento (ZAMBOLIN, 2006). O uso contínuo de fungicidas aliado à prática do vazio sanitário, adotada em todas as regiões produtoras de soja no Brasil, tem sido cruciais para o controle da doença nos últimos anos. No entanto, em condições ambientais favoráveis, focos da doença ocorrem rapidamente. Na safra 2012/13 foram detectados pelo menos 461 focos da doença nas principais regiões produtoras (Consórcio Nacional Anti-Ferrugem, 2013).

Vários genes de resistência a FAS foram identificados em introduções de plantas ou cultivares, sendo denominados *Rpp1* a *Rpp6* (Li et al., 2012). De acordo com Freire et al. (2008), mesmo com a disponibilidade de fontes de resistência, a obtenção de variedades comerciais com resistência durável ao fungo ainda não foram obtidas, dada a falta de compreensão sobre aspectos fundamentais da biologia do fungo, da interação entre planta-patógeno a nível intra-específico, bem como informações sobre a variabilidade do fungo nas lavouras de soja brasileira e mundial. Embora diferentes trabalhos tenham avaliado a variabilidade genética de populações de *P. pachyrhizi* no Brasil (Freire et al., 2008; Yamanaka et al., 2010), o estudo da diversidade genética de isolados ainda é inédita. O conhecimento do espectro de virulência e variabilidade do patógeno é fundamental para que programas de melhoramento genético possam realizar um planejamento estratégico, priorizando a obtenção de cultivares que apresentem uma ampla resistência aos isolados de determinada região, por exemplo, pela piramidação de genes (Paul e Hartman, 2009).

Para estudar a diversidade genética de muitos organismos, dentre eles os fungos, ferramentas moleculares tem sido amplamente utilizadas. A análise de sequências do DNA ribossomal (rDNA) vem sendo utilizada para estabelecer relações de filogenia molecular dentro de muitos grupos de fungos. Os três genes do RNA ribossômico fazem parte de um cluster gênico, contendo o gene 18S, o gene 5,8 S e o gene 28S que são separados pelas regiões de ITS1 e ITS2, as quais são transcritas e processadas para dar origem ao RNA ribossômico maduro.

As regiões ITS evoluem rapidamente e, então, são apropriadas para discriminar espécies relacionadas ou até mesmo variedades de uma mesma espécie (Fungaro, 2000).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética de isolados monouredinais do fungo *Phakopsora pachyrhizi* coletados em diferentes regiões produtoras de soja no Brasil, por meio da análise das sequências da região do espaçador interno transcrito 1 (ITS1).

Material e Métodos

A análise molecular foi realizada utilizando 22 isolados de *P. pachyrhizi* obtidos por meio de cultura monouredinial, com pelo menos 3 ciclos de purificação, a partir de amostras de folhas infectadas com o fungo *P. pachyrhizi* coletadas em diferentes regiões produtoras de soja do Brasil. Cada isolado recebeu um código referente à sua origem geográfica (Tabela 1).

Tabela 1. Relação dos isolados obtidos neste estudo com seus respectivos códigos e áreas de coleta.

Número	Localização	Código do isolado
1	Londrina-PR	L.LD511
2		L.LDEB11
3		L.LDP211
4		L.LDP411
5		L.LD412
6	Vilhena-RO	L.VL212
7		L.VL112
8	Conceição das Alagoas-MG	L.CA4A12
9		L.CA7A12
10	Rondonópolis-MT	L.RD612
11	Goiânia-GO	L.GO212
12		L.GO412
13	Campo Verde-MT	L.CV512
14	Primavera do Leste-PR	L.PL312
15		L.PL512
16	Ponta Grossa-PR	L.PG212
17		L.PG412
18	Uberlândia-MG	L.UB112
19		L.UB512
20	Lucas do Rio Verde-MT	L.LRV312
21	Santo Antônio das Posses-GO	L.STA212
22	Tamarana-PR	L.TAM212

Esporos frescos de cada isolado foram utilizados para a extração do DNA seguindo protocolo descrito por Dellaporta et al. (1983), com modificações. Após a extração, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro NanoDrop® ND-1000 UVis e sua integridade verificada por meio de eletroforese em gel de agarose 0,8%. As amostras foram diluídas para se obter uma concentração final de 10 η g/mL por amostra. Reações em cadeia da DNA polimerase (PCR's) foram realizadas para a caracterização molecular da região ITS1 do genoma de *P. pachyrhizi* a fim de detectar a variabilidade intraespecífica entre os isolados, utilizando iniciadores específicos para essa região: ITSP5 (5'-GCAACGGCACTTTACTGGCTC-3') e ITS6 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') (Freire et al., 2008). Os fragmentos amplificados foram

separados em gel de agarose a 1,2% em tampão TAE 1X. O marcador de tamanho molecular de 100pb foi utilizado como guia para verificar o tamanho dos fragmentos obtidos.

O produto de amplificação via PCR correspondente à região ITS1 foi purificado utilizando o Kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-up System (Promega). O DNA purificado foi ligado ao vetor de clonagem pCR®2.1-TOPO (Invitrogen®) utilizando o TOPO®TA Cloning® Kit (Invitrogen®) e células de *Escherichia coli* DH5 eletrocompetentes foram transformadas por eletroporação.

Para análise dos transformantes, colônias brancas isoladas foram repicadas e analisadas por PCR. Os plasmídeos recombinantes foram extraídos das colônias que apresentavam o inserto utilizando-se o Kit *Wizard® Plus Minipreps DNA Purification Systems (Promega)*, seguindo as instruções do fabricante. O produto purificado foi quantificado em espectrofotômetro e sua integridade verificada em eletroforese. As amostras foram diluídas para uma concentração final de 200ng/mL. Quatro a seis clones de cada isolado foram sequenciados.

Quatro a seis contigs para cada isolado foram obtidos com o auxílio do programa Sequencher® v.4. As sequências já editadas foram inseridas no programa BioEdit 7.0.5.3. Esta sequência foi utilizada para alinhamentos múltiplos realizados pelo programa ClustalX2. O mesmo programa foi utilizado para gerar a árvore filogenética pelo método "neighbor-joining". Por fim, a árvore filogenética foi visualizada no programa MEGA 5.05.

Resultados e discussão

O tamanho dos fragmentos sequenciados variou de 196pb para os isolados L.CV512, L.LDP411, L.VL112, L.LD412, L.LDP211, L.PG412, L.PL3.12, L.RD612, L.STA212, L.TAM212 a 199pb para o isolado L.CA4A12. O alinhamento das 22 sequências revelou uma identidade de aproximadamente 94% entre os isolados, resultando na identificação de 13 haplótipos distintos. Tal resultado exprime uma elevada diversidade genética presente entre as amostras coletadas no Brasil. A distribuição dos 13 haplótipos entre as 12 localidades analisadas é apresentada na Tabela 2.

Frederick et al. (2002) observaram a mesma variação no comprimento da região ITS1 quando analisaram 13 isolados de *P. pachyrhizi* provenientes de diferentes países (Austrália, Havaí, Índia, Indonésia, Filipinas, Taiwan, Tailândia e Zimbábwe) conferindo uma identidade maior que 98% entre as sequências. Ao comparar os resultados destes autores com o observado no presente trabalho, pode-se considerar que houve uma alta diversidade de isolados encontrados no Brasil, já que as análises foram realizadas a partir de isolados coletados em apenas um país.

A árvore filogenética baseada nas sequências da região ITS1 revelou a separação dos isolados em dois grupos, não tendo sido agrupados a estes, três isolados (L.GO412, L.PG412 e L.LPD211).

A alta variabilidade observada entre os isolados pode ser explicada pela co-evolução entre patógeno e hospedeiro como consequência do uso de diferentes cultivares nas regiões produtoras de soja, bem como pela forte pressão seletiva exercida pelo elevado uso de fungicidas e elevada capacidade de dispersão dos esporos. A ocorrência de eventos de mutação, introdução de isolados geneticamente distintos e as práticas culturais também podem ter grandes influências na diversidade genética do patógeno. Outro mecanismo que poderia contribuir para a elevada variabilidade genética observada em populações de *P. pachyrhizi* é a ocorrência de anastomose seguida do ciclo parassexual, mecanismo já descrito na espécie (Vittal et al, 2011).

Tabela 2. Distribuição dos 13 haplótipos gerados pela análise da região ITS1 de isolados de *P. pachyrhizi*

Haplótipos	Localidades*												Total de haplótipos	
	LD	VL	CA	RD	GO	CV	PL	PG	UB	LRV	STA	TAM		
1	1												1	
2						1							1	
3					1								1	
4			1										1	
5								1		1			2	
6							1						1	
7		1	1							1			3	
8					1								1	
9	2	1		1			1				1	1	7	
10	1												1	
11								1					1	
12	1												1	
13									1				1	
Total de haplótipos / local	5	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	1	1	22

*LD-Londrina, VL-Vilhena, CA-Conceição das Alagoas, RD-Rondonópolis, GO-Goiânia, CV-Campo Verde, PL-Primavera do Leste, PG-Ponta Grossa, UB-Uberlândia, LRV-Lucas do Rio Verde, STA- Santo Antonio das Posses, TAM-Tamarana.

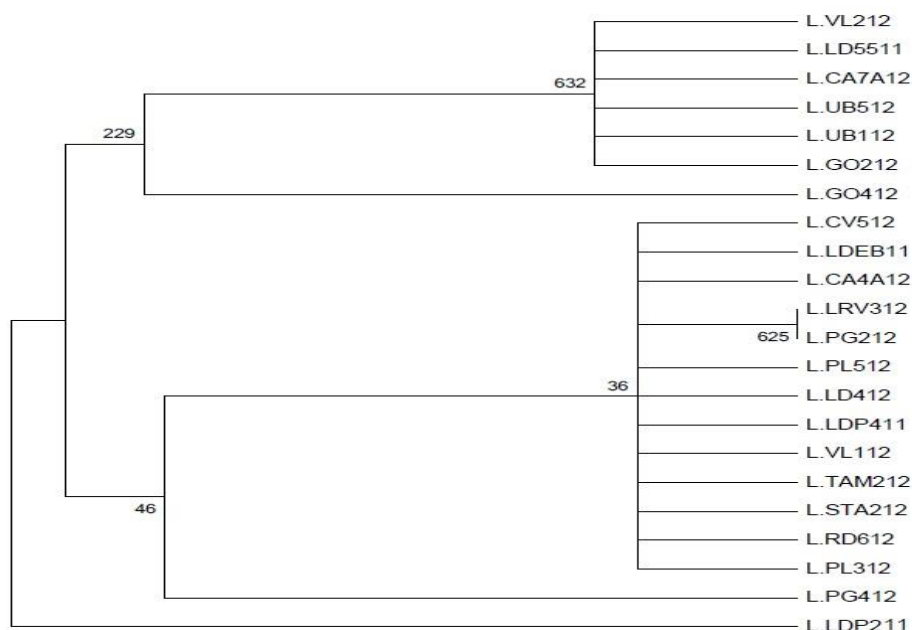


Figura 1. Árvore filogenética construída partir das sequências da região ITS1 dos isolados de *P. pachyrhizi*.

O conhecimento sobre a variabilidade e estrutura genética das populações de *P. pachyrhizi* é de extrema importância, pois permite traçar estratégias eficientes de controle com base na interação molecular entre patógeno e hospedeiro, no desenvolvimento de genótipos que apresentem ampla resistência ao fungo *P. pachyrhizi*.

Conclusão

A análise da região ITS1 foi eficiente na identificação de variação intraespecífica entre isolados de *P. pachyrhizi*, revelando a existência de 13 haplótipos diferentes dentre os 22 isolados analisados.

Referências

- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sétimo levantamento**. Brasília: 2013.
- CONSÓRCIO ANTIFERRUGEM, 2013. Disponível em: <http://www.consorcioantiferrugem.net/portal/?page_id=698> Acesso em: 27 abr. 2013.
- DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant DNA minipreparation: version II. In: KORBAN, S.S. **Plant molecular biology reporter**. 1. ed. Nova York, 1983. v.1, p.19-21.
- FREDERICK, R. D.; SNYDER, C. L.; PETERSON, G. L.; BONDE, M. R. Polymerase chain reaction assays for the detection and discrimination of the soybean rust pathogens *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomia*. **Phytopathology**, v.92, n.2, p.217-227, 2002.
- FREIRE, M. C. M; OLIVEIRA, L. de O; ALMEIDA, A. M. R de; SCHUSTER, I; MOREIRA, M. A; LIEBENBERG, M. M; MIENE, C. M. S. Evolutionary history of *Phakopsora pachyrhizi* (the Asian soybean rust) in Brazil based on nucleotide sequences of the internal transcribed spacer region of the nuclear ribosomal DNA. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, n.4. p. 920-93, 2008.
- FUNGARO, M. H. P. PCR na micologia. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. v. 3, n. 14, p.12-16, 2000.
- LI, S.; SMITH, J.R; RAY, J.D.; FREDERICK, R.D. Identification of a new soybean rust resistance gene in PI567102B. **Theoretical Applied Genetics**, v. 125, p. 133-142, 2012.
- PAUL, C.; HARTMAN, G.L. Sources of soybean rust resistance challenged with single-spored isolates of *Phakopsora pachyrhizi*. **Crop Science**, n. 49, p. 1781-1785, 2009.
- YAMANAKA, N; YAMAOKA, Y; KATO, M; LEMOS, N. G; PASSIANOTTO, A.L de L; SANTOS, J.V.M; BENITEZ, E.R; ABDELNOOR, R. V; SOARES, R.M; SUENAGA, K. Development of classification criteria for resistance to soybean rust and differences in virulence among Japanese and Brazilian rust populations. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n.3, p.153-162, 2010.
- ZAMBOLIN, L. **Manejo integrado da ferrugem asiática da soja**. Ferrugem asiática da soja. Viçosa: Suprema, 2006,139p.
- VITTAL, R; YANG, H-C; HARTMAN, G.L. Anastomosis of germ tubes and migration of nuclei in germtube networks of the soybean rust pathogen, *Phakopsora pachyrhizi*. **European Journal of Plant Pathology**, v.132, p.163-167, 2011.

Eficiência de uso da radiação fotossinteticamente ativa pela soja em dois arranjos de plantas.

Rio, A.¹; Sibalidelli, R. N. R.²; Crusiol, L. G. T.³; Carvalho, J. F. C.⁴; Ferreira, L. C.⁵; Neiverth, W.⁶; Procopio, S. O.⁷; Almeida, A. M. R.⁷; Neumaier, N.⁷; Nepomuceno, A. L.⁷; Farias, J. R. B.⁷

¹Mestrando USP/ESALQ Bolsista CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ²Mestrando UTFPR, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ³Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ⁴Pós Doutoranda/CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ⁵Pós doutorando/CNPq, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ⁶Bolsista CNPq/DTI-C, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ⁷Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. e-mail: alexandre@cnpso.embrapa.br

Introdução

Desde sua introdução no Brasil, a soja (*Glycine max* L Merrill), uma das espécies cultivadas mais antigas do mundo, tem sido conduzida com alto nível tecnológico em todas as suas operações, constituindo-se em uma “commodity” de grande importância comercial para o desenvolvimento da agricultura brasileira, sendo cultivada em todas as regiões. Os principais fatores determinantes para uma adequada instalação de lavoura de soja são os relacionados à época de semeadura, distribuição dos fatores climáticos, operações de semeadura, características das cultivares e a qualidade da semente (EMBRAPA, 2012).

A radiação solar é um importante fator ambiental que, além de fornecer energia luminosa para a fotossíntese, também afeta uma gama de processos fisiológicos da soja. Nesse contexto, além da intensidade da radiação solar, a duração e a qualidade do espectro luminoso são determinantes para respostas morfológicas e fenotípicas, tais como estatura da planta, indução ao florescimento e ontogenia (THOMAS, 1994).

Novos arranjos de plantas que possam favorecer uma maior interceptação de radiação solar vêm sendo estudados e entre estes se destaca, a semeadura cruzada da soja. Essa nova técnica de manejo para a cultura tem chamado a atenção dos agricultores por proporcionar maiores rendimentos por hectare, chegando a 6038 Kg ha⁻¹ na Fazenda Veneza em Correntina, BA, na safra de 2010/2011 (SOUZA, 2011).

A produção de biomassa pelas culturas está relacionada à quantidade de radiação fotossinteticamente ativa interceptada e absorvida pelas folhas, bem como à eficiência com que estas convertem a energia radiante em energia química, pela fotossíntese (RADIN et al., 2002). A radiação solar é um fator fundamental para determinar o crescimento da planta. A relação entre a quantidade de radiação fotossinteticamente ativa (RFA) e a quantidade de matéria seca produzida tem sido usada para determinar a eficiência de uso da radiação (MONTEITH, 1973).

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do uso da radiação fotossinteticamente ativa pela soja, semeada em linhas não cruzadas e em linhas cruzadas, correlacionando-a com o seu rendimento de grãos.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na fazenda experimental da Embrapa Soja, no município de Londrina, PR, safra primavera/verão, no período entre novembro de 2011 e fevereiro de 2012, O clima da região é subtropical úmido de verão quente, Cfa, conforme a classificação de Köppen. Foram utilizadas as cultivares de soja BRS 359 RR, de tipo de crescimento indeterminado e BRS 294 RR, de tipo de crescimento determinado. A semeadura foi realizada em latossolo roxo distrófico, no dia 18/10/2011 e a colheita no dia 27/02/2012.

As parcelas de 4,8m x 8m foram semeadas com população normal recomendada para a cultura da soja, com 40cm entre linhas, casualizadas em três blocos. Foram realizados dois arranjos de plantas: semeadura em linhas não cruzadas (NC) e em linhas cruzadas (CR).

A RFA (Radiação Fotossinteticamente Ativa) foi medida por um sensor (LI-191 LI-COR), acoplado a um *datalogger* (LI-1000 LI-COR). As leituras foram realizadas pontualmente no estádio vegetativo da cultura R1, em três horários ao longo do dia, 9h 12h e 15h, em dois pontos no interior de cada parcela e em duas alturas, rente ao solo e 20cm acima do dossel. Foram considerados nas análises os dados da radiação solar global (R_g), coletados com piranômetro (LI-200 LI-COR) na estação meteorológica da fazenda experimental da Embrapa Soja (latitude 23°11'44" S; longitude: 51°10'35" W; altitude: 598 m).

Os dados de RFA foram registrados em $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ e convertidos em $\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, adotando-se a seguinte expressão:

$$RFA = \sum_{\text{diário}} \frac{RFA (\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}) \cdot t (s)}{1000000} (\text{mol de fótons m}^{-2}\text{dia}^{-1})$$

os dados foram transformados em $\text{MJ m}^{-2} \text{dia}^{-1}$, conforme Thimijan e Heins (1983), pela fórmula:

$$RFA = \sum_{\text{diário}} \frac{RFA (\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}) \cdot t (s)}{\frac{4,57}{1000000}} (\text{MJ m}^{-2}\text{dia}^{-1})$$

A radiação fotossinteticamente ativa interceptada (RFA_{int}) pela cultura foi calculada conforme Varlet-Grancher et al. (1982): , em que RFA_{inc} é a radiação incidente e RFA_{ts} é a radiação transmitida ao solo. A eficiência de interceptação (ϵ) da RFA pela cultura foi estimada considerando-se a RFA_{int} e a RFA_{inc} , pela expressão:

$$\epsilon_{int} = \frac{RFA_{int}}{RFA_{inc}}$$

As medidas de foram obtidas no estádio de desenvolvimento R1 da cultura, e realizadas em três horários distintos, às 9h, 12h e 15h. Os dados de rendimento de grãos foram obtidos na colheita, sendo realizada a pesagem dos grãos por parcela e a correção para 13% de umidade e Kg ha^{-1} .

Os dados foram submetidos à análise de variância através do programa computacional Sisvar 5.3, e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Houve diferença significativa entre as cultivares BRS 359 e BRS 294 em relação à, onde a segunda cultivar apresentou uma eficiência de interceptação da RFA superior em ambos os sistemas de semeadura (Tabela 1).

Tabela 1. Eficiência de interceptação da RFA (ϵ_{int}) e rendimento de grãos (Rend) em Kg ha⁻¹, obtidos nas cultivares de soja BRS 359 RR e BRS 294 RR sob dois arranjos de plantas, em linhas não cruzadas (NC) e cruzadas (CR). Embrapa Soja, Londrina-PR, 2012

Cultivar	NC		CR		Médias (6P)	
	ϵ_{int}	Rend	ϵ_{int}	Rend	ϵ_{int}	Rend
BRS 359 RR	0,82 Ab	3524 Aa	0,87 Ab	3394 Aa	0,85 b	3459 a
BRS 294 RR	0,96 Aa	3167 Aa	0,95 Aa	3008 Aa	0,95 a	3088 b
Médias (6P)	0,89 A	3346 A	0,91 A	3201 A		

6P: Médias de 6 parcelas. Médias seguidas de mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si a 5% de significância pelo teste Tukey.

Nota-se que houve diferença significativa entre as cultivares BRS 359 e BRS 294 em relação à, onde a segunda cultivar apresentou uma eficiência de interceptação da RFA superior em ambos os arranjos de plantas. Entretanto esta diferença significativa da não resultou em maior rendimento de grãos. A cultivar BRS 359, desconsiderando o sistema de semeadura, apresentou rendimento estatisticamente superior a BRS 294, com um acréscimo de produtividade de 371 kg.ha⁻¹.

As diferenças de comportamento da eficiência da interceptação da radiação observadas entre as duas cultivares podem estar relacionadas aos diferentes tipos de crescimento dos dois materiais. Em geral, as folhas crescem mais em condições de menor interceptação de radiação (TAIZ & ZEIGER, 2009), o que possivelmente ocorreu com a cultivar BRS 359 em manejo não cruzado.

Apesar da inexistência de diferença significativa, a cultivar BRS 359, de tipo de crescimento indeterminado, apresentou ganho numérico em eficiência de interceptação da radiação fotossinteticamente ativa quando disposta em linhas cruzadas. Por outro lado na cultivar BRS 294, de tipo de crescimento determinado, a disposição das plantas em linhas cruzadas não contribuiu para o incremento da ϵ_{int} .

Mathew et al. (2000) conduziram um experimento onde o enriquecimento da radiação solar (através da inclinação a 45 graus das fileiras de bordadura) foi iniciado no final do período vegetativo e no início do florescimento, e observado aumento do rendimento em 144 e 252%, respectivamente. Estes aumentos de rendimento foram devidos, principalmente, ao maior número de vagens. Quando o enriquecimento luminoso ocorreu no início da formação das vagens o aumento do tamanho da semente variou de 8 a 23%, resultando em 32 a 115% de acréscimo no rendimento.

De acordo com os dados mostrados por Silveira et al. (2012), trabalhando com população de soja de 300 mil plantas ha⁻¹, também encontraram maior rendimento para semeadura em linhas não cruzadas em relação a semeadura em linhas cruzadas. Ao contrário, Lima et al. (2012) encontraram produtividades superiores sob semeadura de soja em linhas cruzadas em relação às linhas não cruzadas. No presente trabalho não ocorreram diferenças de produtividades entre os manejos conduzidos. Estudos adicionais são necessários para melhor definir o manejo da cultura e a viabilidade de adoção da prática da semeadura cruzada.

Conclusões

Não houve acréscimo de rendimento de grãos no arranjo de plantas de soja com semeadura em linhas cruzadas em relação a linhas não cruzadas.

Os dados apresentados enfatizam a importância da implementação de estudos detalhados para se estabelecer relação entre o índice de eficiência da radiação solar e do rendimento da soja em uma análise de sistemas alternativos de arranjos de plantas para a cultura.

Referências

EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2012 e 2013**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/download/SP15-VE.pdf>>.

LIMA, S.F.; ALVAREZ, R.C.F.; THEODORO, G.F.; BAVARESCO, M.; SILVA, K.S. Efeito da semeadura em linhas cruzadas sobre a produtividade de grãos e a severidade da ferrugem asiática da soja. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.6, p.954-962, 2012.

MATHEW, J.P.; HERBERT, S.J.; ZHANG, S.; RAUTENKRANZ, A.A.F.; LITCHFIELD, G.V. Differential response of soybean yield components to the Timing of Light. **Enrichment Agronomy Journal**, Madison, v.92, p.1156-1161, 2000.

MONTEITH, J.L. **Principles of Environment Physics**. Elsevier. New York, 241p.1973.

RADIN, B. Eficiência de uso da radiação fotossinteticamente ativa pela cultura do tomateiro em diferentes ambientes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.9, p.1017-1023, 2003.

SILVEIRA, F.O.; PERIN, A.; JUNIOR, H.R.S.; FURQUIN, L.C.; SANTINI, J.M.K.S.; SALIB, G.C. Produção da cultivar de soja NA 7337 RR com a utilização de plantio em linhas cruzadas. **Anais...** I Congresso de Pesquisa e Pós-Graduação do Campus Rio Verde do I.F.Goiano, 2012.

SOUZA, P.I.M. **Caso sobre o campeão brasileiro de produtividade de soja – safra 2010/2011**. Disponível em: <http://www.desafiosoja.com.br/arquivos/Plinio_Iltamar_de_Mello_de_Souza.pdf>. Acesso em: Ago/2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Artmed, 4ªed. Cap.9, p.220-243, 2009.

THIMIJAN, R.W.; HEINS, R.D. Photometric, radiometric, and quantum light units of measure: a review of procedures for interconversion. **Hort Science**, St. Joseph, v.18, n.6, p.818-822, 1983.

THOMAS, J.F. Ontogenetic and morphological plasticity in crop plants. In: BOOTE, K.J. et al. **Physiology and Determinations of Crop Yield**. Madison: ASA/CSSA/SSSA, Cap.7B, p.181-185, 1994.

VARLET-GRANCHER, C.; BONHOMME, R.; CHARTIER, M.; ARTIS, P. Efficience de la conversion de l'énergie solaire par un couvert végétal, **Acta Ecologica Sinica**, v.17, n.1, p.3-26, 1982.

Área foliar e comportamento espectral de cultivares de soja sob distintos arranjos de plantas.

Rio, A.¹; Sibaldelli, R. N. R.²; Crusiol, L. G. T.³; Carvalho, J. F. C.⁴; Ferreira, L. C.⁵; Neiverth, W.⁶; Almeida, A.M.R.⁷; Procopio, S.O.⁷; Neumaier, N.⁷; Nepomuceno, A.L.⁷; Farias, J. R. B.⁷

¹Mestrando USP/ESALQ Bolsista CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ² Mestrando UTFPR, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ³Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ⁴Pós Doutoranda/CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ⁵Pós Doutorando/CNPq, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ⁶Bolsista CNPq/DTI-C, Embrapa Soja, Londrina, Paraná; ⁷Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. e-mail: alexandre@cnpsa.embrapa.br

Introdução

Estresses abióticos como a seca, excesso de chuvas, temperaturas extremas (altas ou baixas) e baixa luminosidade, podem reduzir significativamente rendimentos das culturas no campo e restringir os locais, as épocas e os solos onde espécies comercialmente importantes podem ser cultivadas. Dos elementos climáticos, a temperatura, o fotoperíodo, a disponibilidade hídrica e a radiação solar são os que mais afetam o desenvolvimento e a produtividade da soja (FARIAS et al., 2007).

A radiação solar é uma forma de radiação eletromagnética e, quando disposta de acordo com seus comprimentos de onda ou frequências, forma um arranjo contínuo, conhecido como espectro eletromagnético (ECHER e SOUZA, 2001). A radiação solar, além de fornecer energia luminosa para a fotossíntese, também afeta diversos processos fisiológicos da soja, sendo um fator fundamental para determinar o crescimento da planta.

O Índice de área foliar (IAF) é definido como a razão da área foliar com a área de terra ocupada pela copa da planta; é, portanto um índice adimensional (BENINCASA, 2003). De acordo com Lei de Beer, a penetração da luz direta é descrita por um exponencial negativo em função da densidade da área foliar integrada ao longo do percurso do feixe de energia solar no interior do dossel. Assim, esta lei tem grande aplicação em problemas atmosféricos que envolvam valores de radiação solar direta. As estimativas de área foliar têm como base os mesmos princípios desta lei, pois acredita-se que a localização das folhas está distribuída aleatoriamente na copa. A Lei de Beer tem grande aplicação em problemas atmosféricos que envolvam valores de radiação solar direta (STENBERG et al., 1994).

É relevante o desenvolvimento de estudos que possibilitem o monitoramento das condições de desenvolvimento das plantas na região onde se concentra a produção. Neste sentido, uma das alternativas interessantes consiste no uso de técnicas de sensoriamento remoto, aos quais permitem um estudo em escala regional e com adequada periodicidade. Na literatura são abundantes os trabalhos desenvolvidos neste tema, mostrando a contribuição de imagens de satélite em um sistema de previsão de safras, tanto para estimativa de área cultivada como para o acompanhamento da evolução temporal das plantas (ALMEIDA et al., 2005).

O monitoramento de culturas agrícolas por imagens de satélites tem sido feito por meio dos índices de vegetação, definidos como combinações de dados espectrais de duas ou mais bandas (MOREIRA, 2000). Dentre os índices de vegetação comumente citados na literatura, o Índice de Vegetação de Diferença Normalizada (NDVI) tem sido o mais frequentemente utilizado,

inclusive para atividades de monitoramento global (Sellers et al, 1994), bem como na análise do comportamento espectral de genótipos de soja em diferentes condições hídricas (CRUSIOL et al., 2013) e diferentes horários do dia (CRUSIOL et al., 2012).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a Relação entre o Índice de Área Foliar (IAF) e o Índice de Vegetação de Diferença Normalizada (NDVI) em cultivares de soja, de tipo de crescimento determinado e indeterminado, e em condições de diferentes arranjos de plantas.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido na fazenda experimental da Embrapa Soja (latitude 23°11'44" S; longitude: 51°10'35" W; altitude: 598 m), no município de Londrina, PR, safra primavera/ verão, no período entre novembro de 2011 e fevereiro de 2012. O clima da região é subtropical úmido de verão quente, Cfa, conforme a classificação de Köppen. Foram utilizadas as cultivares de soja BRS 294 RR, de tipo de crescimento determinado e BMX Turbo RR, de tipo de crescimento indeterminado.

As parcelas de 6m x 6m, foram semeadas com população normal recomendada para a cultura da soja, casualizadas em três blocos. As duas cultivares foram conduzidas em três arranjos de semeadura: com espaçamento entre linhas de 19cm (19), espaçamento de 38cm (38) e espaçamento entre linhas alternados (19x38) (filas duplas espaçadas de 19cm e 38cm entre as fileiras duplas).

O IAF foi medido por um sensor (LI-2050 LI-COR) com anel concêntrico de 90 graus de abertura, acoplado a um datalogger (LI-2000 LI-COR), conforme as recomendações de operação LI-2000 (1992). As leituras foram realizadas no estádio reprodutivo R1 da cultura, em dois pontos no interior de cada parcela e em duas alturas, rente ao solo (em três pontos) e 20cm acima do dossel.

A quantidade de folhagem em um dossel vegetativo pode ser deduzida a partir de medições de quão rapidamente a radiação é atenuada, uma vez que esta passa através da cobertura de plantas. O LAI-2000 mede a atenuação da radiação difusa do céu em cinco ângulos zenitais simultaneamente, utilizando o sensor óptico LAI-2050 projetado para medir através de seu ponto óptico quase hemisférico com detectores dispostos em anéis concêntricos (LI-COR, 1992).

O Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI) (ROUSE et al., 1973) foi medido com o aparelho GreenSeeker 505 HandHeld Sensor, onde o índice é calculado a partir da seguinte equação:

$$NDVI = \frac{(\rho_{iv} - \rho_v)}{(\rho_{iv} + \rho_v)}$$

Onde: ρ_{iv} é a reflectância no infravermelho próximo (compatível com a banda do visível: 630 e 690nm); ρ_v é a reflectância na faixa do vermelho visível (compatível com a banda do visível: 760 e 900nm).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância, através do programa computacional Sisvar 5.3.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 encontram-se apresentados os valores de IAF e NDVI, das cultivares BRS 294 RR e BMX Turbo RR, submetidas aos diferentes arranjos de plantas.

Tabela 1. Índice de Área Foliar (IAF) e Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI), obtidos em duas cultivares de soja (BRS 294 RR e BMX Turbo RR) cultivada em três espaçamentos (19; 38 e 19x38 cm). Embrapa Soja, Londrina-PR, 2012.

Cultivar	19		38		19 x38		Médias (9P)	
	IAF	NDVI	IAF	NDVI	IAF	NDVI	IAF	NDVI
BRS 294 RR	6,08 Aa	0,84 Ab	6,14 Aa	0,86 Aa	6,11 Aa	0,85 Aa	6,11 a	0,85 b
BMX Turbo RR	6,06 Aa	0,87 Aa	6,17 Aa	0,87 Aa	6,34 Aa	0,86 Aa	6,19 a	0,87 a
Médias (9P)	6,07 A	0,86 A	6,16 A	0,87 A	6,22 A	0,86 A		

Médias seguidas de mesma letra maiúscula (linha) e minúscula (coluna) não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey. 9P: Médias de 9 parcelas.

Constatou-se pela Tabela 1 que não houve diferença significativa no comportamento do IAF entre as cultivares nos três sistemas de semeadura estudados. Em relação ao NDVI, não houve diferença significativa entre as cultivares para os espaçamentos 38 e 19x38 cm. Porém, para o espaçamento 19cm, a cultivar BMX Turbo apresentou valor (0,87) superior ao da BRS 294 (0,84). Considerando-se as médias das nove parcelas dentro de cada cultivar, novamente a cultivar BMX Turbo apresentou valor (0,87) superior ao da BRS 294 (0,85).

Segundo Jensen (2009), o NDVI é bastante relacionado ao IAF. Entretanto um dos seus limites é a saturação dos seus dados em relação a altos valores de IAF. Almeida (2008) detectou saturação de NDVI com IAF superior a 4,0 para a cultura de soja em solos com diferentes condições hídricas. A diminuição da sensibilidade do NDVI a altos valores de IAF ocorre devido à reflectância ser atenuada quando a superfície do solo está completamente encoberta pelas folhas. Esta saturação ocorre devido à quantidade de luz vermelha que pode ser absorvida pelas folhas, rapidamente alcançando um pico. Em contraste, a radiação no infravermelho próximo difundida pelas folhas continua a aumentar quando o IAF excede a 3 (MOTOMYIA et al., 2007).

Para a cultura do feijoeiro, Fideles Filho (2005) obteve coeficientes de determinação elevados e significativos entre IAF e NDVI, o que demonstra que o NDVI é uma combinação espectral poderosa para estimar o IAF do feijoeiro em qualquer situação de tratamento hídrico. Em seu trabalho, Motomyia et al. (2009) encontraram valores parecidos tanto para IAF e NDVI quando este atingiu seu valor máximo por volta de 0,85, encontrando correlação quadrática positiva com o IAF, com R^2 de 0,91, para a cultura do algodoeiro.

No presente estudo, o NDVI possivelmente apresentou tendência de saturação com altos valores de IAF, o que pode ter contribuído para a não obtenção de diferenças significativas entre as cultivares estudadas, o que tem sido descrito por diversos autores (ANTUNES et al., 1993; FONSECA, 2002; FIDELES FILHO, 2005). Tal fato evidencia uma das principais limitações quanto ao uso do NDVI, baseada na falta de sensibilidade do índice em diferenciar a vegetação em condições de alta biomassa. Por outro lado, como o IAF não diferiu entre as cultivares ou mesmo entre os espaçamentos, seria de se esperar que o NDVI também não variasse, ou seja, acompanhasse o resultado do IAF. Porém, o NDVI variou de 0,84 a 0,87, mesmo com a diferença estatística detectada no espaçamento de 19 cm. Para se ter certeza da saturação seria necessário ter leituras do NDVI anteriores ao estágio R1, provavelmente quando as plantas ainda apresentavam menores valores de IAF.

Conclusões

Para as condições do presente estudo, o NDVI não apresentou valores significativos para diferenciação das cultivares de soja de tipo de crescimento determinado e indeterminado sob condições de altos valores de IAF. Além disso, deve ser ressaltado que os diferentes arranjos exerceram influência somente sobre o NDVI e não sobre o IAF.

Referências

ALMEIDA, T.S. **Respostas espectrais da soja sob diferentes condições hídricas e de preparo do solo**. 2008. 100p. Dissertação (Mestrado em sensoriamento remoto) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

ALMEIDA, T.S.; FONTANA, D.C.; MARTORANO, L.G.; BERGAMASCHI, H. Índices de vegetação para a cultura da soja em diferentes condições hídricas e de sistema de manejo do solo. **Anais... XII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Goiânia, 2005.

ANTUNES, M. A. H.; ASSAD, E. D.; BATISTA, G. T. Variação das medidas espectrais tomadas com espectrorradiômetro ao longo do ciclo de crescimento da soja. In: **Anais... Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Curitiba, v.3, p.1-9, 1993.

BENINCASA, M.M.P. **Análise de crescimento de plantas**. Jabotiabal, Funep, 41p., 2003.

CRUSIOL, L.G.T.; CARVALHO, J.F.C.; SIBALDELLI, R.N.R.; FARIAS, J.R.B. Diferenciação de cultivares de soja sensível e tolerante à seca por meio de medidas horárias de índice de vegetação (NDVI) e temperatura do dossel em casa de vegetação. **Anais... XVI Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, Foz do Iguaçu, 2013.

CRUSIOL, L.G.T.; CARVALHO, J.F.C.; SIBALDELLI, R.N.R.; PROCÓPIO, S.O.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A.L.; FARIAS, J.R.B. Influência do horário das medições nos valores de NDVI. **Anais... VI Congresso Brasileiro de Soja**, Cuiabá, 2012.

ECHER, E.; SOUZA, M.P. A Lei de Beer Aplicada na Atmosfera Terrestre. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, vol. 23, n.3, 2001.

FARIAS, J.R.B.; NEPOMUCENO, A.L.; NEUMAIER, N. **Ecofisiologia da soja**. Londrina: Embrapa, 9p. (Circular Técnica n° 48), 2007.

FIDELES FILHO, J.; NÓBREGA, J.Q.; RAO, T.V.R.; BELTRÃO, N.E.M. Monitoramento de área foliar e biomassa do feijoeiro usando índice de vegetação por diferença normalizada. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Piracicaba, SP, v.13, n.2, p.212-218, 2005.

FONSECA, E. L.; ROSA, L. M. G.; FONTANA, D. C. Caracterização espectral de *Paspalum notatum* em diferentes níveis de adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.3, p.365-371, 2002.

LI-COR – **Manual LI-2000 Plant Canopy Analyzer**. Nebraska USA, 175p. 1992.

MOTOMIYA, A.V.A.; MOLIN, J.P.; CHIAVERATO, E.J. Utilização de sensor óptico ativo para detectar deficiência foliar de nitrogênio em algodoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.2, p.137-145, 2009.

MOTOMIYA, A.V.A.; BELLAMINUT, C.E.C.; MOLIN, J.P.; CHIAVERATO, E.J.; ECHEVARRIA, P.B.; COLACO, A.F. Determinação da intensidade de infestação de nematóide em algodoeiro sob diferentes doses de nitrogênio por meio de um sensor óptico ativo. **Anais...** VI Congresso Brasileiro de Algodão, Uberlândia, 2007.

JENSEN, J.R. **Sensoriamento Remoto do Ambiente: uma perspectiva em recursos terrestres.** 2ed. São José dos Campos, Parêntese, 604p., 2009.

ROUSE, J.W.; HASS, R.H.; SCHELL, J.A.; DEERING, D.W. Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. **Anais...** Third ERTS Symposium, vol.1, 1973.

SELLERS, P.J.; LOS, S.O.; JUSTICE, C.O.; TUCKER, C.J. A global 1 by 1 NDVI data set for climate studies. Part 2: The generation of global fields of terrestrial biophysical parameters from NDVI. **International Journal of Remote Sensing**, vol.15, p.3519-3548, 1994.

STENBERG, P.; LINDER, S.; SMOLANDER, H.; ELLIS, J.F.; Performance of the LAI-2000 plant canopy analyzer in estimating leaf area index of some Scots pine stands. **Tree Physiology**, v.14, p.981-995, 1994.

Capacidade de Vôo de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) criado em hospedeiro natural e alternativo

¹Sanzovo, A.W.; ²Pomari, A.F.; ³Bueno, A.F.; ¹Queiroz, A.P.; ⁴Barbosa, G.C.; ⁵Bortolotto, O.C.; ¹Stopa, Y.C.; ⁶Braga, K.

¹Universidade Estadual do Norte do Paraná, ²Universidade de São Paulo-FFCLRP, ³Pesquisador Embrapa Soja, ⁴Universitário Filadélfia, ⁵Universidade Federal do Paraná, ⁶Universidade Norte do Paraná. Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina-PR, alissonuenp@gmail.com

Introdução

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide de ovos de lepidópteros originário de Sarawak e Nova Guiné (Waddill & Whitcomb, 1982; Cave, 2000) que foi introduzido no Brasil visando o controle de *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Pedrasi & Parra, 1986). Desde então, diversos estudos tem sido realizados com este inimigo natural, porém, a criação massal desta espécie em ovos do seu hospedeiro natural, *S. frugiperda*, apresenta elevado custo de produção, o que pode inviabilizar sua utilização em programas de controle biológico.

Existem os agentes de controle biológico que podem ser produzidos em hospedeiros alternativos, muitas vezes reduzindo significativamente o custo de produção, além de aumentar a sua eficiência em larga escala. Existem casos em que o parasitoide é criado em hospedeiros não preferenciais, mas que é adequado o suficiente para promover um bom desenvolvimento dos mesmos (Parra, 1997). O desenvolvimento do parasitoide *T. remus* em ovos de *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae) foi relatado por Cave (2000). Este hospedeiro pode ser facilmente criado em laboratório em grande escala, podendo viabilizar seu uso para multiplicação do parasitoide.

Além do aprimoramento nas técnicas de criação do parasitoide em seu hospedeiro alternativo, o controle de qualidade, segundo Clarke e McKenzie (1992), é um dos fatores determinantes para o sucesso de programas de controle biológico, sendo a qualidade total de um organismo definida como a sua capacidade de controlar a praga após a liberação em campo. Portanto, a capacidade de deslocamento no tempo e no espaço é uma característica importante para o desempenho do inimigo natural em condições de campo, pois, está relacionada com o forrageamento e a dispersão no agroecossistema (Gardner e Lenteren, 1986). Esses atributos podem se modificar ao longo do processo de multiplicação em laboratório, bem como com a utilização de diferentes hospedeiros, devendo ser monitorados. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade da população de *T. remus* criado em ovos do seu hospedeiro natural (*S. frugiperda*) e do seu hospedeiro alternativo (*C. cephalonica*), utilizando-se como critério de avaliação a atividade de vôo.

Material e Métodos

A linhagem de *T. remus* utilizada foi proveniente da criação de parasitoides da Embrapa Soja, onde são criados em ovos de *S. frugiperda*. Para a confecção das cartelas com ovos parasitados utilizadas no experimento, foram utilizados ovos com idade máxima de 24h. Os ovos de *C. cephalonica* foram submetidos

a um processo de inviabilização pela exposição à radiação ultravioleta (Stein & Parra, 1987), para que o parasitoide possa se desenvolver dentro do ovo do hospedeiro alternativo; a não inviabilização dos ovos deste hospedeiro provavelmente leva a uma competição entre a larva do hospedeiro e do parasitoide permitindo maior êxito a *C. cephalonica*. Para o hospedeiro natural, a inviabilização é desnecessária visto que o parasitoide consegue se desenvolver quando são oferecidos ovos de até 48h. Ambos foram colados, com cola branca atóxica diluída a 40%, em pedaços de cartolina branca (7 x 0,8 cm), e ofertados aos parasitoides adultos, acrescentando-se na parede interna do tubo de criação gotículas de mel puro como fonte de alimento.

O modelo utilizado para teste de vôo foi o mesmo desenvolvido por Dutton e Bigler (1995) e adaptado na ESALQ-USP (Prezotti et al., 2002). Durante todo o experimento o ambiente foi mantido constantemente iluminado e em condições controladas de temperatura $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade $70\pm 10\%$. Os tratamentos foram constituídos de dez repetições, distribuídas ao acaso sobre uma estante de ferro, diretamente abaixo da fonte de luz. Cada tratamento recebeu, em média, 150 ovos parasitados de *S. frugiperda* e *C. cephalonica*, prestes à emergência, sendo as unidades-teste mantidas durante três dias, após o início da emergência dos parasitoides; posteriormente a esse período, foram realizadas as avaliações.

A posição e o número de parasitoides no anel de cola ("caminhadores"), na placa de Petri ("voadores") e no fundo ("não voadores") foram registrados e utilizados nos cálculos de porcentagens, em relação ao número total de adultos emergidos. Os parasitoides considerados não voadores foram observados com microscópio estereoscópico para se determinar a porcentagem de indivíduos com deformações nas asas, sendo este mais um parâmetro de avaliação para o hospedeiro alternativo (Prezotti et al., 2002). Os resultados foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram então comparadas pelo teste T a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

A porcentagem média de *T. remus* provenientes de ovos de *S. frugiperda* e *C. cephalonica* capturados na tampa (voadores) foi semelhante, sendo 79,75 e 83,50%, respectivamente (Tabela 1). O tubo de ensaio existente no modelo ESALQ permite que o parasitoide, após a emergência, percorra um longo caminho até a tampa, com tempo suficiente para distender suas asas e voar, permitindo que ele seja capturado na tampa e não no anel de cola (Prezotti et al., 2002). Os parasitoides voadores capturados apresentaram valores satisfatórios, indicando que estão aptos a se dispersarem satisfatoriamente se liberados no campo.

Quanto aos parasitoides capturados nos anéis de cola (caminhadores), também não foi observada diferença significativa (Tabela 1). Os espécimes caminhadores foram avaliados quanto à possível deformidade em suas asas e, em ambos os hospedeiros, não foi verificada nenhuma deformidade. Em um programa de controle de pragas que faz uso de inimigos naturais é imprescindível que a capacidade de dispersão no campo seja satisfatória. Gardner e Lenteren (1986) consideraram que a capacidade de voar e caminhar são características importantes para o desempenho do inimigo natural em condições de campo, pois estão relacionadas com o forrageamento e a dispersão no campo. Assim, com os resultados obtidos, infere-se que *T. remus* criados em ambos os hospedeiros, sendo o hospedeiro alternativo avaliado apenas na primeira geração, possuem capacidade de vôo satisfatória.

Tabela 1. Porcentagem de *Telenomus remus* capturados em armadilha de voo e provenientes de ovos de *Spodoptera frugiperda* e *Corcyra cephalonica*. T: 25±2°C; UR: 70±10% e Fotofase: 24 h.

Hospedeiro	Parasitoides voadores (%) ¹	Parasitoides caminhadores (%) ¹
<i>S. frugiperda</i>	79,75 ± 0,012 ^{ns}	20,25 ± 0,012 ^{ns}
<i>C. cephalonica</i>	83,50 ± 0,007	16,75 ± 0,013
CV(%)	3,67	16,11
F	5,99	5,99
GL _{modelo}	1	1
GL _{resíduo}	6	6

¹Médias ± EPM. ^{ns}ANOVA não significativa.

Conclusões

A espécie *Corcyra cephalonica* apresentou, resultados tão satisfatórios quanto aqueles verificados com o hospedeiro natural *Spodoptera frugiperda* indicando boa possibilidade de utilização como hospedeiro alternativo para criações massais do parasitoide de ovos *T. remus*. Para confirmar a alta qualidade dos parasitoides provenientes do hospedeiro alternativos, deve ser avaliada a atividade de voo ao longo das gerações.

Agradecimentos

Aos funcionários do Laboratório de Parasitoides, toda equipe de estagiários do mesmo e a empresa Embrapa/soja onde obtive todos os subsídios necessários para o desenvolvimento do trabalho.

Referências

- CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**. Ed.21. Dordrecht, 2000, p.21-26.
- CLARKE, G.M.; MCKENZIE, L.J. Fluctuating asymmetry as a quality control indicator for insect mass rearing processes. **Journal Economy Entomology**, Ed 85. Laham, 1992, p. 2045-2050.
- DUTTON, A.; F. BIGLER. Flight activity assessment of the egg parasitoid *Trichogramma brassicae* (Hym.:Trichogrammatidae) in laboratory and field conditions. **Entomophaga**, Ed 40. Paris, 1995, p. 223-233.
- GARDNER, S.M.; LENTEREN, J.C. Characterization of the arrestment responses of *Trichogramma evanescens*. **Oecologia**, Ed 8. Berlim, 1986, p. 265-270.
- PARRA, J.R.P. Técnicas de criação de *Anagasta kuehniella*, hospedeiro alternativo para produção de *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.), *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba, Fealq, 1997, p.121-150.
- PEDRASI, T.C. & PARRA, J.R.P. Técnica de criação e determinação das exigências térmicas de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 10., 1986, Rio de Janeiro. Resumos... Rio de Janeiro: SEB, 1986. p.227.
- PREZOTTI, L.; PARRA, J.R.P.; VENCOVSKY, R.; DIAS, C.T.; CRUZ, I.; CHAGAS, M.C.M. Teste de voo como critério de avaliação da qualidade de *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae): Adaptação de metodologia. **Neotropical Entomology**, Ed.31, n.3, Londrina, 2002, p.411-417.

STEIN, C.P.; J.R.P. PARRA. Uso da radiação ultra-violeta para inviabilizar ovos de *Anagasta kuehniella* (Zeller, 1879) visando estudos com *Trichogramma*. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Ed. 16, Jaboticabal, 1987, p. 229-234.

WADDILL, H. van & WHITCOMB, W.H. Release of *Telenomus remus* (Hym. Scelionidae) against *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) in Florida, U.S.A. **Biocontrol**, Ed.27, Dordrecht, 1982,p.159-162.

Efeito da interação glifosato e zinco na atividade fotossintética da soja

Navarro, A.T.¹; Canizella B.T.²; Moreira A.³; Moraes, L.A.C.³

¹Universidade Filadélfia navarro_amanda@hotmail.com; ²Universidade Estadual de Londrina;

³Embrapa Soja

Introdução

O glifosato [(N-fosfometil-glicina)] é o herbicida mais utilizado no mundo. É considerado um produto não-seletivo, de ação sistêmica e que deve ser aplicado em pós-emergência, sendo recomendado tanto para o controle de plantas anuais quanto para as perenes. Porém, se não for bem utilizado, pode apresentar riscos, com consequências negativas no controle de plantas daninhas e na produção. Atualmente este herbicida tem sido utilizado em grande quantidade em plantas transgênicas com resistência estável devido a tecnologia Roundup Ready[®].

Trabalhos mostram reduções na absorção de zinco (Zn) após a aplicação de glifosato. Na planta, o Zn é absorvido, preferencialmente, como cátion bivalente, sendo constituinte de várias enzimas que atuam como constituinte ou ativador. Assim, o Zn está diretamente envolvido no metabolismo do nitrogênio (N), participa da fotossíntese, da respiração, da síntese de aminoácidos e proteínas e no controle hormonal (ácido indol acético - AIA). A carência causa diminuição do florescimento e enchimento dos grãos, além da formação de internódios curtos e baixo desenvolvimento do sistema radicular (Marschner, 1995). Partindo desses fatos, os objetivos deste estudo foram avaliar os efeitos da aplicação de glifosato e de doses de Zn sobre a fotossíntese, condutância estomática, concentração de gás carbônico - CO₂ e taxa respiratória nas folhas de soja RR no estágio R1 (início do florescimento).

Material e Métodos

Em condições de casa de vegetação, foi realizado um experimento com Neossolo Quartzarênico coletado em Três Lagoas (MS) - 20°45'04" LS e 51°40'42" LW - em vasos de barro com 4,0 dm³ de capacidade e impermeabilizados internamente. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x5, com quatro repetições. Os tratamentos consistiram de duas cultivares parentais (BRS 133 e BRS 245RR), sendo que a última foi dividida em dois tratamentos (com e sem glifosato) e cinco doses de Zn (0, 5, 10, 20 e 40 mg kg⁻¹ - fonte: ZnSO₄).

Trinta dias antes do plantio foi aplicado calcário dolomítico (CaO = 27,1%, MgO = 17,5%, RE = 100%, PN = 91,9% e PRNT = 92,1%) para elevar a saturação por bases a 60%. Exceto o N e Zn, as adubações com P, K, S, B, Cu, Fe e Mn foram feitas de acordo com Malavolta (1980) para experimentos realizados em casa de vegetação. Os vasos foram irrigados diariamente com água desionizada para compensar as perdas por evapotranspiração e para manter o solo próximo de 70% do valor total de poros (VTP). As sementes de soja foram inoculadas, posteriormente tratadas com uma solução contendo 0,01 mg L⁻¹ de Co, 0,1 mg kg⁻¹ de Ni e 0,1 mg L⁻¹ de Mo. Nos vasos, foram semeadas dez sementes uniformes e, após o desbaste, deixadas duas plantas..

Nos estádios V3 e V6, metade das plantas com tratamento BRS 245 RR receberão aplicação de glifosato (Roundup Ready®) na dose de 1,5 L/ha/aplicação (540 g a.e.ha⁻¹), em cada estágio de crescimento. Na aplicação dos tratamentos via foliar, foi utilizado pulverizador costal, a pressão constante, mantida por CO₂ comprimido de 276 kPa, com volume de pulverização equivalente a 100 L ha⁻¹.

No estágio R1 foi determinada a fotossíntese (mmol CO₂ m⁻² s⁻¹), condutância estomática (mol H₂O M⁻² s⁻¹), concentração de gás carbônico - CO₂ (mmol CO₂ mol⁻¹) e taxa respiratória (mmol H₂O m⁻² s⁻¹) com medidor de fotossíntese e fluorescência (LI-6400XT). Os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), teste F, e regressão a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Os resultados dos efeitos da interação glifosato e zinco sobre a fotossíntese, condutância estomática, concentração intercelular de CO₂ e taxa transpiratória são apresentados nas Figuras 1 e 2. Verifica-se redução significativa da taxa fotossintética a partir da dose 5,0 mg/kg de Zn com aplicação do glifosato, enquanto nos tratamentos com as cultivares de soja BRS 245 RR sem glifosato e BRS 133 convencional houve incremento na taxa até a dose 20,0 mg/kg.

No caso da condutância estomática, não houve efeito do glifosato, sendo semelhante em todas as doses de Zn, fato esse não observado nos tratamentos sem a aplicação do herbicida (Figura 1). O mecanismo de ação do glifosato ocorre com a inibição da rota do ácido chiquímico, evitando a síntese dos aminoácidos de cadeia aromática (entre elas, o triptofano, tirosina e fenilalanina) que atuam direta ou indiretamente na fotossíntese. A concentração intercelular e a taxa transpiratória nas folhas de soja não foram influenciadas pela aplicação do glifosato, havendo na taxa transpiratória, efeito apenas das doses de Zn, com os maiores valores obtidos com aplicação de 20,0 mg/kg, independente da cultivar utilizada (Figura 2).

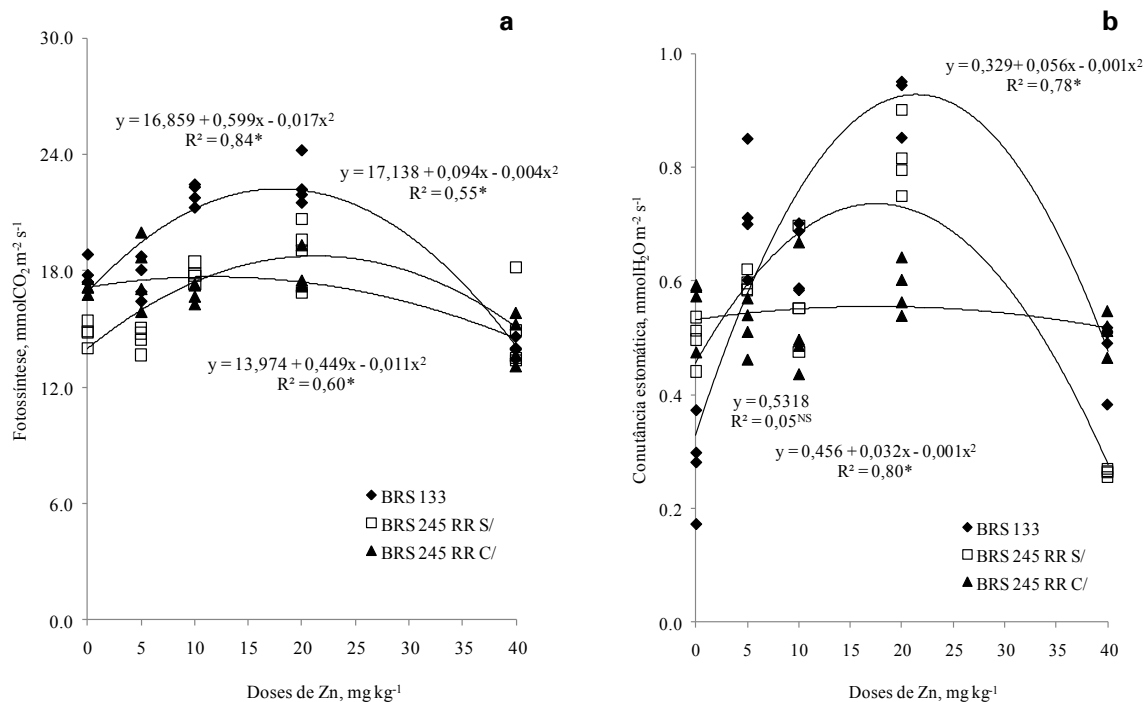


Figura 1. Fotossíntese (a) e condutância estomática (b) nas folhas de soja cultivada em Neossolo Quartzarênico Distroférrico em função das doses de Zn dentro das cultivares convencional BRS 133 e transgênica BRS 245 RR com e sem aplicação de glifosato. *significativo a 5% e ^{NS}não significativo.

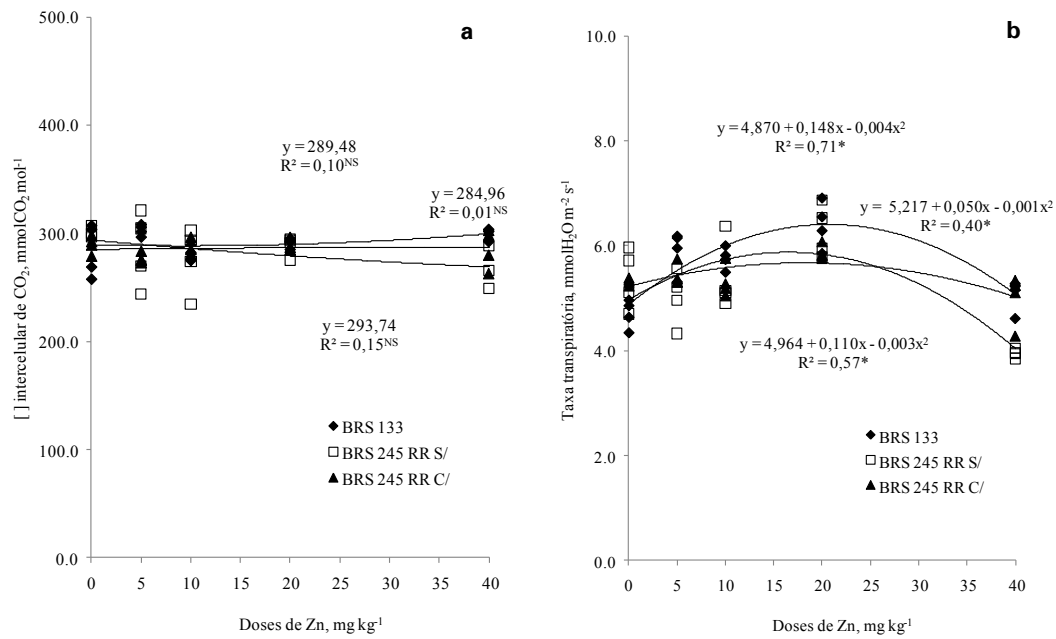


Figura 2. Concentração intercelular de CO₂ (a) e taxa transpiratória (b) nas folhas de soja cultivada em Neossolo Quartzarênico Distroférico em função das doses de Zn dentro das cultivares convencional BRS 133 e da transgênica BRS 245 RR com e sem aplicação de glifosato. *significativo a 5% e ^{NS} não significativo.

Referências

- MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 1980. 251p.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995, 889p.

Densidade de pragas e inimigos naturais em resposta ao tratamento de sementes de soja com inseticidas.

Vieira, A.C.¹; Sismeyro, M.N.S.¹; Visentini, A.²; Tura, G.M.²; Fazam, J.C.¹; Silva, J.E.P. Da³; Pasini, A.¹; Roggia, S.⁴

¹ Universidade Estadual de Londrina; ² Escola Estadual Técnica Fronteira Noroeste, Santa Rosa; ³ Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto; ⁴ Embrapa Soja.

Introdução

A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] apresenta grande importância econômica mundial, devido à ampla utilização dos grãos e à sua adaptação em diversas regiões (BIANCO et al., 2012). Assim, o uso de sementes de alta qualidade física, fisiológica e sanitária é imprescindível para a obtenção de produtividade adequada em campo, uma vez que assegura o desenvolvimento das plantas em condições ambientais diferenciadas e permite a expressão máxima do potencial da cultura (BARBOSA et al., 2012; DELOUCHE & POTTS, 1974).

A utilização de fungicidas para o tratamento de sementes de soja é uma prática usual entre os agricultores. A utilização de inseticidas para o tratamento de sementes é uma prática relativamente recente, porém aumentado a frequência de utilização em anos recentes. O uso de inseticidas no tratamento de sementes evita possíveis perdas decorrentes da ação de pragas de solo e da parte aérea, por esse motivo, é crescente o interesse pelo tratamento químico das sementes com inseticidas (BARROS et al., 2005).

Inseticidas aplicados na semente de soja são absorvidos e translocados para diferentes partes da planta, protegendo-a tanto a pragas de solo como da parte aérea. Tais efeitos tendem a ser mais efetivos nas primeiras semanas após a semeadura, reduzindo a eficiência de controle com o passar do tempo como constatado sobre percevejos da parte aérea por Corrêa-Ferreira & Oliveira (2008). No entanto, em condições de campo diferentes interações são possíveis dos produtos de tratamento de sementes com as pragas e seus inimigos naturais de modo que o tratamento de sementes pode afetar direta ou indiretamente a intensidade de ataque de pragas da parte aérea da cultura.

Assim foi realizado um estudo com objetivo avaliar o efeito do tratamento de sementes de soja com inseticidas químicos sobre a frequência densidade populacional diária acumulada de insetos-praga e artrópodes predadores da parte aérea da soja ao longo do desenvolvimento da cultura.

Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, localizada na região do norte do Paraná. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo subtropical úmido (Cfa). A média anual da temperatura é de 20,9°C e da precipitação 1.615 mm.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com quatro repetições, sendo cada uma composta por uma parcela de 20x20m. Os tratamentos consistiram em diferentes inseticidas químicos utilizados em tratamento de sementes, a descrição dos produtos e dose é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Inseticidas e doses utilizadas para o tratamento de sementes de soja. Embrapa Soja, Londrina, PR, Safra agrícola 2012/2013.

Tratamentos	Produto comercial (p.c.)	Princípio ativo (p.a.)	Concentração (g/L)	Dose (mL/100Kg de sementes)
1	Testemunha	-	-	-
2	Gaúcho FS	imidacloprido	600	200
3	Cruiser 350 FS	tiametoxam	350	150
4	Tiodicarbe 350 SC	tiodicarbe	350	2000
5	Standak	fipronil	250	200
6	Avicta 500 FS	abamectina	500	100

A cultivar soja BRS 295 (RR) foi selecionada para o experimento sendo esta semeada em 18 de outubro de 2012, com densidade de semeadura de 20 sementes/metro linear e espaçamento de 0,50m entre linhas. Realizou-se adubação em linha com 250 kg/ha de adubo químico da fórmula NPK 00:20:20. Os produtos aplicados para o manejo fitossanitário da cultura são apresentados na Tabela 2, sendo que todos os tratamentos receberam o mesmo manejo fitossanitário.

Tabela 2. Manejo fitossanitário aplicado ao experimento ao longo do desenvolvimento da soja. Embrapa Soja, Londrina, PR, Safra agrícola 2012/2013.

Data	Estádio fenológico	Produto comercial (p.c.)	Princípio ativo (p.a.)	Concentração (g/L)	Dose (ml/ha)
16/10/2012	Pré-emergência	Glifosato Atanor	glifosato-sal de isopropilamina	480	2700
16/10/2012	Pré-emergência	Aurora	carfentrazona-etílica	400	30
19/11/2012	V4	Glifosato Atanor	glifosato-sal de isopropilamina	480	2700
21/12/2012	R3	Belt	flubendiamida	480	25
22/01/2013	R5.3	Engeo Pleno	tiametoxam/ lambda-cialotrina	141/146	250
22/01/2013	R5.3	Priori Xtra	azoxistrobina/ciproconazol	200/80	300
29/01/2013	R6	Engeo Pleno	tiametoxam/ lambda-cialotrina	141/146	250
29/01/2013	R6	Priori Xtra	azoxistrobina/ciproconazol	200/80	300

Semanalmente, do estágio V4 (início da fase vegetativa, quarto nó) ao R7 (início da maturação), foi realizada a amostragem da densidade populacional de insetos-praga e seus inimigos naturais presentes na parte aérea das plantas de soja. A amostragem foi realizada pelo método do pano-de-batida, com quatro batidas (sub-amostras) por parcela.

A partir dos dados de amostragem periódica da densidade populacional de insetos pragas e predadores foi calculado o acumulado diário (AD). Este método agrupa os dados de amostragens seguintes considerando o intervalo de tempo entre cada amostragem. O acumulado diário foi calculado pela seguinte equação:

$$AD = \sum 0,5 \times (P_n + P_{n+1}) \times D$$

onde, P_n referem-se ao número de indivíduos na amostra n, P_{n+1} referem-se ao número de indivíduos na amostra seguinte; D é o tempo em dias entre amostragens sucessivas. Os dados acumulado diário indicam de uma forma resumida a intensidade de ataque que a planta sofreu ao longo de todo o período

amostral. A densidade populacional de pragas e predadores com valores acumulados diários foram submetidos à análise de variância e havendo significância do teste F para tratamentos, as suas médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Na cultura da soja, durante as fases V4 a R7, em 12 datas de amostragem foram contabilizados um total de 6.091 indivíduos, sendo o complexo de lagartas e de percevejos os dois grupos mais numerosos, destes, isoladamente, as espécies *Euschistus heros* (32,57%) e *Anticarsia gemmatalis* (25,27%) foram as mais frequentes (Tabela 3). A abundância de insetos nos diferentes tratamentos variou de 936 a 1.145 indivíduos na soma de todas as datas de amostragem, sendo o produto tiodicarbe o tratamento com menor abundância de insetos e o tiametoxam o que apresentou a maior abundância.

Em todos os tratamentos, exceto tiodicarbe, a frequência de *E. heros* foi maior em relação a testemunha, imidacloprido e tiametoxam foram os que apresentaram maior frequência desta espécie. Por outro lado, todos os tratamentos com inseticida apresentaram menor frequência de lagartas (total de lagartas) em relação a testemunha, sendo abamectina e imidacloprido os tratamentos com menor frequência de lagartas. A frequência de predadores variou de 8,30% a 10,79%, com maior frequência no tratamento com imidacloprido e menor frequência no tratamento com tiametoxam.

Tabela 3. Frequência relativa (%) de insetos fitófagos e artrópodes predadores em soja com diferentes inseticidas em tratamento de semente, amostrados do estágio V4 ao R7 na parte aérea das plantas pelo método do pano-de-batida. Embrapa Soja, Londrina, PR. Safra agrícola 2012/2013.

Insetos/Tratamento	Testemunha	Imidacloprido	Tiametoxam	Tiodicarbe	Fipronil	Abamectina	(%) Total
<i>Anticarsia gemmatalis</i>	27,24	23,17	26,64	27,46	24,20	22,99	25,27
<i>Crysoideixis includens</i>	8,33	7,00	7,42	6,52	7,79	5,40	7,06
Outras Lagartas	2,44	2,88	2,01	2,56	1,56	2,93	2,40
<i>Euschistus heros</i>	29,67	38,72	36,07	25,11	29,70	34,98	32,57
Outros percevejos	1,63	1,85	1,92	2,03	1,04	1,10	1,59
Coleópteros desfolhadores	21,04	15,65	17,64	25,53	25,96	22,99	21,36
Insetos predadores	9,65	10,71	8,30	10,79	9,76	9,62	9,75
Total de indivíduos ¹	984	971	1145	936	963	1.092	6.091

¹ Refere-se ao total de indivíduos coletados ao longo de 8 amostragens em cada cultivar de soja.

Os dados acumulados diários (Tabela 4) não indicam diferença significativa entre os tratamentos para a maioria das variáveis analisadas, havendo significância apenas para a densidade de *E. heros*, com a menor densidade da praga no tratamento com tiodicarbe, não diferindo do fipronil e da testemunha. As maiores densidades de percevejo foram observadas nos tratamentos com os inseticidas tiametoxam, imidacloprido e abamectina, sendo que apenas o tiametoxam diferiu estatisticamente da testemunha.

Os inseticidas tiametoxam e imidacloprido são princípios ativos do grupo dos neonicotinóides reconhecidamente eficientes para o controle de percevejo (em pulverização foliar), no entanto, no presente experimento não foi observada contribuição significativa destes produtos aplicados na forma de tratamento de sementes sobre a regulação populacional de percevejos na soja. Também o estudo de Corrêa-Ferreira (2008) mostra que, de um modo geral, não houve efeito significativo do tratamento de sementes com inseticidas (imidacloprido, tiametoxam, tiodicarbe+imidacloprido e fipronil) sobre a densidade de *E. heros* em soja. A colonização da lavoura por *E. heros* ocorre comumente na fase vegetativa da cultura, no entanto, é só a partir do estágio R3 que a soja é susceptível aos danos causados pela praga (Corrêa-Ferreira, 2005). Assim existe um grande distanciamento entre o tratamento de sementes e a fase crítica de dano da cultura aos percevejos, sendo possível que o efeito residual destes produtos não se mantenha por tempo suficiente para apresentar efeito de controle sobre *E. heros*.

Para os demais parâmetros avaliados (lagartas, coleópteros desfolhadores e predadores) não houve diferença estatística indicando que os diferentes produtos de tratamento de sementes afetam pouco a densidades destas pragas e inimigos naturais. Apesar disso, houve correlação inversa (-42%) entre a densidade de predadores e de *E. heros*, indicando tendência de as maiores densidades populacionais da praga estarem relacionadas com a menores densidades de predadores. Porém, estudos mais abrangentes são necessários para aprofundar o entendimento dos efeitos do tratamento de sementes de soja com inseticidas químicos sobre as pragas da parte aérea a sua interação com inimigos naturais, com detalhamento das espécies de predadores, e outros inimigos naturais, de acordo com a sua funcionalidade em diferentes estádios de desenvolvimento da cultura.

Tabela 4. Densidade acumulada diária de insetos fitófagos e artrópodes predadores associados à soja com diferentes inseticidas de tratamento de semente, amostrados do estágio V4 ao R7 na parte aérea das plantas pelo método do pano-de-batida. Embrapa Soja, Londrina, PR. Safra agrícola 2012/2013.

Tratamento	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	<i>Chrysodeixis includens</i>	<i>Euschistus heros</i>	Coleópteros desfolhadores	Insetos predadores
Testemunha	114,63 ns ¹	29,69 ns	116,38 bc ²	88,16 ns	41,66 ns
Imidacloprido	97,47	27,22	152,56 ab	64,28	45,03
Tiametoxam	132,06	32,94	167,88 a	86,91	41,06
Tiodicarbe	110,47	21,41	91,97 c	101,97	41,81
Fipronil	100,03	29,41	113,13 bc	104,97	39,47
Abamectina	108,41	21,72	147,81 ab	105,94	45,22
C.V. (%) ³	19,02%	31,53%	15,98%	28,93%	18,56%

¹ ns: diferença estatística não significativa pelo teste F a 5% de significância. ² Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ³ C.V.: coeficiente de variação.

Conclusão

O tratamento de sementes de soja com inseticidas químicos não afetou a densidade populacional acumulada diária da maior parte das principais pragas e de insetos predadores. A densidade populacional acumulada diária de *Euschistus heros* foi afetada pelo tratamento de sementes, porém nenhum dos tratamentos com inseticida químico proporcionou densidade populacional acumulada da praga significativamente inferior a testemunha. De modo que nas condições do presente experimento o tratamento de sementes com inseticidas químicos não contribuiu positivamente para o manejo de percevejos em soja.

Referências

- BARBOSA, R.M.; SILVA, C.B.; MEDEIROS, M.A.; CENTURION, M.A.P.C.; VIEIRA, R.D. Condutividade elétrica em função do teor de água inicial de sementes de amendoim. **Ciencia Rural**, Santa Maria, v.42, n.1, p.45-51, 2012.
- BARROS, R. G.; BARRIGOSI, J. A. F; COSTA, J. L. S. Efeito do armazenamento na compatibilidade de fungicidas e inseticidas, associados ou não a um polímero no tratamento de sementes de feijão. **Bragantia**, v. 64, n. 3, p. 459-465, 2005.
- BIANCO, S.; CARVALHO, L.B.; BIANCO, M.S.; PITELLI, R.A. Acúmulo de massa seca e de macronutrientes por plantas de *Glycine max* e *Solanum americanum*. **Planta daninha**, Viçosa, v.30, n.1, p.87-95, 2012.
- CORRÊA-FERREIRA, B.S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 11, p. 1067-1072, 2005

CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J. Tratamento de sementes e a população de percevejos fitófagos na fase vegetativa da soja. In: Reunião da Pesquisa da Soja da Região Central do Brasil, 30., **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2008. p.86-88.(Embrapa Soja, Documentos n.304).

DELOUCHE, J.C.; POTTS, H.C. **Programa de sementes: planejamento e implantação.** Brasília, AGIPLAN, p.124, 1974.

Capacidade de dispersão do parasitoide *Telenomus remus* Nixon (1937) (Hymenoptera: Platygasteridae) na cultura do milho.

¹Queiroz, A.P.; ²Pomari, A.F.; ³Bueno, A.F.; ⁴Barbosa, G.C.; ⁵Bortolotto, O.C.; ¹Stopa, Y.C.; ⁶Braga, K.

¹Universidade Estadual do Norte do Paraná, ²Universidade de São Paulo/FFCLRP,

³Pesquisador Embrapa Soja, ⁴Centro Universitário Filadélfia, ⁵Universidade Federal do Paraná,

⁶Universidade Norte do Paraná. Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina-PR, anna.paullaqueiroz@hotmail.com.

Introdução

A dispersão, ou seja, a redistribuição de uma população em um determinado espaço de forma difusiva, compõe um elemento fundamental na ecologia das espécies de insetos (Lidicker Jr. & Stenseth, 1992). Em agroecossistemas, o conhecimento do padrão de dispersão de uma espécie, pode auxiliar no seu controle, caso seja uma praga; ou, no caso de um inimigo natural, pode subsidiar a elaboração ou adaptação de estratégias de liberação efetivas. Neste último caso, o estudo da dispersão é imprescindível para o cálculo do número de pontos de liberação por unidade de área, dado necessário para que se possa efetuar uma distribuição uniforme dos insetos.

Telenomus remus Nixon (Hymenoptera: Platygasteridae) é um parasitoide de ovos de lepidópteros originário de Sarawak e Nova Guiné (Waddill & Whitcomb, 1982; Cave, 2000) que foi introduzido no Brasil visando o controle de *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) (Pedrasi & Parra, 1986). Conhecida como lagarta-do-cartucho do milho, *S. frugiperda* é considerada uma das principais pragas da cultura no Brasil (Carvalho, 1970). Tradicionalmente o controle dessa praga é realizado através de produtos químicos, que são aplicados logo que detectada sua ocorrência na cultura, ocasionando a eliminação de controladores naturais desses insetos-pragas, além de selecionarem linhagens resistentes aos inseticidas e, ainda a contaminação do homem e do meio ambiente (Loguercio et al., 2002). Em função desses efeitos colaterais indesejáveis oriundos do uso abusivo e errôneo de inseticidas, estratégias sustentáveis, tais como o controle biológico aplicado, devem ser implementadas (Cruz, 1995). Entre as opções possíveis de controle biológico para o manejo de *S. frugiperda*, o parasitoide de ovos *T. remus* tem apresentado grande potencial de controle (Bueno et al., 2008).

Apesar de já se conhecer bastante a respeito de determinados aspectos biológicos e comportamentais deste parasitoide, pesquisas ainda são necessárias até que metodologias de liberação eficientes possam ser aplicadas em sistemas de Manejo Integrado de Pragas (MIP) (Cave, 2000), principalmente no que diz respeito ao período e frequência de liberações, assim como à densidade de insetos a serem liberados por unidade de área, e ao padrão de dispersão do parasitoide, que pode fornecer subsídios para a determinação do espaçamento ideal entre pontos de liberação. Portanto, este trabalho teve como objetivo definir a capacidade de dispersão e conseqüentemente o número ideal de pontos de liberação por unidade de área de *T. remus* na cultura do milho para controle de *S. frugiperda*.

Material e métodos

O experimento foi conduzido na fazenda experimental da Embrapa Soja na região de Londrina – Paraná em plantios de milho comercial Dekalb 390, com espaçamento de 0,70 m entre linhas. Foram demarcados três círculos concêntricos com raios de 5, 10, 15, 20, 25, 30 m; em cada planta foi colocada uma postura, contendo aproximadamente 100 ovos, sendo infestadas 8, 24, 40, 56, 72 e 88 plantas por círculo, respectivamente. As cartelas contendo posturas foram grampeadas na fase abaxial das folhas próximas ao cartucho (assemelhando-se ao hábito de oviposição da praga). Foi realizada apenas uma liberação de aproximadamente 150.000 adultos recém-emergidos (até 24 h) de *T. remus*, no ponto central de dois círculos, sendo o terceiro círculo considerado como uma área testemunha, onde foi apenas realizada a infestação artificial.

Os ovos de *S. frugiperda* utilizados para infestação artificial foram obtidos da criação de lagartas da Embrapa Soja, no qual ficaram expostos ao parasitismo durante 24 horas, quando foram retirados e substituídos. Este processo ocorreu no período de 24, 48, 72 e 96 horas após a liberação dos parasitoides. Posteriormente as cartelas retiradas foram levadas ao laboratório, individualizadas em saquinhos plásticos, devidamente identificados e acondicionados em sala climatizada regulada a $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $60\pm 10\%$ e fotofase de 12 h, até a emergência dos adultos do parasitoide. Este experimento ocorreu em três estádios fenológicos distintos, sendo eles: V2/3, V5/6 e V8/9 (Ritchie et al., 1993).

Foi adotado o delineamento de blocos casualizados com 6 tratamentos (distâncias) e 2 repetições, além da área testemunha. Os dois blocos de tratamentos foram instalados distantes 55 m um do outro e a área testemunha a 200 m dos tratamentos. Foram observadas a presença ou ausência de parasitismo. Na presença do mesmo foi avaliada a taxa de parasitismo. Os resultados foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo e quando necessário foram transformados para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram então comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para a porcentagem de cartelas parasitadas.

Resultados e Discussão

Observou-se que o parasitismo de ovos de *S. frugiperda* por *T. remus* decresceu à medida que foram distanciados os pontos de coleta dos ovos ao longo dos dias e em todos os estádios fenológicos estudados (Tabelas 1; 2 e 3), verificando-se que, para todos os dias de coleta e nos três estádios fenológicos, as taxas de parasitismo diferiram semelhantemente entre as distâncias, ocorrendo maiores porcentagens de parasitismo nos dois primeiros dias de avaliação. As variações no parasitismo em diferentes distâncias do ponto de liberação bem como o maior parasitismo nos primeiros dias de avaliação em uma determinada cultura podem ocorrer devido às características biológicas do parasitoide e/ou características da própria cultura que podem funcionar como barreira física dificultando a dispersão do inseto.

No estádio fenológico V2/3, a porcentagem de amostras parasitadas diferiu significativamente apenas no segundo dia de avaliação, onde foi observado maior e menor taxa de parasitismo a 5 e 30 m do ponto de liberação, respectivamente (Tabela 1). Em média, o número de ovos parasitados decresceu a medida que distanciaram-se do ponto de liberação. Ainda, no terceiro e quarto dia de avaliação as taxas de parasitismo foram menores quando comparada aos anteriores (Tabela 1). Neste estádio, a cultura apresenta pouco abrigo aos parasitoides, deixando-os mais expostos aos fatores abióticos o que pode ter influenciado no baixo parasitismo e conseqüentemente, levado a uma menor longevidade das fêmeas.

Tabela 1. Porcentagem média (\pm EPM) do número de cartelas contendo ovos de *Spodoptera frugiperda* parasitadas por *Telenomus remus*, colocadas a diferentes distâncias de um ponto central de liberação, na cultura do milho em estágio fenológico V2/3. Londrina, PR.

Distância (m)	Cartelas parasitadas (%)				
	Dia 1 ^{1:2}	Dia 2 ^{1:3}	Dia 3 ^{1:4}	Dia 4 ^{1:4}	Média ^{1:3}
5	19,00 \pm 10,97 ^{ns}	19,00 \pm 3,47 a	6,50 \pm 3,75 ^{ns}	0,00 \pm 0,00 ^{ns}	11,13 \pm 4,55 a
10	14,50 \pm 3,75	12,50 \pm 2,60 ab	0,0 \pm 0,0 a	1,30 \pm 0,56	7,25 \pm 0,58 ab
15	16,50 \pm 3,75	16,50 \pm 4,91 ab	1,50 \pm 0,87	0,00 \pm 0,00	8,63 \pm 1,95 ab
20	2,00 \pm 1,15	11,50 \pm 2,60 ab	1,00 \pm 0,58	0,00 \pm 0,00	3,63 \pm 1,08 ab
25	2,00 \pm 0,58	9,00 \pm 0,58 ab	1,50 \pm 0,87	3,20 \pm 0,68	3,35 \pm 0,43 ab
30	3,00 \pm 1,15	6,00 \pm 0,58 b	0,0 \pm 0,0	0,00 \pm 0,00	2,25 \pm 0,43 b
CV(%)	57,34	22,80	55,20	25,33	28,93
P	0,0710	0,1047	0,4447	0,0556	0,0200

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). ²Dados transformados em $\log(x+1)$. ³Dados transformados em \sqrt{x} . ⁴Dados transformados em $\sqrt{(x+1)}$.

Durante o estágio fenológico V5/6 observou-se um maior parasitismo por *T. remus* a 5 m do ponto de liberação. As taxas de parasitismo decresceram a medida que os pontos de coleta se distanciaram do ponto central (Tabela 2). Até o terceiro dia após a liberação foi possível verificar que as taxas de parasitismo foram similares, diminuindo apenas no quarto dia de avaliação (Tabela 2). Neste estágio, há maior abrigo aos parasitoides, o que provavelmente aumenta a sua eficiência de dispersão, visto que, fatores abióticos como o direcionamento eólico, por exemplo, não agem de forma tão negativa quanto em estádios menores de desenvolvimento da cultura.

Tabela 2. Porcentagem média (\pm EPM) do número de cartelas contendo ovos de *Spodoptera frugiperda* parasitadas por *Telenomus remus*, colocadas a diferentes distâncias de um ponto central de liberação, na cultura do milho em estágio fenológico V5/6. Londrina, PR.

Distância (m)	Cartelas parasitadas (%)				
	Dia 1 ^{1:2}	Dia 2 ^{1:2}	Dia 3 ¹	Dia 4 ¹	Média ¹
5	62,50 \pm 7,22 a	88,00 \pm 0,00 a	56,50 \pm 3,75 a	12,50 \pm 0,29 a	54,88 \pm 2,81 a
10	20,50 \pm 7,22 b	66,50 \pm 4,91 a	19,0 \pm 3,46 bc	6,00 \pm 1,15 b	28,00 \pm 3,61 bc
15	18,00 \pm 0,00 b	70,00 \pm 0,00 a	30,00 \pm 5,77 b	2,50 \pm 1,44 bc	30,13 \pm 1,80 b
20	14,50 \pm 0,87 b	37,00 \pm 4,61 b	22,50 \pm 5,48 bc	3,00 \pm 0,58 bc	19,25 \pm 2,17 cd
25	14,00 \pm 2,31 b	20,00 \pm 1,15 c	23,00 \pm 1,15 bc	2,50 \pm 0,87 bc	14,88 \pm 0,36 d
30	9,50 \pm 0,29 b	18,50 \pm 0,87 c	9,00 \pm 1,15 c	1,00 \pm 0,58 c	9,50 \pm 0,14 d
CV(%)	13,27	3,48	28,48	40,16	17,09
P	0,0005	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). ²Dados transformados em $\log(x+1)$. ³Dados transformados em \sqrt{x} . ⁴Dados transformados em $\sqrt{(x+1)}$.

Durante o período de dispersão com *T. remus* na cultura do milho, nos três estágios fenológicos avaliados, foram observadas maiores taxas de parasitismo no estágio fenológico V8/9 que manteve um elevado grau de parasitismo nos quatro dias após a liberação (Tabela 3). Esse fato pode estar relacionado com a maior cobertura vegetal presente na cultura nesta fase que conseqüentemente, diminuiu exposição do parasitoide aos fatores abióticos. No entanto, apesar de apresentarem taxas maiores de parasitismo nos raios mais distantes do ponto de liberação, quando comparados as estádios fenológicos anteriores, foi verificado uma diminuição de cartelas parasitadas a medida que estas se distanciavam do ponto central (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem média (\pm EPM) do número de cartelas contendo ovos de *Spodoptera frugiperda* parasitadas por *Telenomus remus*, colocadas a diferentes distâncias de um ponto central de liberação, na cultura do milho em estágio fenológico V8/9. Londrina, PR.

Distância (m)	Cartelas parasitadas (%)				
	Dia 1 ^{1:2}	Dia 2 ^{1:2}	Dia 3 ¹	Dia 4 ¹	Média ¹
5	75,00 \pm 0,00 a	69,00 \pm 3,46 a	50,00 \pm 0,00 ab	50,00 \pm 0,00 c	61,00 \pm 0,87 a
10	31,50 \pm 6,06 b	60,50 \pm 6,06 a	48,00 \pm 5,77 ab	69,00 \pm 1,15 a	52,25 \pm 4,19 ab
15	25,50 \pm 1,44 b	38,00 \pm 0,00 b	61,50 \pm 7,79 a	66,50 \pm 0,87 ab	47,88 \pm 1,80 bc
20	16,50 \pm 2,02 bc	24,00 \pm 3,46 b	56,50 \pm 3,75 ab	54,50 \pm 7,79 bc	37,88 \pm 3,24 cd
25	11,50 \pm 0,87 c	20,00 \pm 1,15 b	35,00 \pm 2,31 b	45,00 \pm 1,15 c	27,88 \pm 0,79 d
30	12,50 \pm 3,18 c	25,50 \pm 4,91 b	38,00 \pm 2,31 b	30,00 \pm 1,15 d	26,50 \pm 2,89 d
CV(%)	10,54	20,02	19,76	11,98	13,16
P	<0,0001	<0,0001	0,0318	<0,0001	<0,0001

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). ²Dados transformados em log (x).

Com os resultados obtidos e baseando-se no modelo de Dobzhanski e Wright (1943), foi possível determinar o raio de ação médio, a área de dispersão do parasitoide e o número de pontos de liberação na cultura do milho, em média para os três estágios fenológicos em relação aos ovos de *S. frugiperda*, que foram de 383,6 m, 17,9 m² e 27,4 pontos/ha, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Distância média (DM), área de dispersão (s²) e número de pontos/ha para *Telenomus remus* em ovos de *Spodoptera frugiperda*, na cultura do milho. Londrina, PR.

	Estágio fenológico			
	V2/3	V5/6	V8/9	Média
S ²	374,4	362,4	413,8	383,6
DM	17,7	17,3	18,5	17,9
Pontos/hectare	29,5	28,2	24,5	27,4

Conclusão

Os resultados obtidos foram satisfatórios visto que o número de pontos de liberação (27,4 pontos/ha) é passível de ser utilizado em programas de controle biológico aplicado.

Agradecimentos

Ao pesquisador Dr^o Adeney de Freitas Bueno pela oportunidade de estágio e a Embrapa Soja pelo financiamento. A equipe do Laboratório de Parasitoides e a Equipe de Campo pela grande contribuição na realização dos trabalhos.

Referências

- BUENO, R.C.O.F.; CARNEIRO, T.R.; PRATISSOLI, D.; BUENO, A.F.; FERNANDES, O.A. Biology and thermal requirements of *Telenomus remus* reared on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* eggs. **Ciência Rural**. Santa Maria. 2008, v.38, p.1-6.
- CAVE, R.D. Biology, ecology and use in pest management of *Telenomus remus*. **Biocontrol News and Information**, Dordrecht. 2000. v.21, p.21-26.
- CARVALHO, R. P. L. Danos, Flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo. Tese de doutorado, ESALQ. Piracicaba, 1970. 170p.
- CRUZ, I. Manejo integrado de pragas de milho com ênfase para o controle biológico. In Ciclo de Palestras sobre Controle Biológico de Pragas. Campinas, 1995. p.170.
- DOBZHANSKY, T.; WRIGHT, S. Genetics of natural populations x Dispersion rates in *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**. Toronto, 1943. v. 28, p. 304-340.
- LIDICKER Jr., W.Z.; STENSETH, N.C. To disperse or not to disperse: who does it and why? In: STENSETH, N.C.; LIDICKER Jr., W.Z. (Ed.) Animal dispersal: small mammals as a model. Londres Chapman & Hall, 1992. p.21-36.
- LOGUERCIO, L.L.; CARNEIRO, N.P.; CARNEIRO, A.A. Milho Bt. **Revista Biotecnologia**. 24. Ed. Sete Lagoas, 2002. v.4, p.46-52.
- PEDRASI, T.C.; PARRA, J.R.P. Técnica de criação e determinação das exigências térmicas de *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Scelionidae). In: **Congresso brasileiro de entomologia**. 10. Ed. Rio de Janeiro. p.227.
- RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; BENSON, G. O. How a corn plant develops. Ames: Iowa State University of Science and Technology, Cooperative Extension Service. 1993. 22 p. (Special Report, 48)
- WADDILL, H. van; WHITCOMB, W.H. Release of *Telenomus remus* (Hym. Scelionidae) against *Spodoptera frugiperda* (Lep.: Noctuidae) in Florida, U.S.A. **Biocontrol**. Dordrecht. 1982. v.27, p.159-162.

Identificação e eficiência de *Bacillus* spp. inibidor do crescimento de *Macrophomina phaseolina*

Silva, A. R.¹; Silva, M. R.²; Delamuta, J. R. M.³; Santos, J. A.⁴; Ribeiro, R. A.⁵; Binneck, E.⁵; Hungria, M.⁵; Oliveira, M. C. N.⁵; Fantinato, G. G. P.⁵; Cattelan, A. J.⁵; Almeida, A. M. R.⁵

¹Graduando Universidade Estadual de Londrina (UEL); ²Universidade Norte do Paraná (UNOPAR); ³Doutoranda Universidade Estadual de Londrina (UEL); ⁴Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP); ⁵Embrapa Soja

Introdução

A cultura da soja (*Glycine max*) tornou-se a mais importante cultura do Brasil.

Fungos do solo são importantes causas de infecção da cultura da soja, sendo *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani* e *Macrophomina phaseolina*, os mais importantes.

Estudos de estratégias de manejo de doenças em patossistemas tem sido objeto de pesquisas no controle de certos organismos patogênicos, pois o controle pela resistência genética ainda é insatisfatório. Na atividade de controle cultural foram analisadas e avaliadas diferentes sistemas de rotação e sucessão visando reduzir a infecção de raízes de soja pelo aumento da concentração e diversidade de microrganismos antagonistas.

A habilidade para produzir compostos voláteis por rizobactérias também inibiram o crescimento de fungos patogênicos, especialmente *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium oxysporum* e *Sclerotinia sclerotiorum* (Cattelan, et al., 1999).

O fungo *Macrophomina phaseolina* é capaz de infectar centenas de culturas, entre elas a soja. Esse patógeno sobressai em períodos de seca, onde a planta de soja, afetada pelo estresse hídrico, também se torna mais suscetível (Wrather et al., 2008). Este fungo apresenta aspectos morfológicos diferentes, podendo ser cotonoso ou mais liso, se espalhando uniformemente na placa. Os sintomas causados podem ser manchas escurecidas e estrias acinzentadas, com produção de microesclerócios, com consequente apodrecimento da raiz e morte da planta.

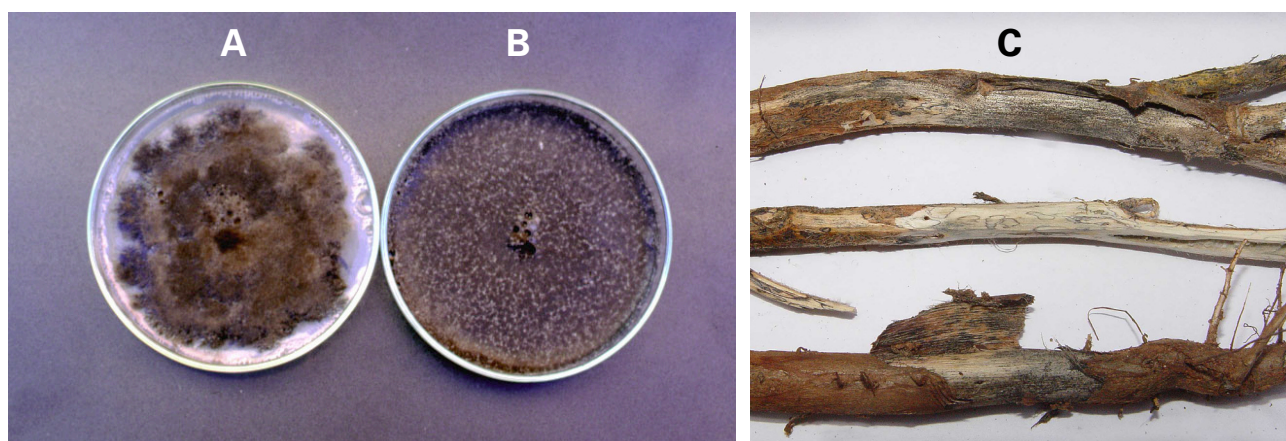


Figura 1. Aspectos Morfológicos: (A) cotonoso; (B) liso e uniforme. (C) Sintomas na soja.

Um antagonista que pode vir a ser utilizado para a inibição do crescimento desse patógeno é o gênero *Bacillus* (Marroni e Germani, 2011), especialmente *B. subtilis*.

O presente trabalho visou quantificar a eficiência do gênero *Bacillus* no controle de *Macrophomina phaseolina*.

Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido in vitro, no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Soja, localizado na cidade de Londrina – PR, durante os meses de setembro/outubro de 2012. Retiraram-se amostras de rizosfera ao acaso de trigo, milho, aveia, nabo e tremoço. Um isolado de *Macrophomina phaseolina* (MAC P82T9 C.M.) da micoteca da Embrapa Soja foi repicado. As amostras de bactérias foram coletadas de rizosfera de plantas, da Fazenda Experimental da COAMO, localizada em Campo Mourão – PR. De cada amostra foram selecionadas 10 colônias de *Pseudomonas*, em meio de TSA para análises posteriores da frequência de isolados produtores de 2,4 DAPG, através de PCR com primers específicos (McSpadden Gardener et al, 2001). Os isolamentos dos *Bacillus* (4) foram feitos no mesmo meio e denominados B1, B2, B3 e B4.

Para a avaliação do efeito dos isolados de *Bacillus* na inibição do crescimento de *M. phaseolina*, discos de 5mm de micélio do fungo foram cultivados no centro de placas de Petri contendo meio de BDA (caldo de batata/dextrose/ágar), com adição de 5% peptona, durante 72 horas. Na sequência o fungo foi circundado pela bactéria, com o auxílio de uma alça de platina, sendo preparadas três repetições de cada tratamento. As placas foram mantidas em BOD a 28o C durante oito dias.

O experimento 1 foi montado no dia 14 de setembro, com aplicação do *Bacillus* no dia 17 e leitura do halo de inibição no dia 25 do mesmo mês. No experimento 2, a montagem se concluiu no dia 28 de setembro, com aplicação do *Bacillus* no dia 1 de outubro, e leitura, do halo de inibição, realizada dia 9 de outubro.

No Laboratório de Biotecnologia dos Solos, o DNA genômico total das amostras das bactérias foi extraído segundo a metodologia descrita por Kaschuk et al. (2006). Os primers e as condições de amplificação da sequência do 16S RNAr foram obtidos de Menna et al. (2006). Após a purificação do produto de PCR, o sequenciamento foi realizado como descrito por Ribeiro et al. (2009) e a leitura foi realizada no sequenciador capilar MEGA BACE 1000 (Amersham Biosciences).

Resultados e Discussão

Os isolados de *Pseudomonas* do grupo fluorescente não foram considerados porque fizeram parte de um estudo já apresentado.

Foi feita uma análise conjunta de variância para o gênero *Bacillus*. Essa análise dos dois experimentos foi a mais adequada, apresentando uma C.V. de 14% e atendendo todas exigências requeridas pela ANOVA. Os isolados de *Bacillus* mais eficientes foram os isolados 1 e 4. Os demais isolados não diferiram do controle, sendo que, o isolado 2 era *Pseudomonas* do grupo fluorescente.

Tabela 1. Halo de inibição (cm) induzido por isolados de *Bacillus sp.*

	Experimento 1			Experimento 2			Média Geral do Halo de Inibição (cm)
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	
	(cm)	(cm)	(cm)	(cm)	(cm)	(cm)	
Controle	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	a 0,00
B I	1,07	1,15	0,87	0,89	1,13	1,00	a 0,99200
B II	0,45	0,55	0,35	0,35	0,39	0,33	b 0,42667
B III	0,59	0,53	0,55	0,45	0,46	0,51	b 0,51000
B IV	1,13	0,92	0,87	1,02	0,94	0,99	a 0,97833

Sabe-se que o gênero *Bacillus* produzem metabólitos que afetam o desenvolvimento de fungos (Praça et al., 2004).

Com o resultado do sequenciamento foi obtido um valor 98% de semelhança com o gênero *Bacillus sp.* encontrado no banco de dados do NCBI (National Center for Biotchnology Information).

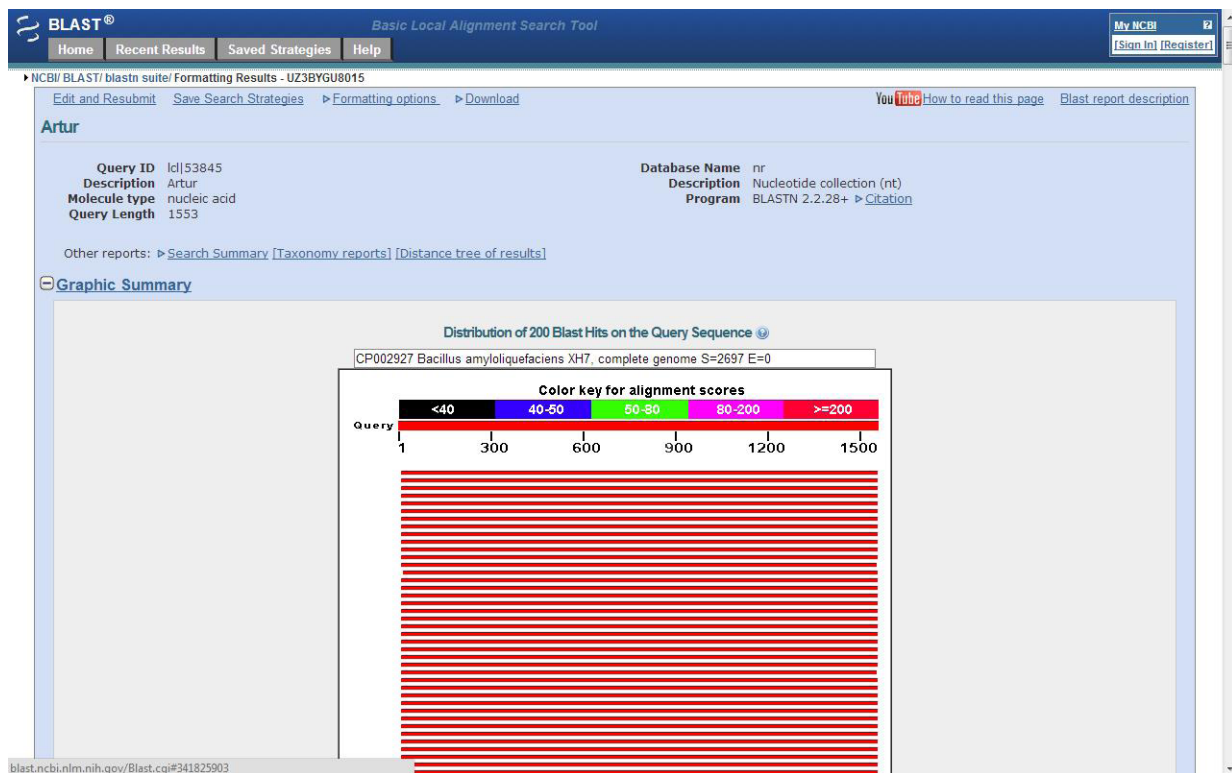


Figura 2. Imagem comprovando que a similaridade entre a sequência obtida em laboratório com o banco de dados (NCBI), resulta no gênero *Bacillus*.

Conclusão

Foram comprovadas que somente as bactérias do gênero *Bacillus sp.* isoladas (2) da rizosfera de plantas, controlam o crescimento de *M. phaseolina in vitro*.

Foram comparadas sequências entre os isolados de *Bacillus*, identificando-se *B. subtilis sp.*, *B. subtilis* sub-espécie *subtilis* e *B. amyloliquefaciens*.

Referências

- KASCHUK, G.; HUNGRIA, M.; ANDRADE, D.S.; CAMPO, R.J. Genetic diversity of rhizobia associated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under no-tillage and conventional systems in Southern Brazil. **Applied Soil Ecology**, v.32,p.210-220, 2006.
- McSPADDEN GARDENER, B.B., MAVRODI, D.V., THOMASHOW, L.S., WELLER, D.M. A rapid polymerase chain reaction-based assay characterizing rhizosphere populations of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing bacteria. **Phytopathology** 91:44-54. 2001.
- MARRONI, I.V., GERMANI, J.C. Eficiência de rizobactérias *Bacillus* spp. no controle in vitro de *Macrophomina phaseolina* agente etiológico da podridão de tronco da mamona (*Ricinus communis*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.6, p.159-167, 2011.
- MENNA, P.; HUNGRIA, M.; BARCELLOS, F.G.; BANGEL, E.V.; HESS, P.N.; MARTINEZ-ROMERO, E. Molecular phylogeny based on the 16S rRNA gene of elite rhizobial strains used in Brazilian commercial inoculants. **Systematic Applied Microbiology**, v.29, p.315-332, 2006.
- PRAÇA, L.B.; BATISTA A.C.; MARTINS, E.S.;SIQUEIRA, C.B; DIAS, D.G de S; GOMES,A.C.M.M., FALCÃO, R; MONNERAT, R. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Díptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.1, p.11-16, 2004.
- WRATHER, J. A.; SHANNON, J. G.; CARTER, T. E., BOND, J. P.; RUPE, J. C.; ALMEIDA, A. M.R. Reaction of drought-tolerant soybean genotypes to *Macrophomina phaseolina*. **Plant Health Progress** doi:10.1094/PHP-2008-0618-01-RS, 2008.

Otimização de um método de extração de DNA eficiente, rápido e de baixo custo de sementes de soja para fins de seleção assistida por marcadores moleculares

Brumer, B.B.¹; Maia, M.S.¹; Dalcin, M.B.¹; Kuwahara, M.K.²; Novaes, R.M.L.²; Silva, D.C.G.²; Marcelino-Guimaraes, F.C.²; Abdelnoor, R. V.²

Universidade Estadual do Norte do Paraná/ Bolsista EMBRAPA-SOJA¹, EMBRAPA-SOJA²

Introdução

A seleção de genótipos superiores com o auxílio dos marcadores moleculares representa a perfeita associação entre o melhoramento genético convencional e as técnicas de biologia molecular disponíveis atualmente (FRONZA, 2003). A seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) é uma área promissora e pode proporcionar grandes avanços no melhoramento genético clássico (BORÉM; CAIXETA, 2006). A Embrapa tem implantado em suas unidades, vários laboratórios de seleção assistida como nas unidades de Soja, Milho e Sorgo e Arroz e Feijão. Em um programa de SAM, a extração de DNA ainda figura como um dos maiores gargalos, tanto em termos operacionais como de custos (COLLARD; MACKILL, 2008), e sua otimização é essencial para o sucesso do programa de melhoramento. Os métodos de extração de DNA comumente utilizados são de alto custo e/ou de difícil execução. Entre esses se encontram os kits comerciais de extração de DNA e os protocolos descritos por Dellaporta et al. (1983) e Doyle e Doyle, 1987. Contri (2006) conclui em seu trabalho que o método Doyle e Doyle, apesar do custo baixo, demora em torno de oito horas para ser realizado, além de, necessitar maiores cuidados devido à volatilidade e toxicidade do β -mercaptoetanol e do clorofórmio. Já o método de coluna de sílica (WIZARD) pode ser executado em até 1,5h dependendo do número de amostras, mas apresenta custo mais elevado. Portanto para contornar esse problema foi desenvolvido pelo Laboratório de Genética Molecular e Seleção Assistida (LGMSA) da EMBRAPA-SOJA um protocolo de extração de DNA de baixo custo e de rápida e fácil execução, que atende as necessidades do laboratório. O método foi denominado SAM, sendo desenvolvido inicialmente para a extração de DNA de amostras de folhas de soja, e posteriormente, adaptado para extração de DNA de sementes de soja, necessitando assim, aprimoramentos. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo otimizar o protocolo de extração de DNA 'SAM' para extração de DNA em larga escala e a um baixo custo, em sementes de soja inteiras e moídas em diversas quantidades para atender fins de seleção assistida e às demandas do programa de melhoramento de soja e do Laboratório de Genética Molecular e Seleção Assistida da EMBRAPA-SOJA.

Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado no LGMSA da EMBRAPA-SOJA em Londrina, Paraná. Foram utilizadas sementes oriundas de genótipos diferentes, com e sem o gene BT, provenientes do programa de melhoramento da unidade. Para a otimização da extração de DNA de sementes foram feitas modificações nas etapas e parâmetros do protocolo de extração de DNA SAM original (TABELA 1), o qual está protegido sob a forma de propriedade intelectual, e por isso, a composição de seus componentes deve ser omitida.

Tabela 1. Protocolo de extração de DNA "SAM", desenvolvido pela equipe do Laboratório de Genética Molecular e Seleção Assistida da EMBRAPA-SOJA para a extração de DNA de tecidos de folhas de soja

1ª Etapa	Adição de 50µL COMPONENTE A + 0,5% do volume total COMPONENTE C
2ª Etapa	Incubação no banho maria ou termociclador a 65°C durante 6 minutos e 95°C durante 2 minutos
3ª Etapa	Adição de 50µL COMPONENTE B e um ciclo no vortex a 1750 rpm por 1 minuto.
4ª Etapa	Diluição 1:25 das amostras extraídas.

Para atender ao objetivo proposto, o trabalho foi dividido em duas etapas, otimização da extração de DNA e otimização da maceração de sementes no aparelho Geno/Grinder 2010. Para a primeira etapa os parâmetros avaliados e as variações testadas foram: as quantidades dos componentes do protocolo de extração, as quantidades de amostras de sementes e tipos de plásticos. Os plásticos utilizados foram placas de 96 poços fundos (Deep well) de capacidade 1,5mL, 2mL, 7mL e placa de 96 poços de 0,2mL (TABELA 2). As amostras nesta etapa foram maceradas no triturador elétrico. Para a segunda etapa foi utilizado o *deep well* de 2mL e os parâmetros avaliados e as variações testadas foram: tempo de maceração, tamanho das esferas, forma de embebição da semente, quantidade de líquido usado para a embebição e forma de vedação do *deep well* (esteira, selo convencional e selo de maior aderência) (TABELA 3). Para a extração de DNA do material proveniente da maceração no aparelho Geno/Grinder foram utilizados os melhores resultados obtidos na primeira etapa para 100mg de sementes, equivalente a aproximadamente uma semente de soja inteira. Os critérios utilizados para se verificar a eficiência das modificações realizadas no protocolo de extração foram as performances dos ensaios de genotipagem na reação em cadeia de polimerase em tempo real (RT-PCR) e os níveis de contaminações entre as amostras. As performances dos ensaios de genotipagem foram verificadas através das médias dos valores de *Cycle Threshold* (CT) em ensaios de quantificação absoluta com *primers* de genotipagem. O CT é o ciclo em que a amplificação é detectada através da fluorescência de uma sonda e quanto menor é o seu valor, melhor é a qualidade da amplificação e conseqüentemente da extração de DNA. As sondas utilizadas foram sonda 1 e sonda 2. A amplificação permite realizar a genotipagem das amostras e quanto maior a porcentagem de genotipagem correta, menor é o nível de contaminação entre as amostras. Os níveis de contaminações foram analisados através da genotipagem correta e incorreta das amostras e visualmente nas etapas de distribuição, maceração e agitação das amostras no vortex.

Resultados e Discussões

Primeira Etapa: Otimização da extração de DNA de sementes de soja

Inicialmente para a otimização do protocolo de extração de DNA SAM para amostras de sementes de soja foram utilizados 10mg de sementes, com 50µL de cada componente A e B, 1X de componente C e diluição 1:25, conforme Tabela 1. Entre os resultados obtidos apenas 81,3% das amostras foram amplificadas e as médias dos valores de CTs foi 38 para sonda 1 e 2 (TABELA 2). Para melhorar a qualidade da extração de DNA foram avaliados três parâmetros com duas variáveis testadas. Os parâmetros avaliados foram a quantidade de componente A, quantidade de componente C e diluição (dados não apresentados). O componente A foi reduzido para 35µL e a diluição aumentada 1:50 para minimizar a quantidade de polifenóis e polissacarídeos provenientes da constituição da semente que conseqüentemente minimizou a quantidade de DNA. O componente C foi aumentado de 1X para 10X. Entre os resultados, a diluição 1:50 reduziu a quantidade de inibidores de PCR porém reduziu também a quantidade de DNA, apresentando amostras com altos valores de CTs e baixa porcentagem de amplificação. O componente C apresentou melhores resultados para menor quantidade, 1X. Isso se deve ao fato que o aumento do componente C possa ter causado a inibição de algum dos componentes da PCR. Em relação à redução do componente A para 35µL, este apresentou resultados satisfatórios quando utilizado com 1X de componente C e diluição 1:25 amplificando 100% das amostras (TABELA 2). O uso de protocolos de extração de DNA simplificados como, que utilizam pouco material de origem, ou possuem poucos passos de purificação, tendem a produzir ácidos nucléicos com alto teor de polifenóis e polissacarídeos podendo interferir na PCR (DANTAS, 2010). Os melhores resultados obtidos para a extração de DNA de 10mg de

sementes de soja foram utilizados para iniciar a otimização do protocolo de extração de DNA SAM para maiores quantidades de sementes. Os parâmetros e suas variações testadas para a extração de DNA de sementes de soja e seus respectivos resultados estão detalhados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros avaliados e variações testadas para a otimização da extração de DNA de sementes de soja e seus respectivos resultados

Quantidade de sementes (mg)	Plásticos	Comp. A/B (µL)	Quantidade de amostras	Média dos valores de CTs sonda1/sonda2	Amplificação das amostras (%)	Genotipagem correta (%)	Justificativas	
10 (equivalente a uma semente de soja)	Placa 96-C 0,2mL	35	32	34/34	100	100	A redução do componente A para 35µL provavelmente minimizou os contaminantes da extração apresentando melhores resultados.	
		50	32	38/38	81,3	100		
	Deep Well (1,5mL)	250	24	32/33	100	100	O tratamento com 250µL foi o único que não apresentou contaminação entre as amostras durante maceração e agitação no vortex	
		400	24	30,2/33	100	75		
	200	Deep Well (2mL)	200	24	34,4/35,4	50	50	O tratamento com 300µL foi o único que não ocorreu contaminação entre as amostras durante a maceração e agitação no vortex.
			300	48	35/32	100	100	
400			24	30,2/32	100	75		
300	Deep Well (2mL)	500	48	33,7/33,1	100	91,7	O tratamento com 500µL de cada componente A e B foi o único que ocorreu pequena contaminação entre as amostras durante a maceração e agitação no vortex.	
		600	48	29,1/30,9	100	75		
500	Deep Well (1,5mL)	700	48	30,5/32,5	100	87,5	Maiores quantidades de componentes A e B possibilitam melhor extração, pois na etapa de agitação no vortex o líquido envolve toda a amostra.	
		400	24	33/34	60	70		
1000	Deep Well (2mL)	700	24	31,7/34,2	100	100		
1000	Deep Well (7mL)	1250	24	31,4/33,1	91,7	100	Para melhorar a qualidade da extração pode se utilizar facilitadores de PCR.	
1000	Deep Well (7mL)	2500	24	31,4/33,1	91,7	100		

As variações testadas que estão sublinhadas apresentaram os melhores resultados

Todos os tratamentos foram realizados com 1X de componente C e diluição 1:25 pois apresentaram os melhores resultados.

O método pôde ser otimizado para diferentes quantidades de sementes variando entre 10mg a 1000mg cuja extração de DNA apresentou melhores desempenhos em diferentes recipientes com diferentes quantidades dos componentes do protocolo SAM (TABELA 2). Mesmo tomando os devidos cuidados não foi possível impedir por completo a contaminação entre as amostras para a extração de 200mg de sementes, que ocorreram através do espalhamento de soja moída para os poços adjacentes durante a distribuição das amostras e agitação no vortex. Aprimoramentos estão sendo realizados para contornar esses problemas.

Segunda Etapa: Otimização da maceração no aparelho Geno/Grinder 2010

Um dos objetivos da primeira etapa dos testes foi otimizar a extração de DNA SAM para 100mg de sementes (equivalente a uma semente de soja inteira aproximadamente) e o protocolo que apresentou os melhores resultados foi 300µL de cada componente A e B, 1X de componente C e diluição 1:25 para ser utilizada na extração após a maceração no aparelho Geno/Grinder 2010. Com o objetivo de testar o processo de maceração no aparelho Geno/Grinder, para uso com o protocolo otimizado descrito acima, vários parâmetros e variações foram avaliados, e seus respectivos resultados estão listados na tabela 3.

Para a maceração no aparelho Geno/Grinder as sementes de soja foram embebidas em água destilada ou componente A, pois o tratamento com sementes sem embebição inicialmente utilizado, não macerou eficientemente as amostras. A melhor variação testada para tempo de maceração e tamanho de esferas foi de 2 minutos e 30 segundos e esferas de 5mm respectivamente, promovendo a maceração de 100% das amostras embebidas em água destilada ou componente A até a formação de material pastoso. Durante a maceração ocorreram vazamentos das amostras e com isso foram incluídos entre os parâmetros avaliados, a quantidade de líquido utilizado para a embebição e a forma de vedação da placa. A melhor variação testada para o parâmetro quantidade de líquido usado na embebição foi de 300µL de água destilada ou componente A, sendo essa a quantidade que a semente absorve

complemente o líquido adicionado e macera eficientemente as amostras. Para a forma de vedação da placa, a esteira foi a que promoveu melhor vedação entre as variações testadas. Apesar da otimização desses parâmetros, ainda ocorreram pequenos vazamentos. Para verificar se os vazamentos propiciaram erros de genotipagem das amostras, foram realizados testes de extração de DNA, sendo que o DNA obtido foi submetido à análise de RT-PCR. No teste de extração de DNA as sementes foram embebidas em 300µL de água destilada e em componente A e vedadas com a esteira. Em relação à contaminação e a média dos valores de CTs o melhor tratamento foi sementes embebidas em 300µL de água destilada. Das amostras utilizadas 81,3% foram amplificadas e dessas 100% foram genotipadas corretamente. Este teste mostrou que o pequeno vazamento observado durante a etapa de maceração não prejudicou a genotipagem correta das amostras, porém as amostras não amplificaram 100%. Em vista disso foi realizado um teste em larga escala utilizando sementes embebidas em 300µL de água destilada e vedadas com a esteira. Entre os resultados obtidos 87,5% das amostras foram amplificadas e dessas amostras 98,8% foram genotipadas corretamente, as médias dos valores de CTs para as sondas 1 e 2 foram 35,5 e 37,8 respectivamente. Estes testes atenderam ao objetivo da extração de DNA de sementes de soja em larga escala utilizando o protocolo de extração SAM e o aparelho Geno/Grinder para a maceração das sementes. Contudo, futuramente, aprimoramentos devem ser realizados a fim de contornar os problemas observados, como o vazamento das amostras durante a etapa de maceração, a não amplificação de pequena porcentagem das amostras, e os altos valores de CTs observados ao longo dos testes. Em sementes, os altos teores de polifenóis e polissacarídeos tornam-se um problema na extração do DNA, visto que esses podem inibir a PCR e resultar em altos valores de CTs. Para atenuar o efeito desses contaminantes, a utilização de facilitadores de amplificação na PCR, tais como polivinilpirrolidona (PVP), polivinil polipirrolidona (PVPP), BLOTTO (10% de leite desnatado em pó e 0,2% de NaN), dimetil sulfoxido (DMSO), soro de bovino albumina (BSA) (WILSON, 1997), pode ser uma maneira de atenuar esse problema.

Tabela 3. Parâmetros avaliados e variações testadas para a otimização do processo de maceração de sementes de soja inteiras no aparelho Geno/Grinder e seus respectivos resultados, para fins de extração de DNA de 100mg de sementes de soja.

Adesivo 1: selo convencional, adesivo 2: selo de maior aderência.

Parâmetros Avaliados	Variações testadas	Melhor variação	Justificativa
Tempo de maceração	1m	2m30s	O ciclo de 2m30s macerou 100% das sementes embebidas em água destilada e componente A até ao ponto de formação de material pastoso, após novo ciclo foi apresentado o mesmo resultado.
	1m30s		
	2m		
	2m30s		
Tamanho das esferas (mm)	4	5	As esferas de 5mm foram as únicas que maceraram 100% das amostras
	5		
	6		
Forma de embebição das sementes	Sem embebição	água ou componente A	O tratamento com sementes embebidas em água destilada e componente A apresentaram resultados menos propícios a vazamentos durante a maceração.
	Embebição com água		
Quantidade de líquido usado na embebição (uL)	Embebição com componente A	300	O volume de 300µL é o único que foi completamente absorvido pela semente e que produziu um macerado pastoso
	200		
	300		
	400		
Forma de vedação da placa	500	Esteira	A esteira foi a que promoveu a melhor vedação entre as variações testadas, porém em alguns testes de maceração ainda houve vazamentos.
	Esteira		
	Adesivo 1		
	Adesivo 2		

Conclusões

A partir das variações testadas, foi possível otimizar um protocolo eficiente, rápido e de baixo custo para a extração de DNA em larga escala de sementes de soja, tanto inteira como moída em diversas quantidades, para fins de seleção assistida por marcadores moleculares.

Adaptações futuras poderão aprimorar a qualidade do DNA extraído, bem como eliminar problemas de contaminação entre amostras.

Referências

- BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. **Marcadores moleculares**. 2. ed. Viçosa: Universidade de Viçosa, 2006. 532p.
- COLLARD, B.C.Y.; MACKILL, D.J. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. **Philosophical Transactions Royal Society B**, Metro Manila, Philippines, v. 363, p. 557-572, fev. 2008.
- CONTRI, D.G. **Detecção de resíduos de DNA em alimentos**: avaliação da qualidade, da quantidade e da capacidade de amplificação por PCR de DNA extraído matérias-primas e produtos acabados para fins de análise em transgenia. 2006.113f. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdades de Ciências Farmacêuticas, São Paulo.
- DANTAS, A.C.M. **Extração e análise de DNA vegetal, Parte1**. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina-Centro de Ciências Agrárias, 2010.18 p. Relatório técnico.
- DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant DNA miniprep: version II. In: KORBAN, S.S. **Plant Molecular Biology Reporter**. 1. ed. Nova York, 1983. v.1, p.19-21.
- DOYLE, J.J.T.; DOYLE, J.L. **Isolation of plant DNA from fresh tissue**. 1987. v.12. p.13-15.
- FRONZA, V. **Genética da reação da soja a *Fusarium solani f.sp.glycines***. 2003. 166f. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.
- WILSON, I.G. Inhibition and facilitation of nucleic acid amplification. **Applied Environmental Microbiology**, Irlanda, v. 63, p. 3741-3751, out.1997.

Flutuação populacional de Noctuídeos determinada pela captura com armadilhas luminosas na região norte de Londrina, Paraná

Piotto, B.K.¹; Sosa-Gómez, D.R.²

¹Uenp, Bolsista CNPQ/PIBIC- Brasil; ²Embrapa Soja | piotto@cnpso.embrapa.br

Introdução

Os lepidópteros constituem uma das ordens mais diversas de insetos e podem ser atraídos por fontes luminosas (Gardiner, 1995). Para amostrar esses insetos as armadilhas luminosas são de grande utilidade para determinar a época de aparecimento e a abundância estacional de espécies de pragas. Entre esses insetos a superfamília Noctuoidea destaca-se entre os principais grupos de mariposas pela grande diversidade e sua importância econômica como pragas de plantas cultivadas. Entre elas na cultura da soja destacam-se a lagarta-da-soja (*Anticarsia gemmatalis* Hübner, 1818), as lagartas falsa-medideiras [*Chrysodeixis includens* (Walker, [1859]) e [*Rachiplusia nu* (Guenée, 1852)], a lagarta-da-maçã-do-algodoeiro, *Heliothis virescens* (Fabricius, 1781), a lagarta-da-espiga *Helicoverpa zea* (Boddie, 1850), uma espécie recentemente introduzida no Brasil (*Helicoverpa armigera* Hübner, 1805) e várias espécies do gênero *Spodoptera*, tais como *Spodoptera cosmioides* (Walker, 1858), *S. frugiperda* (J. E. Smith, 1797), *S. eridania* (Cramer, 1782) e *S. albula* (Walker, 1857). Sendo assim, este trabalho tem como objetivo analisar a composição das espécies e a flutuação da população durante o ano, no distrito da Warta, norte da cidade de Londrina, PR, por meio da captura de armadilhas “Luiz de Queiróz”.

Material e Métodos

Foram instaladas quatro armadilhas do tipo “Luiz de Queiroz” (Silveira Neto & Silveira, 1969) no campo experimental na Embrapa-Soja, no distrito da Warta, Londrina, Paraná. Tais armadilhas estavam equipadas com luz negra (SYLVANIA, modelo F15T12/LN) de 15W. As coletas foram realizadas semanalmente, entre o dia 02 de agosto de 2012 à 22 de março de 2013, entre as 16:00h e 8:00h do dia seguinte. Os insetos capturados foram levados ao laboratório, para a identificação das espécies. Esta foi realizada pelo padrão morfológico das asas, e pelo estudo de suas genitálias, utilizando as descrições de Pogue (2002; 2004). Para isto o abdômen das mariposas foi destacado e mantido por 24 h em tubo de ensaio contendo NaOH 10%. Após esse período foram dissecados em água, sobre uma camada de parafina, realizando um corte lateral conforme metodologia descrita por Dias et al. (1976). A genitália foi extraída cuidadosamente, utilizando pinças finas, para não danificar suas estruturas.

Resultados e Discussão

As espécies mais abundantes foram *A. gemmatalis*, com um total de 1.620 indivíduos, e *C. includens* com um total de 1.324 mariposas, referente a um total de 4.427 lepidópteros coletados. O período de maior coleta de *A. gemmatalis* foi entre 13 de dezembro de 2012 e

21 de fevereiro de 2013. Os maiores valores de captura de *C. includens* ocorreram entre 10 de janeiro de 2013 e 21 de fevereiro de 2013. No dia 03/01/2013 foi capturado o maior número de *A. gemmatalis* totalizando 557 mariposas nas quatro armadilhas. *C. includens* foi capturada em maior número no dia 10/01/2013, totalizando 732 indivíduos. A alta ocorrência dessas espécies durante este período provavelmente está correlacionado com a presença da soja em campo uma vez que as coletas foram realizadas enquanto a cultura se apresentava ao final da fase vegetativa na safra 2012-2013.

O total de *R. nu* capturado foi de 234 indivíduos em todas as datas de coleta (Figura 1).

A prevalência do gênero *Spodoptera*, foi menor de que *A. gemmatalis* e *C. includens*. As espécies mais abundantes do gênero foram *S. albula*, com um total de 308 mariposas em todas as datas de coleta, e *S. frugiperda*, com 74 espécimes capturados em todas as datas de coleta.

O período de maior coleta de *S. albula* ocorreu entre 19 de dezembro de 2012 e 21 de fevereiro de 2013, sendo a data de maior coleta no dia 14/02/2013, com total de 69 indivíduos capturados em todas as armadilhas. *S. frugiperda* teve seu maior período de captura entre 06 de dezembro de 2012 e 17 de janeiro de 2013, sendo a data de maior coleta no dia 03/01/2013, com total de 11 indivíduos em todas as quatro armadilhas.

S. cosmioides e *S. eridania* foram as espécies menos prevalentes, com o número total de 57 e 22 indivíduos capturados, respectivamente, em todas as datas de coleta. (Figura 3)

O período de maior coleta de *H. virescens* foi entre 10 de janeiro de 2012 e 21 de fevereiro de 2013, sendo a data de maior coleta no dia 14/02/2013, com total de 18 indivíduos capturados em todas as armadilhas. Durante todas as datas de captura e em todas as armadilhas, foram registrados 48 indivíduos de *H. virescens*.

Durante a coleta, observou-se elevada prevalência de *H. armigera* e *H. zea* identificada por meio de técnicas moleculares, entretanto na Figura 2 foram considerados como *Helicoverpa* spp., pois a separação das espécies ainda encontra-se em andamento. Entretanto, o período de maior coleta foi entre 10 de janeiro de 2013 e 08 de março de 2013, sendo 10/01/2013 a data correspondente a maior captura, totalizando 173 indivíduos neste dia. Durante todas as datas de coleta em todas as armadilhas, foram registrados 740 indivíduos de *Helicoverpa* spp. (Figura2).

Os resultados obtidos no presente estudo assemelham-se aos de Santana & Sosa-Gómez (2012), que constataram uma alta ocorrência de *A. gemmatalis* e *C. includens* durante a safra 2011-2012. Os valores totais de captura de *S. frugiperda* e *S. eridania* também foram semelhantes aos obtidos por Santana & Sosa-Gómez (2012). Entretanto estes autores não capturaram *S. albula* e as capturas de adultos de *R. nu* foram menores, com um total de 10 indivíduos registrados em todas as datas de coleta na safra 2011/12.

Conclusões

As espécies de noctúideos coletados em ordem decrescente de abundância, de agosto de 2012 à março de 2013, foram: *Anticarsia gemmatalis*, *Chrysodeixis includens*, *Helicoverpa* spp., *Spodoptera albula*, *Rachiplusia nu*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera cosmioides*, *Heliopsis virescens* e por último *S. eridania*.

C. includens ocorreu mais tardiamente que *A. gemmatalis*.

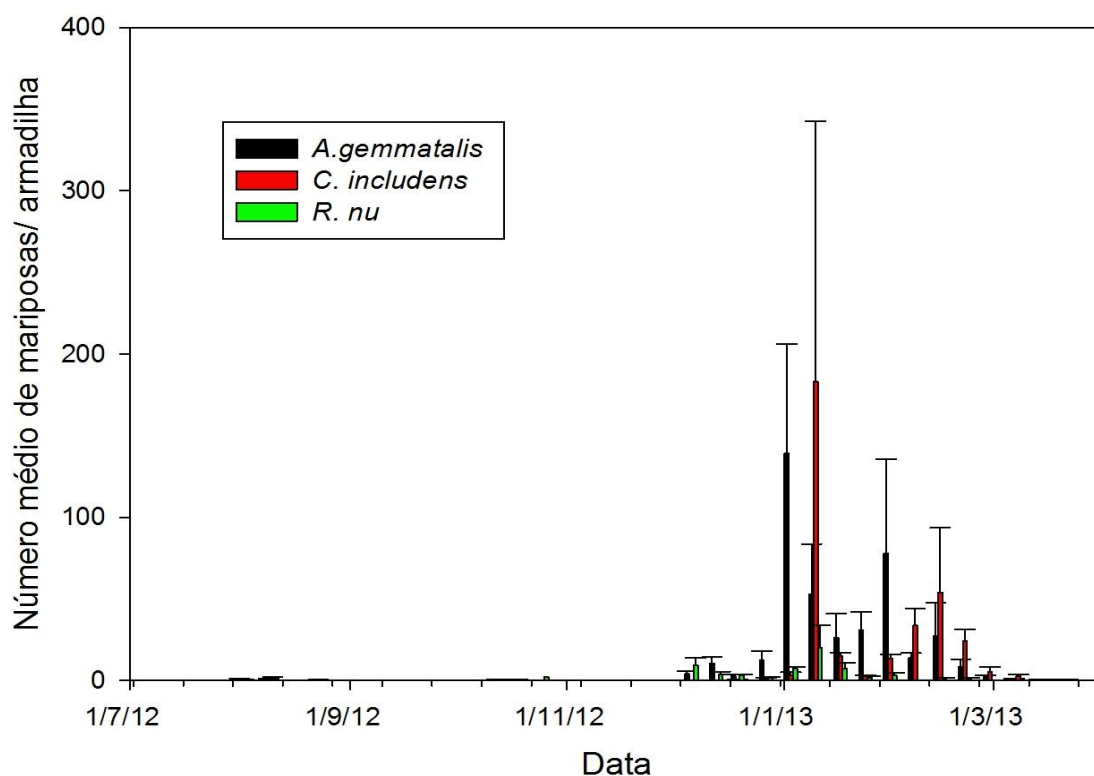


Figura 1. Número médio de mariposas capturadas em armadilhas luminosas no campo experimental da Embrapa Soja, região norte do Paraná, Londrina.

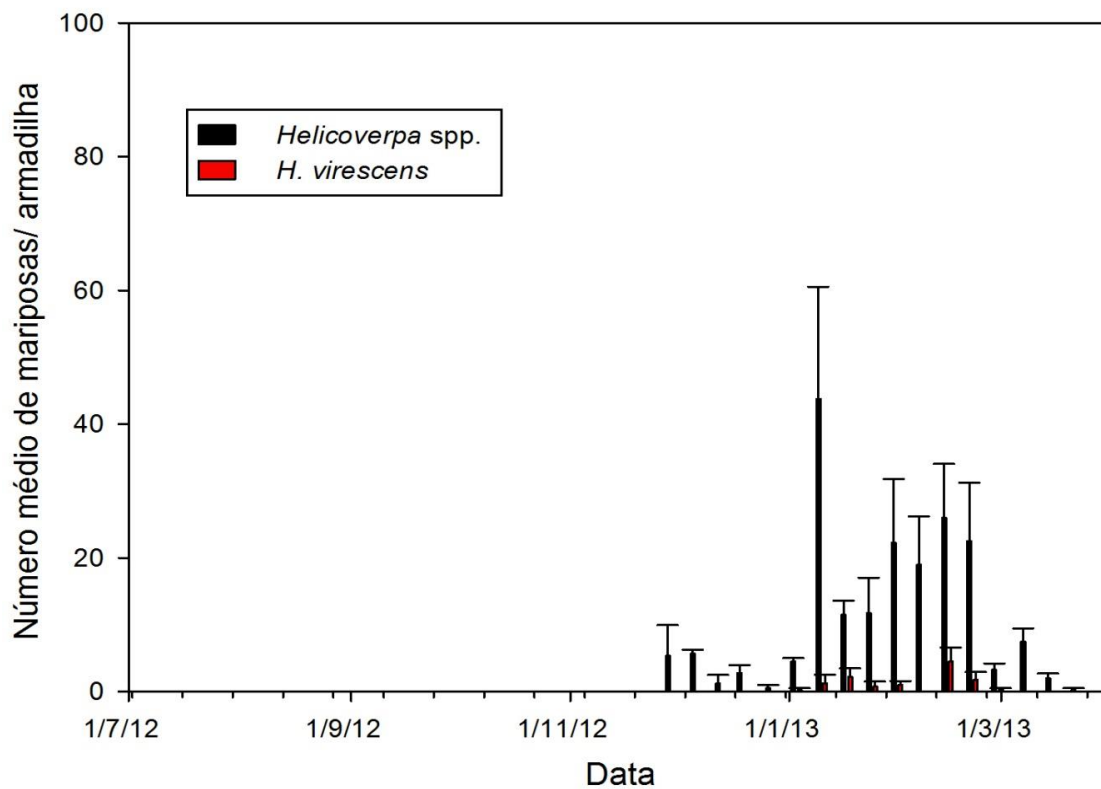


Figura 2. Número médio de *Helicoverpa* spp. capturadas em armadilhas luminosas no campo experimental da Embrapa Soja, região norte do Paraná, Londrina.

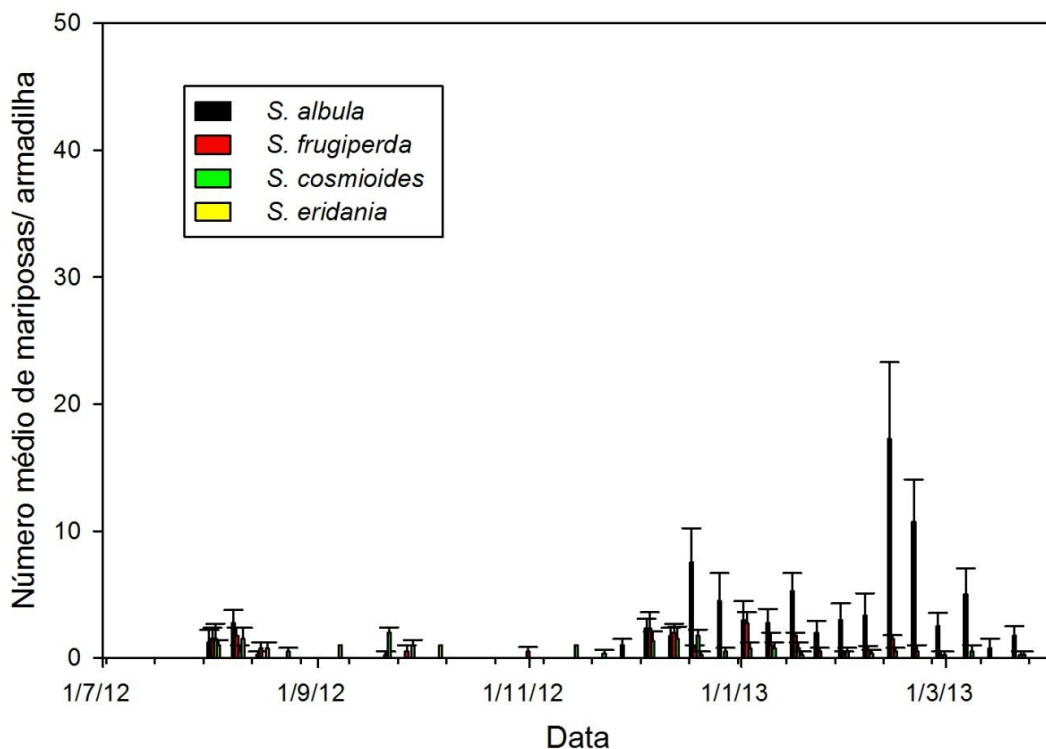


Figura3. Número médio de mariposas do gênero *Spodoptera* capturadas em armadilhas luminosas no campo experimental da Embrapa Soja, região norte do Paraná, Londrina.

Referências

DIAS, F.M.S.; CASAGRANDE, M.M.; MIELKE, O.H.H. Alternative techniques to study characters of the genitalia in Lepidoptera. **Neotropical Entomology**, v.39, n.6, p.1044-1045, 2010.

GARDINER, B. O. C. The very first light-trap, 1565? , v.107, p. 45-46, 1995.

POGUE, M.G. A world revision of the genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). **Memoirs of the American Entomological Society**, v.43, p. 1-202, 2002.

POGUE, M.G. A new synonym of *Helicoverpa zea* (Boddie) and differentiation of adult males of *H. zea* and *H. armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae). **Annual of the Entomological Society of America**, v. 97, n. 6, p. 1222-1226, 2004.

SANTANA, G.K. DOS S.; SOSA-GÓMEZ, D.R. Captura de Noctuídeos com armadilha luminosa na região norte de Londrina, Paraná. In: JORNADA ACADÊMICA DA EMBRAPA SOJA, 7, 2012, Londrina. Resumos expandidos. Londrina: Embrapa Soja, 2012. p.56-60. (Embrapa Soja. Documentos, 333).

SILVEIRA NETO, S.; SILVEIRA, A.C. **Armadilha luminosa modelo "Luiz Queiroz"**. O Solo, v. 61, n. 2, p. 19-21, 1969.

Variação nos Teores de Óleo e Proteína em Grãos de Soja, com diferentes intensidades de ataque de percevejo, da colheita ao armazenamento, utilizando a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)

Delafrente, B.¹; Vilas Boas R.L.P.¹; Leite, R.S.²; Mandarino, J.M.G.²; Quirino, J.R.³; Corrêa-Ferreira, B.S.²; Lorini, I.²; Oliveira, M.A.²

¹Graduando em Tecnologia de Alimentos –UTFPR/Londrina, ²Embrapa Soja, ³Caramuru Alimentos – Rio Verde/GO

Introdução

Muitos pesquisadores têm trabalhado e relatado danos causados a cultura da soja pelo ataque de percevejos. Já no final da década de 70, Corso e Porto (1978), relataram que os percevejos provocavam decréscimos significativos de rendimentos da soja. Além disso, esses mesmos autores ainda afirmaram que o ataque de percevejos e fungos diminui o teor de óleo nos grãos soja, sendo que os primeiros ainda acarretam em aumento no teor de proteína nos grãos. Vale a pena ressaltar que não se sabe como ocorre esse aumento no teor de proteína, nem tão pouco essa diminuição no teor de lipídio e qual a ação na qualidade desses constituintes.

Freitas et al. (2001) observaram que à medida em que a porcentagem de grãos de soja picados por percevejos aumenta, a porcentagem de grãos ardidos também cresce. Os grãos ardidos irão interferir na quantidade/qualidade dos constituintes dos grãos de soja, causando prejuízos para a indústria de processamento. Esses autores encontraram correlação de $r = 0,92$ entre picadas de percevejos x grãos ardidos, sendo que esses valores podem variar dependendo da cultivar, da idade fenológica da planta na qual ocorre o ataque de percevejos e condições climáticas.

As perdas por ataque de percevejos não se resumem somente a diminuição do peso dos grãos na colheita, podendo continuar aumentando durante o armazenamento. Os grãos de soja muitas vezes são armazenados antes de serem processados na indústria, sofrendo deteriorações irreversíveis para a produção tanto de óleo como do farelo proteico, dependendo dos cuidados na condução da lavoura e na colheita.

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR, do inglês, Near-Infrared) tem um grande potencial para substituição dos métodos de Kjeldahl e de extração por Soxhlet para determinação dos teores de proteína e lipídios, respectivamente. O NIR é um método que possui inúmeras vantagens, pois é rápido, não utiliza reagentes químicos, não expõe o analista a riscos químicos e não gera resíduo. Por outro lado, é um método indireto, que deve ser bem calibrado para que os resultados sejam confiáveis.

O objetivo do trabalho foi verificar variação nos teores de óleo e proteína em grãos de soja, com diferentes intensidades de infestação de percevejo, no momento da colheita e após determinado período de armazenamento, utilizando o NIR.

Material e Métodos

Os tratamentos pesquisados neste estudo foram amostras de grãos de várias lavouras de soja (03/2011) em que a Embrapa Soja em parceria com agricultores testaram três condições de tratamentos:

1 - área do produtor, 2 - área com o MIP (manejo Integrado de pragas) e 3 - área testemunha, e considerando os diferentes locais resultaram em seis tratamentos:

T1 - área do produtor de Arapongas (cultivar BMX Potencia);

T2 - área do produtor de Campo Mourão (cultivar NK 7059 RR);

T3 - área do produtor de Goiás (cultivar não especificada);

T4 - área intermediária CD Arapongas (cultivar BMX Potencia);

T5 - área MIP de Arapongas (cultivar BMX Potencia) e,

T6 - área Testemunha de Arapongas (cultivar BMX Potencia);

Na área do agricultor foi realizado o controle de percevejos de acordo o manejo do agricultor que é a aplicação conjunta de herbicida e fungicida. Na área do MIP ocorreu o controle de percevejos quando o nível populacional atingia dois percevejos/metro. Na área CD caracteriza o tratamento intermediário entre o MIP e o produtor, e ocorreu o controle de percevejos quando o nível populacional atingia meio percevejos/metro.

Destas áreas foram coletadas e armazenadas a produção de cada tratamento e a cada três meses foram retiradas amostras para realizar as análises dos teores de óleo e proteína. O experimento foi conduzido em BODs, com temperatura controlada de 25°C e umidade relativa de 60%, com quatro repetições, sendo as avaliações compostas por amostragem no ponto zero (colheita), aos três, seis, nove e doze meses de armazenamento. O delineamento experimental para este estudo foi inteiramente casualizado com os tratamentos (cinco períodos de armazenamento e seis locais de manejo de percevejos) em arranjo fatorial 5x6 e quatro repetições totalizando 120 parcelas experimentais. O teste de comparações múltiplas de médias pelo método de tukey ($p \leq 0,05$)

Os teores porcentuais de proteína e óleo nas amostras foram determinados em grãos de soja íntegros pela técnica da Refletância do Infravermelho Próximo (NIR) segundo Heil (2012). Os grãos inteiros e limpos de cada amostra foram submetidos a leituras em triplicata, com equipamento Thermo, modelo Antaris II, dotado de esfera de integração com resolução de 4 cm⁻¹, média de 32 *scans* e *background* a cada leitura. Para a predição, foram utilizados modelos matemáticos desenvolvidos pela Embrapa Soja em 2011/12 para teores de proteína (180 padrões, Coeficiente de Correlação (r) = 0,97, Erro Padrão da Calibração (RMSEC) = 0,64 e óleo (170 padrões, Coeficiente de Correlação (r) = 0,98, Erro Padrão da Calibração (RMSEC) = 0.452.

Resultados e Discussão

As análises de variância (ANOVA) para os teores de óleo e proteína permitem afirmar que houve respostas significativas para os períodos de armazenamento e local de manejo de percevejos em diferentes locais, mas não houve resposta significativa para a interação entre os dois fatores (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Quadro da análise de variância para os teores de proteína de grãos de soja (%) oriundos de diferentes locais de produção, armazenados durante 12 meses e amostrados de três em três meses.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	Prob (F)
Períodos	4	26,0225	6,5056	11,8038	0,0000
Locais	5	122,6499	24,5299	44,5070	0,0000
Períodos*Locais	20	13,7175	0,6858	1,2444	0,2383
Resíduo	90	49,0339	0,5511		
Total	119	211,9934			

Média Geral = 39,38 , GL = Grau de Liberdade, SQ= Soma de Quadrados, QM = Quadrados Médios, F = Estatística F, Prob = Probabilidade da estatística F e Coeficiente de Variação = 1,88 %

Tabela 2. Quadro da análise de variância para os teores de lipídios de grãos de soja oriundos de diferentes locais de produção, armazenados durante 12 meses e amostrados de três em três meses.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F	Prob (F)
Períodos	4	7,8411	1,9602	4,11	0,0044
Locais	5	12,5367	2,5073	5,26	0,0004
Períodos*Locais	20	10,9907	0,5495	1,15	0,3134
Resíduo	90	42,8990	0,4766		
Total	119	74,2676			

Média Geral = 21,143667, GL = Grau de Liberdade, SQ= Soma de Quadrados, QM = Quadrados Médios, F = Estatística F, Prob = Probabilidade da estatística F e Coeficiente de Variação = 3,26 %

Assim sendo, verificou-se que em condições ideais de armazenamento (25°C e umidade relativa de 60%), ocorreu um aumento nos teores de proteína e uma diminuição nos teores de lipídios ao longo do armazenamento (Tabela 3).

Os resultados de aumento dos teores de proteínas durante o armazenamento contradizem Thomas et al. (1989), que armazenaram a soja às temperaturas de 20 e 30°C e umidades relativas de 65 e 85%, relatando que o teor de proteína decresceu com o tempo de armazenamento e que a umidade relativa e a temperatura influenciaram significativamente no teor de proteína ($P < 0,01$). A soja armazenada a 65% de umidade relativa obteve um decréscimo no teor de proteína mais rapidamente nos primeiros meses de armazenamento. Já em relação aos teores de óleo, os dados deste ensaio encontram apoio em Teixeira (2001), que afirmou que o teor de óleo tem tendência a decrescer com o tempo de armazenamento, sendo função do teor de umidade inicial e do tempo de armazenagem.

Os maiores teores de proteína foram encontrados no tratamento TEST de Arapongas, onde não se fez nenhum controle de percevejos, entretanto sem diferir dos tratamentos MIP de Arapongas e Produtor de C. Mourão. Salienta-se que os teores médios de proteína dos tratamentos Produtor de Arapongas e CD Arapongas, onde o controle químico foi mais utilizado, foram inferiores ao da TEST Arapongas. O Tratamento Produtor de Goiás foi o que apresentou os menores teores de proteína, entretanto salienta-se que para calibração do equipamento NIR foram utilizados modelos matemáticos desenvolvidos pela Embrapa Soja em 2011/12 para teores de proteína, e cultivares do estado de Goiás não fizeram parte das curvas de calibração, o que pode ter acarretado em distorções nesses teores (Tabela 3).

Em relação aos teores de lipídios, verificou-se que os teores foram muito próximos, apresentando diferenças apenas entre os tratamentos Produtor de C. Mourão e Produtor de

Goiás para os tratamentos CD Arapongas e MIP de Arapongas, sendo que esses dois últimos tratamentos foram observados teores mais elevados. Novamente salienta-se que as curvas de calibração não contemplavam cultivares de Goiás e pode ter interferido nesses teores.

Assim sendo, verificou-se que a implantação do tratamento MIP de Arapongas não ocasionou diminuição dos teores de proteína nem aumento dos teores de lipídio quando comparado com o tratamento TEST de Arapongas. Nesses dois campos foi utilizado a mesma cultivar e no tratamento TEST não foi feito nenhum controle de percevejos. Assim sendo, esses dados contradizem o relato de Corso & Porto (1978), que afirmaram que o ataque de percevejo acarreta em aumento dos teores de proteína e diminuição dos teores de lipídios.

Tabela 3. Teores de Proteína e Lipídio de grãos de soja de oriundos de diferentes locais de produção, armazenados durante 12 meses e amostrados de 3 em 3 meses.

Parâmetros químicos	Tratamentos	Teores médios dos constituintes						Média	C.V.%
		Ponto zero	Data de coleta (meses)						
			3 meses	6 meses	9 meses	12 meses			
Proteína (g 100g ⁻¹)	Produtor Arapongas	38,50	39,87	39,10	39,29	40,55	39,46 ^b	1,89%	
	Produtor C. Mourão	39,32	40,10	40,00	39,97	41,23	40,13 ^{ab}		
	Produtor Goiás	37,31	36,58	37,25	37,93	37,03	37,22 ^c		
	CD Arapongas	38,61	39,52	39,36	39,45	40,80	39,55 ^b		
	MIP Arapongas	39,03	39,68	39,49	39,76	40,45	39,68 ^{ab}		
	TEST.Arapongas	39,55	40,53	40,16	40,15	40,96	40,27 ^a		
	Média	38,72 ^c	39,38 ^B	39,23 ^{BC}	39,42 ^B	40,17 ^A			
Lipídio (g 100g ⁻¹)	Produtor Arapongas	21,27	20,91	21,82	20,98	20,78	21,15 ^{ab}	3,26%	
	Produtor C. Mourão	20,94	21,23	20,61	21,27	20,28	20,87 ^b		
	Produtor Goiás	20,89	21,63	20,46	20,46	20,07	20,70 ^b		
	CD Arapongas	21,87	21,81	21,59	21,93	20,65	21,57 ^a		
	MIP Arapongas	21,47	21,36	21,37	22,03	21,45	21,54 ^a		
	TEST.Arapongas	21,11	20,88	20,84	21,57	20,73	21,03 ^{ab}		
	Média	21,26 ^A	21,31 ^A	21,12 ^{AB}	21,37 ^A	20,66 ^B			

Conclusão

Em condições ideais de armazenagemarmazenamento (25°C e umidade relativa de 60%), ocorreu um aumento nos teores de proteína e uma diminuição nos teores de lipídios dos grãos de soja ao longo do armazenamento.

O aumento de ataque de percevejos ocasionou aumento nos teores de proteína dos grãos de soja durante o armazenamento, entretanto sem alterar os teores de lipídios dos grãos, sendo que estudos em relação à qualidade da proteína e lipídio, nas mesmas condições, estão em andamento.

Referências

CORSO, I. C.; PORTO, M. D. M. Relação entre o efeito associado de percevejos e na produtividade e teores de óleo e proteínas de semente de soja. **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v.14, n.1, p.41-46, 1978.

FREITAS, M. A.; GILIOLO, J. L.; MELO M. A. B.; BORGES, M. M. O que a indústria quer da soja? **Revista Cultivar**, Pelotas, v.3, n. 26, p.16-21, 2001. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/gc26_soja.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2013.

HEIL, C Rapid, multi-component analysis of soybeans by FT-NIR Spectroscopy. Madison: Thermo Fisher Scientific, 2010. 3 p. (Application note: 51954). Disponível em: <http://www.nicoletcz.cz/userfiles/file/vjecy/soybeans.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2012.

TEIXEIRA, G.V. **Avaliação das perdas qualitativas no armazenamento da soja**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola), UNICAMP. Campinas, 2001. 97f.

THOMAS, R.; de MAN, J.M.; de MAN, L. Soymilk and tofu properties as influenced by soybean storage conditions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Vol. 66, n. 6, 1989.

Evolução dos defeitos da soja comercial durante o armazenamento em função da infestação de percevejos na lavoura

Bocatti, C. R.¹; Lorini, I.²; Quirino, J. R. ³; Rosa, E. S.³; Corrêa-Ferreira, B. S.²; Oliveira, M. A. de².

¹ Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Cornélio Procópio, PR. E-mail:

camilarafaeli@hotmail.com | ² Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa Soja). Rodovia Carlos João Strass - Distrito de Warta, Caixa Postal 231, CEP86001-970 Londrina, PR. E-mail: irineu.lorini@embrapa.br; bscferreira@gmail.com; marceloalvares.oliveira@embrapa.br | ³ Caramuru Alimentos S. A., Rodovia BR 060 Km 426, CEP75900-000 Rio Verde, GO. E-mail: zeronaldo@caramuru.com; elivania@caramuru.com

Introdução

A soja, cultura agrícola que mais cresceu no Brasil nos últimos anos e cultivada especialmente nas regiões Centro Oeste e Sul do país, firmou-se como um dos produtos mais destacados da agricultura nacional, representando 49% da área cultivada em grãos do país (BRASIL, 2013). Na safra 2011/2012 a produção brasileira atingiu 66.383 milhões de toneladas, e a previsão da safra 2012/2013 apresenta um aumento de 23,4% na produção com 81.940,6 milhões de toneladas produzidas (CONAB, 2013).

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2013), a indústria nacional produz, por ano, cerca de 5,8 milhões de toneladas de óleo comestível e 23,5 milhões de toneladas de farelo proteico. A soja é componente essencial na fabricação de rações animais e possui também importância crescente na alimentação humana. O consumo interno está estimado em 42,40 milhões de toneladas em 2013 e espera-se ainda que o Brasil exporte aproximadamente 36,78 milhões de toneladas (CONAB, 2013).

Diante deste cenário é de extrema importância a utilização de um padrão que atue no controle da qualidade dos produtos, inibindo fraudes e possibilitando a concorrência leal entre produtores. No Brasil a classificação da soja é regulamentada pela Instrução Normativa N° 11, de 15 de maio de 2007 e Instrução Normativa N° 37 de 27 de julho de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007a; 2007b), permitindo identificar entre os fornecedores de matéria prima aqueles que atendem as exigências do mercado. Isso garante que o produto adquirido seja realmente o ofertado e possibilita o reconhecimento do produto de melhor qualidade. Estas normativas determinam os defeitos, regras e limites de enquadramento da soja que será comercializada. Dentre os principais defeitos, pode-se citar:

Grãos ardidos: grãos ou pedaços de grãos que se apresentam visivelmente fermentados em sua totalidade e com coloração marrom escura acentuada, afetando o cotilédone;

Grãos mofados: grãos ou pedaços de grãos que se apresentam com fungos (mofo ou bolor) visíveis a olho nu;

Grãos fermentados: grãos ou pedaços de grãos que, em razão do processo de fermentação, tenham sofrido alteração visível na cor do cotilédone que não aquela definida para os ardidos;

Grãos danificados: grãos ou pedaços de grãos que se apresentam com manchas na polpa alterados e deformados, perfurados ou atacados por doenças ou insetos, em qualquer de suas fases evolutivas;

Grãos imaturos: grãos de formato oblongo, que se apresentam intensamente verdes, por não terem atingido seu desenvolvimento fisiológico completo e que podem se apresentar enrugados;

Grãos chochos: grãos com formato irregular que se apresentam enrugados, atrofiados e desprovidos de massa interna.

Os grãos podem também ser classificados como esverdeados: grãos ou pedaços de grãos com desenvolvimento fisiológico completo que apresentam coloração totalmente esverdeada no cotilédone. Os avariados compreendem a soma dos ardidos, mofados, fermentados, danificados por insetos, imaturos, chochos, germinados e queimados (BRASIL, 2007a).

Um dos principais causadores de avarias na soja são os percevejos fitófagos, que por se alimentarem diretamente das vagens, atingem os grãos, afetando seriamente sua qualidade fisiológica e sanitária. Este problema vem se tornando mais sério a cada safra com elevadas populações, falta de monitoramento adequado, aplicação indiscriminada de produtos que levam ao desenvolvimento de resistência de populações entre outros (CORRÊA-FERREIRA, B. S.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MINAMI, C. A., 2009).

O objetivo deste trabalho foi determinar a evolução dos defeitos da soja comercial durante 360 dias de armazenamento, em função da infestação de percevejos na lavoura.

Materiais e Métodos

O trabalho foi realizado no Laboratório de Pós-colheita do Núcleo Tecnológico de Sementes e Grãos "Dr. Nilton Pereira da Costa" da Embrapa Soja em Londrina, PR. As amostras de soja usadas para determinar os defeitos foram provenientes de lavouras de soja submetidas a diferentes manejos para o controle de percevejos durante o ciclo da cultura. Estes foram; MIP-Soja Londrina-área de Londrina, PR onde foram aplicados os conceitos do manejo integrado de pragas da soja; Produtor Londrina-área de soja em Londrina, PR, onde foi aplicado o manejo do produtor; Testemunha Sem Controle-área onde não foram controlados os percevejos na soja; Testemunha Com Controle-área onde foi controlado intensivamente os percevejos com aplicações preventivas de inseticidas; Produtor Campo Mourão- área de soja em campo Mourão, PR, onde foi aplicado o manejo do produtor; Produtor Rio Verde- área de soja em rio Verde, GO, onde foi aplicado o manejo do produtor.

Em cada um destes locais foram colhidas cinco amostras (repetições) de 6,0 kg cada, acondicionadas em sacos de algodão e armazenadas em sala com temperatura e umidade relativa do ar de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ e $60 \pm 5\%$, respectivamente, durante 360 dias.

As avaliações dos defeitos dos grãos de soja foram realizadas no início e a cada 180 dias, de acordo com a metodologia estabelecida no Regulamento Técnico da Soja da Instrução Normativa N° 11, de 15 de maio de 2007 e Instrução Normativa N° 37 de 27 de julho de 2007, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2007a; 2007b), onde determina os defeitos e regras de enquadramento da soja para comercialização.

Os resultados de grãos fermentados, grãos danificados por percevejos e total de avariados, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de significância F ($p \leq 0,05$). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Para todas as análises estatísticas, foi utilizado o software estatístico SASM - Agri (CANTERI et al., 2001), e também realizada a representação gráfica dos resultados.

Resultados e Discussão

Considerando-se os três principais defeitos apresentados nas análises das amostras de grãos de soja, fermentados, danificados por percevejos e avariados, é possível verificar uma grande influência do manejo de lavoura adotado na percentagem de defeitos dos grãos, significativos estatisticamente (Tabela 1, Figuras 1, 2 e 3).

Tabela 1. Percentagem de grãos fermentados, danificados por percevejos e avariados, encontrados na classificação comercial de grãos de soja, durante 360 dias de armazenamento, em função da infestação de percevejos na lavoura na safra 2011/2012. Embrapa Soja, 2013. Londrina, PR.

Manejo de Lavoura	Grãos fermentados (%)			Grãos danificados (%)			Grãos avariados (%)		
	um dia	180 dias	360 dias	um dia	180 dias	360 dias	um dia	180 dias	360 dias
MIP-Soja Londrina	4,25 c	4,62 c	4,20 cd	7,20 b	5,17 b	5,40 b	11,45 c	9,80 c	9,65 cd
Produtor Londrina	13,32 b	11,96 b	11,87 bc	8,11 ab	6,03 ab	6,69 ab	21,79 b	18,18 bc	18,89 bc
Testemunha Sem Controle	24,74 a	29,48 a	35,40 a	9,10 ab	6,40 ab	5,64 b	34,07 a	35,88 a	41,26 a
Testemunha Com controle	1,88 c	1,78 c	1,60 d	2,57 c	1,41 c	1,41 c	4,45 d	3,19 d	3,00 d
Produtor Campo Mourão	3,11 c	2,64 c	3,75 cd	10,48 ab	8,86 a	9,36 a	13,68 c	11,60 c	13,12 c
Produtor Rio Verde	13,73 b	15,73 b	20,17 b	11,28 a	8,50 ab	7,94 ab	25,33 b	24,42 b	28,37 ab
C.V. (%)	10,00	16,65	21,89	9,67	11,83	8,74	8,58	14,34	16,02

Para análise estatística os dados foram transformados em raiz quadrada de $x+1$. Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Para os defeitos de grãos fermentados verificou-se que a testemunha com controle de percevejos teve a menor percentagem de grãos fermentados diferindo significativamente das amostras da testemunha sem controle ao longo dos 360 dias de armazenamento da soja (Tabela 1 e Figura 1). A soja do MIP-Soja Londrina foram sempre superiores ao Produtor Rio Verde e Produtor Londrina, exceto aos 360 dias para o Produtor Londrina, porém semelhante estatisticamente ao Produtor Campo Mourão, durante todo o período de armazenamento.

Na percentagem de grãos danificados por percevejos o menor índice de defeitos foi na Testemunha com controle que diferiu significativamente da Testemunha sem controle. O MIP-Soja Londrina apresentou percentagem semelhante ao Produtor Londrina, Testemunha sem controle, e ao Produtor Rio Verde aos 180 e 360 dias de armazenamento. Já o Produtor de Campo Mourão foi semelhante ao Produtor Rio Verde, Produtor Londrina e Testemunha sem controle a um e 180 dias de armazenamento dos grãos (Tabela 1 e figura 2).

Para o total de grãos avariados, a menor percentagem foi encontrada na Testemunha com controle de percevejos, que foi superior aos demais, exceto ao MIP-Soja Londrina a 360 dias de armazenamento. Por sua vez o MIP-Soja Londrina foi semelhante ao Produtor Campo Mourão, e ao Produtor Londrina, exceto a um dia de armazenamento, porém com menor percentagem de avariados em relação à Testemunha sem controle e do Produtor Rio Verde (Tabela 1 e Figura 3).

Verificou-se que apenas as amostras da Testemunha com controle se mantiveram com a percentagem do total de avariados abaixo do limite máximo permitido pelo Regulamento Técnico da Soja (Brasil, 2007a), que é de 8% (Figura 3), sendo todas as demais passíveis de desconto da percentagem de defeitos e padronização do produto para permitir a comercialização.

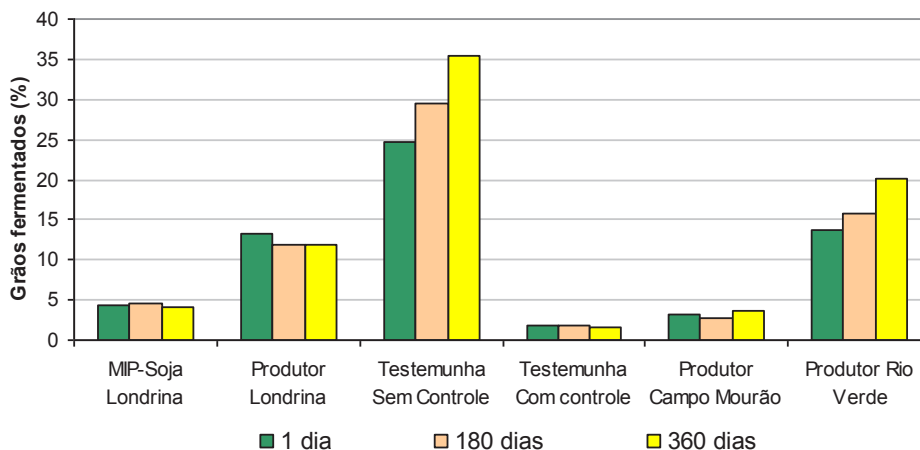


Figura 1. Percentagem de grãos fermentados encontrados na classificação comercial de grãos de soja, durante 360 dias de armazenamento, em função da infestação de percevejos na lavoura na safra 2011/2012. Embrapa Soja, 2013. Londrina, PR

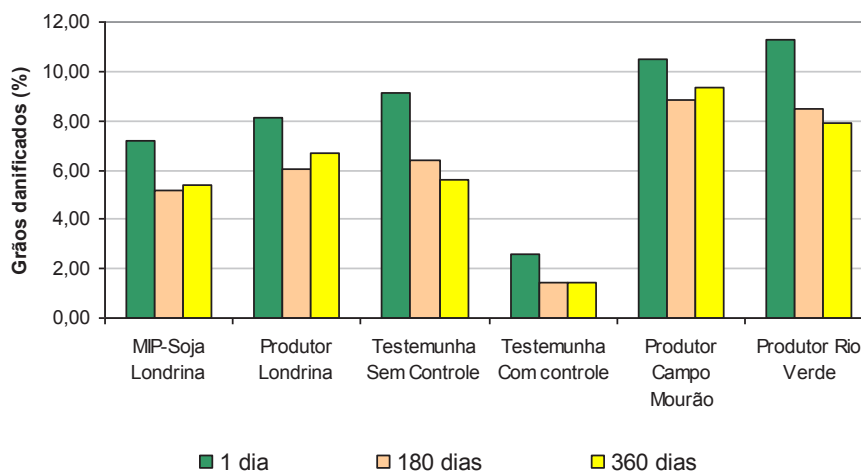


Figura 2. Percentagem de grãos danificados encontrados na classificação comercial de grãos de soja, durante 360 dias de armazenamento, em função da infestação de percevejos na lavoura na safra 2011/2012. Embrapa Soja, 2013. Londrina, PR

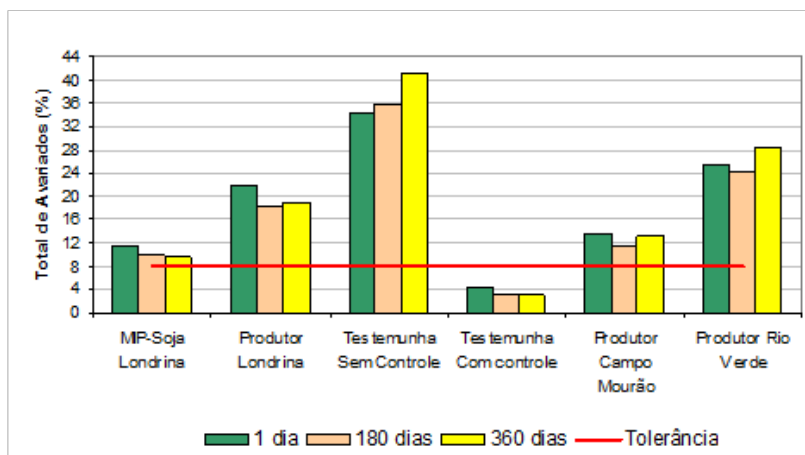


Figura 3. Percentagem de grãos avariados encontrados na classificação comercial de grãos de soja, durante 360 dias de armazenamento, em função da infestação de percevejos na lavoura na safra 2011/2012. Embrapa Soja, 2013. Londrina, PR

Considerações

O trabalho demonstrou que existe uma influência do dano do percevejo da soja ocorrido na lavoura, com o padrão comercial do grão durante um período de armazenamento. Os defeitos no grão determinados pelo padrão comercial da soja são maiores a medida que a infestação de percevejos na lavoura é maior ou onde o manejo integrado de percevejos é deficiente. Por sua vez o trabalho demonstrou que o manejo integrado de percevejos na lavoura de soja é a melhor indicação para se obter a resposta mais adequada em relação ao custo em função do benefício.

Referências

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/soja>> Acesso em 5 mai 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 11, de 15 de maio de 2007. Estabelece o Regulamento Técnico da Soja, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade intrínseca e extrínseca, a amostragem e a marcação ou rotulagem. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 93, p. 13-15, 16 maio 2007a. Seção 1. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/core/consulta.action>> Acesso em: 27 abr. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 37, de 27 de julho de 2007. Altera o inciso IV, do art. 2º, do Capítulo I, do anexo da Instrução Normativa n. 11, de 15 de maio de 2007, que passa a vigorar com alterações, dando-se nova redação às alíneas “b” e “g” e acrescentando-se a alínea “h”. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 145, p. 9, 30 jul. 2007b. Seção 1. Disponível em: <<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/core/consulta.action>> Acesso em: 27 abr. 2013.

CANTERI, M. G.; et al. SASM - Agri : Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scoft - Knott, Tukey e Duncan. **Revista Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p.18-24, 2001.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira - grãos**, safra 2012/2013 sétimo levantamento. Abril/2013. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=2>> Acesso em: 5 mai 2013.

CORRÊA-FERREIRA, B. S.; KRZYZANOWSKI, F. C.; MINAMI, C. A. **Percevejos e a qualidade da semente de soja** - série sementes. Londrina: Embrapa Soja, 2009. 15p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 67).

Determinação de matéria orgânica em amostras de solo - Estudo comparativo de métodos

Bazoni, C.H.V.¹; Kleinert, J.J.²; Germano, M.G.³; Leite, R.S.³; Oliveira Junior, A. de⁴

¹ Universidade Estadual de Londrina, Bolsista Pibic/CNPq/Embrapa Soja.

e-mail: carloshenriquebazoni@gmail.com; ²Técnico B, Embrapa Soja, Londrina, PR; ³Analista, Embrapa Soja, Londrina, PR; ⁴ Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

A matéria orgânica do solo exerce papel de grande importância, tanto do ponto de vista químico, quanto físico ou biológico. A sua origem, a composição química, as alterações, e suas funções, vêm sendo alvo de diversos estudos, devido ao conhecimento de seus teores ser fundamental em diferentes áreas da Ciência do Solo (SOARES et al., 2009), além da grande importância no fornecimento de nutrientes às plantas, retenção de água, de cátions e outros fatores.

A determinação do teor de matéria orgânica do solo baseia-se na oxidação a CO₂ por íons dicromato em meio fortemente ácido. No método originalmente proposto por Walkley e Black (1934), a determinação da quantidade de íons Cr(III) reduzidos é feita pela titulação dos íons dicromato em excesso, com íons Fe³⁺. Alternativamente, pode-se determinar indiretamente a quantidade de íons Cr(III) por colorimetria, medindo a intensidade da cor produzida por esses íons em solução. Trata-se, portanto, de uma modificação do método de Walkley e Black.

O método colorimétrico, amplamente adotado pelos laboratórios de análise de solo no Brasil, requer a montagem de uma curva padrão de calibração. Essa curva é feita com uma série de amostras de solo, sendo que o teor de matéria orgânica das amostras utilizadas para a montagem da curva de calibração é determinado por titulação (método padrão).

Tanto a titulação quanto o método colorimétrico são considerados caros e lentos. Embora o colorimétrico ainda seja muito utilizado em rotina, por ser um método satisfatoriamente preciso, existe a busca por um procedimento que não gere resíduos tóxicos. Uma alternativa em estudo é a Espectroscopia no Infravermelho Próximo (Near Infra-red Spectroscopy - NIRS). A metodologia NIRS é uma técnica moderna que permite a determinação de diversos parâmetros físicos e químicos em diversas matrizes, inclusive solo, a partir de sua reflectância em faixas do espectro com determinados comprimentos de onda (NIRS: 800 - 2500 nm). Esta nova geração de equipamento NIRS, além de realizar análise não destrutiva nas amostras, também não necessita de gases, reagentes e outros insumos fundamentais para a operação dos equipamentos tradicionais (MINASNY et al., 2008). Embora a aplicação desta técnica para estudos de solo esteja em pleno crescimento, existem alguns aspectos metodológicos ainda não analisados de maneira conclusiva. Um desses aspectos reside na etapa de pré-processamento de dados, tais como o uso de derivadas e a correção de dispersão, visando aperfeiçoar características espectrais. Na predição do conteúdo de carbono do solo pelo NIRS, muitos autores utilizaram a primeira derivada do espectro (MORON; COZZOLINO, 2004), enquanto outros preferiram a segunda derivada (FYSTRO, 2002). O uso de derivada é uma correção matemática para melhorar o tratamento de dados.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de uso do NIRS para determinação da matéria orgânica em amostras de solo, em substituição ao método colorimétrico.

Material e Métodos

Para a comparação dos métodos, foram utilizadas 273 amostras de solo coletadas no município de Londrina, PR, que foram moídas até a granulometria inferior a da peneira de 40 mesh (0,420 mm). Para determinação colorimétrica do carbono orgânico do solo, foi utilizado cachimbo de 1,0 cm³ e erlenmeyer de 125 mL. Os reagentes utilizados para oxidação da matéria orgânica foram compostos pelo dicromato de sódio 0,0167 mol L⁻¹ (Na₂Cr₂O₇) e ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄). Para determinação analítica, foi utilizado o Espectrofotômetro de Absorção Molecular Lambda 25 (Perkin Elmer).

Neste procedimento, cachimbou-se 1 cm³ de solo de cada amostra e uma prova em branco completa sem solo. Foi adicionado 10 mL da solução de dicromato de sódio (Na₂Cr₂O₇) e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. Após 2 horas, foi adicionado 50 mL de água sobre cada amostra. Deixou-se descansar por uma noite. No dia seguinte, retirou-se uma alíquota de 10 mL e realizou-se a leitura no espectrofotômetro, no comprimento de onda de 650 nm. A determinação da curva-padrão de calibração foi feita por meio da titulação de 29 amostras de solo, que apresentavam ampla faixa de concentração, bem como a determinação dos respectivos valores em absorvância (pelo método colorimétrico). Ajustou-se, então, o modelo de regressão linear relacionando à absorvância (y) em resposta ao teor de Carbono Orgânico (CO), em g dm⁻³ (x).

A análise por espectroscopia no infravermelho próximo (NIRS) foi realizada no Laboratório de Análises Físico-Químicas e Cromatográficas da Embrapa Soja. Foi medida a reflectância entre 10000 e 4000 cm⁻¹, com resolução de 16 cm⁻¹, utilizando um Espectrômetro FT-NIR Antaris II (Thermo Scientific). Cada espectro, formado a partir da média de 32 leituras ou scans, foi registrado como absorvância (logaritmo do inverso da reflectância), para cada comprimento de onda. Após a obtenção dos espectros crus, realizou-se uma Análise de Componentes Principais (PCA), uma Análise de Regressão de Quadrados Mínimos Parciais (PLS), com o auxílio do programa computacional Unscrambler X.

Foram aplicados três pré-tratamentos diferentes aos dados espectrais para melhorar o agrupamento das amostras: o SNV (Desvio normal padrão), aplicado para diminuir as variações de intensidade de absorção e melhorar as características espectrais; o uso da primeira derivada de Savitzky-Golay aos dados espectrais, recomendada para diminuir a variação da linha de base e melhorar as características espectrais (REEVES et al., 2002); e a MSC (correção múltipla de espalhamento), utilizada para remover a influência de efeitos físicos nos espectros, tais como o tamanho de partícula, a rugosidade e opacidade (SOUZA; POPPI, 2012). Foi aplicado também o teste da incerteza, para verificar quais comprimentos de onda influenciam mais o modelo.

Para identificação de outliers espectrais, foi feita a PCA em todos os espectros crus, permitindo detectar alguns pontos discrepantes que foram eliminados para melhor ajuste do modelo. Já no processo de calibração e validação das amostras, realizou-se a PLS, para correlacionar os comprimentos de ondas obtidos com os valores de referência do carbono. Do conjunto total de amostras, foram utilizadas 218 para a calibração e validação cruzada, e 55 para validação externa. No total foram retirados 15 outliers das amostras de calibração, ficando 203 no conjunto de calibração.

Análise estatística

O teste estatístico utilizado para comparação dos teores de CO foi proposto por Leite e Oliveira (2002). Este procedimento é empregado para comparar duas variáveis dependentes quantitativas, combinando três testes: i) o teste $F(H_0)$ para verificar simultaneamente se os estimadores do modelo de regressão linear b_0 e b_1 são iguais a 0 e 1, respectivamente; ii) o teste t para o erro médio ($t_{\text{erro médio}}$), que avalia se existe algum viés (bias) entre as variáveis e está relacionado à acurácia e/ou precisão do método proposto em relação ao método padrão e; iii) análise do coeficiente de correlação linear (r_{yij}) em comparação ao erro médio [$(r_{yij}) \geq |1 - \text{erro médio}|$]. Com base nessas estatísticas, é proposta uma regra de decisão para o teste de hipótese de identidade entre dois grupos de dados quantitativos. Os métodos são considerados idênticos quando os resultados para os três testes forem:

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

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

Resultados e Discussão

Após a leitura no NIR, observou-se os espectros crus das 273 amostras, ou seja, sem tratamento matemático (Figura 1).

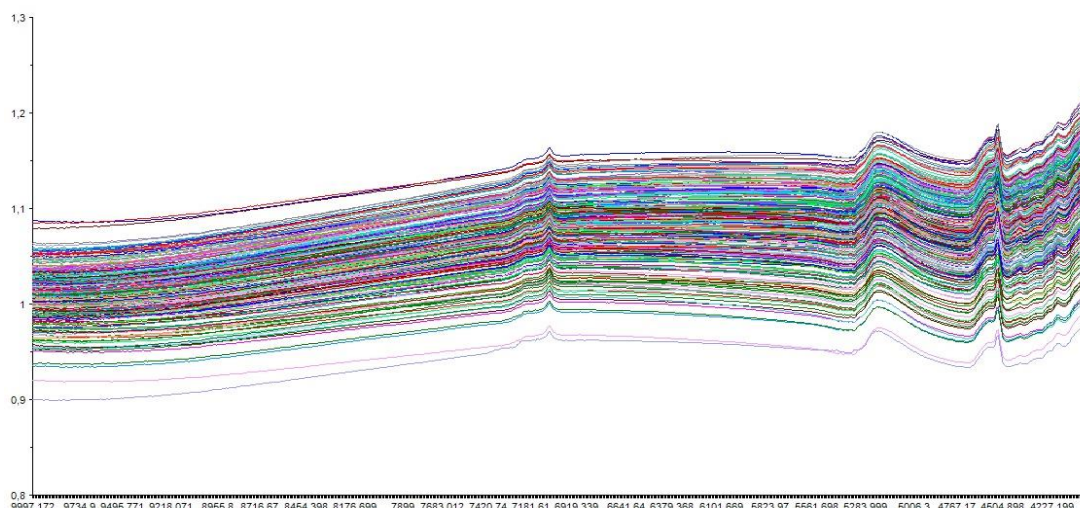


Figura 1. Espectros sem tratamento matemático. Eixo y: valores de absorvância; Eixo x: comprimento de onda.

A utilização do SNV foi descartada, pois não obteve correlação entre o valor de referência e o valor predito. Já a utilização do MSC obteve correlação muito baixa. O tratamento que obteve melhor resultado foi a aplicação da primeira derivada de Savitzky-Golay, como mostra a Figura 2.

Na Figura 2C é possível verificar que a aplicação da primeira derivada apresentou bom resultado. Observa-se que com o fator 1, 45% dos resultados são resolvidos e, até o fator 2, o valor aumentou para 65%. Idealmente, deve-se resolver o maior número de amostras já no primeiro fator. Além disso, também verificou-se que a grande maioria das amostras apresentaram teor de CO entre 10 e 20 g/dm³, como pode ser observado no histograma da Figura 3. É necessário, portanto, alimentar e aprimorar o modelo com amostras que possuam teor de CO menores que 10 e maiores que 20 g/dm³.

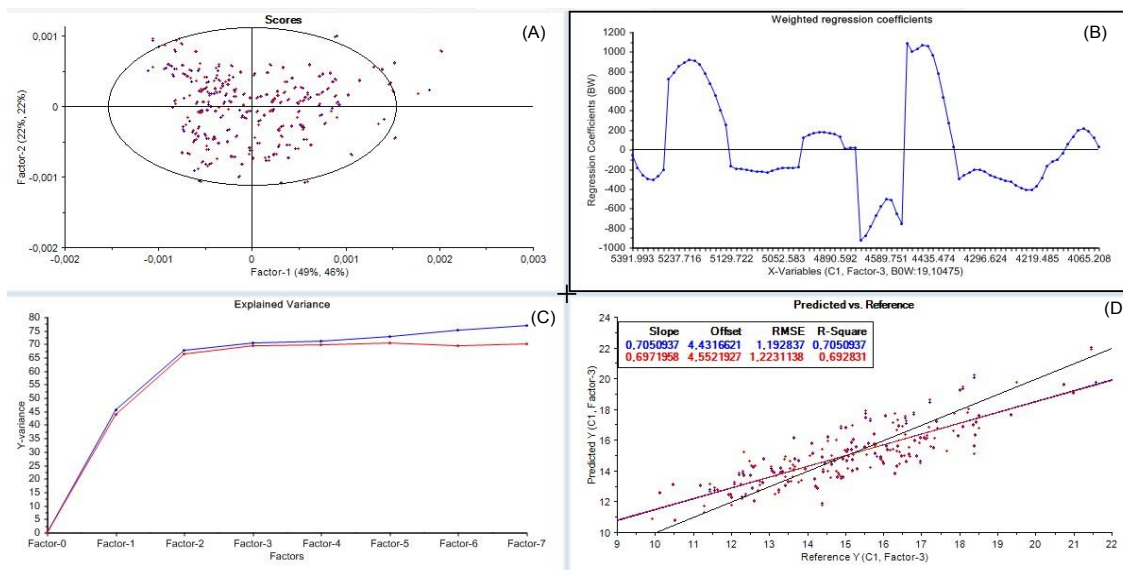


Figura 2. Tratamentos estatísticos aplicados aos espectros. A) Agrupamento das amostras em função dos espectros; B) interferência dos espectros na regressão de coeficientes; C) variação das amostras para cada fator aplicado; D) correlação entre o valor de referência e o predito.

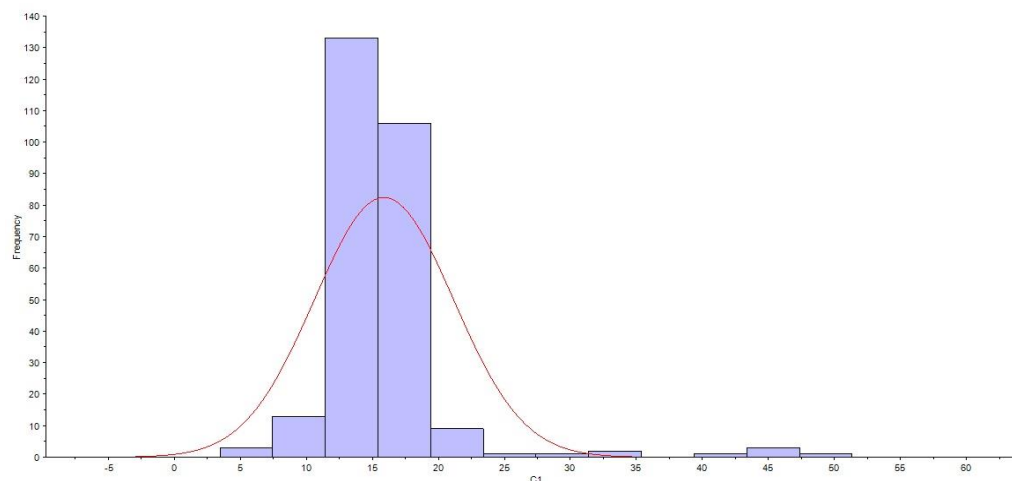


Figura 3. Histograma: concentração de carbono (eixo x) e frequência das amostras (eixo y).

Os dados determinados com a espectroscopia NIR foram comparados com os valores obtidos pelo método colorimétrico (Figura 4). Observa-se, portanto, que existe identidade entre os métodos pelo teste de Leite & Oliveira (2002) o que inicialmente é muito animador tendo em vista o volume de reagentes utilizados com o método de Walkley e Black.

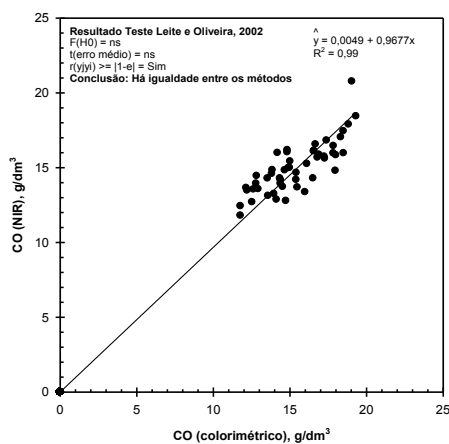


Figura 4. Comparação dos teores de CO determinados por meio dos métodos colorimétrico (eixo x) e NIR (eixo y).

Conclusão

Para o conjunto de amostras avaliadas, há identidade entre o método colorimétrico e o método NIR. Porém, é necessário aumentar o número de amostras, principalmente nas faixas de concentrações extremas, para melhor validação e, conseqüentemente, maior segurança quanto a substituição do método colorimétrico.

Entretanto, muito embora sejam necessários estudos complementares para refinar a técnica do NIR, o fato de haver identidade já na primeira tentativa de comparação das técnicas é um excelente indicativo de que o NIR será uma opção barata e ambientalmente correta para determinação do carbono orgânico em amostras de solo.

Referências

- FYSTRO, G. The prediction of C and N content and their potential mineralisation in heterogeneous soil samples using Vis-NIR spectroscopy and comparative methods. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 246, p. 139-149, 2002.
- LEITE, H.G.; OLIVEIRA, F.H.T. Statistical Procedure to Test the Identity of Analytical Methods. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.33, n.7-8, 2001.
- MISNASNY, B.; MCBRATNEY, A.B.; TRANTER, G.; MURPHY, B.W. Using soil knowledge for evaluation of mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy for predicting soil physical and mechanical properties. **European Journal of Soil Science**, Oxford, v. 59, p. 960-971, 2008.
- MÓRON, A.; COZZOLINO, D. Determination of potentially mineralizable nitrogen and nitrogen in particulate organic matter fractions in soil by visible and near-infrared reflectance spectroscopy. **Canadian Journal of Agricultural Science**, Ottawa, v. 142, p. 335-343, 2004.
- REEVES III, J.B.; MCCARTY, G.W.; MIMMO, T. The potential of diffuse reflectance spectroscopy for the determination of carbon inventories in soils. **Environmental Pollution**, London, v. 116, p. 277-284, 2002.
- SOARES, N.L.; XAVIER, J.R.M.; AMARANTE, C.B. **Influência das variáveis massa e temperatura na determinação da matéria orgânica do solo**. IV Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica; Belém - PA, 2009.
- SOUZA, A.M.; POPPI, R.J.; *Quim. Nova* 2012, 35, 223
- WALKLEY, A.; BLACK, I.A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. **Soil Science**, Baltimore, v.37, p.29-38, 1934.

Uso da krigagem indicatriz na avaliação espacial de percevejos da espécie *Piezodorus guildinii* na Safra 2011/12.

Farias, C.H.¹; Oliveira, M.C.N. de²; Roggia, S.²;

¹Universidade Norte do Paraná (Unopar), ²Embrapa Soja, carlos@cnpso.embrapa.br

Introdução

A cultura da soja apresenta destaque no cenário agrícola nacional onde está sendo cultivada em uma área de 27,7 milhões de hectares e é responsável por mais de 81,94 milhões de toneladas de grãos, o que equivale à aproximadamente 37% do volume total de grãos produzidos no Brasil. O grão é componente essencial na fabricação de rações animais, com uso na alimentação humana, e encontra-se em contínua expansão, pois tanto o mercado doméstico quanto o internacional é francamente comprador. Em função da extensa área cultivada, a cultura está sujeita à infestação de vários insetos-pragas, sendo um dos principais o percevejo *Piezodorus guildinii* (HOFFMANN-CAMPO et al, 2000). A pesquisa deve vir sempre à frente para a solução dos problemas e, por sua vez, deve ser realizada de forma a gerar conclusões confiáveis. Neste sentido é fundamental a obtenção de amostras que representem com confiabilidade o fenômeno estudado, sendo esta, muitas vezes, uma das etapas mais trabalhosas do estudo. Os métodos estatísticos são também fundamentais e auxiliam na tomada de decisões sobre as respostas de pesquisas (BANZATO & KRONKA, 1995). Esses métodos também podem melhorar o processo da amostragem, como os métodos geoestatísticos, os quais permitem simular amostras não realizadas pelo método da *krigagem* indicatriz. A *krigagem* é um dos melhores métodos de interpolação de dados em que os valores intermediários dos dados são preservados, obtendo-se como resultado final uma superfície contínua de dados mais suavizados.

Nesse estudo foi estimado a flutuação populacional de *Piezodorus guildinii* na cultura da soja utilizando o método da *krigagem* indicatriz.

Materiais e Métodos

1-Local experimental e mapa de amostragem

Nesse estudo foram utilizados os dados obtidos no campo experimental da Embrapa Soja no Distrito de Maravilha (Londrina-PR), segundo as coordenadas" 23° 28' 44" S; 50° 59' 03" O, e altitude média de 465 m, com área de aproximadamente 3,38 ha. Em cada ponto amostral foram realizadas quatro amostragens com pano de batida para a coleta de percevejos da espécie *Piezodorus guildinii* e nessa amostragem foram consideradas somente as ninfas grandes. Na área experimental foram amostrados e georreferenciados 338 pontos numa grade de 10 X 10m, utilizando o aparelho GPS de navegação marca Garmin, modelo MAP 62. Abaixo o mapa amostral da área pesquisada na presença de *outliers*. (Figura 1).

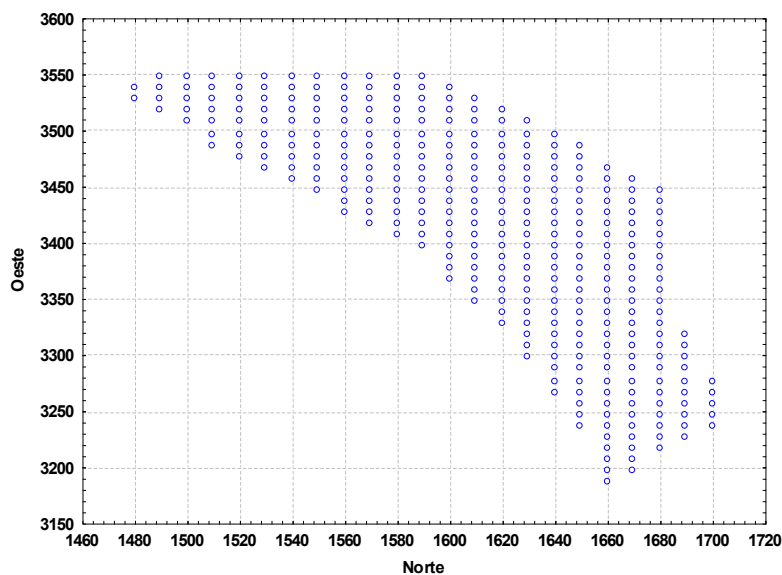


Figura 1. Mapa da área experimental em que foi realizada a coleta de dados na presença de *outliers* em função dos pontos cardeais Norte e Oeste.

2- Métodos Exploratórios

As estatísticas deste diagnóstico foram realizadas pelo programa SAS - Statistical Analysis System (SAS Institute, 2001) tais como: a média, a mediana, os coeficientes de assimetria, de curtose, de variação e o teste de normalidade de Shapiro-Wilk (1965). Os gráficos como: o *boxplot*, o *scatterplot* e a carta de controle pelo software Statística versão 7.1 (2001) para detectar dados discrepantes (*outliers*) que podem invalidar as respostas da pesquisa. No *boxplot* são apresentadas as estatísticas como: a mediana (q2), os quartis inferior e superior (q1, q3) e a diferença entre estes quartis (intervalo interquartil). O ponto central do *boxplot* é a mediana do conjunto de dados. Valores que estão acima e abaixo das linhas do *boxplot* são determinados como *outliers*.

3- Métodos Geoestatísticos

Para a aplicação dos métodos geoestatísticos foi utilizado o Geoest (VIEIRA, S.R., 2002) e o Surfer v.9 para gerar as superfícies obtidas pelo método de *krigagem* indicatriz. Após o diagnóstico exploratório e a retirada dos pontos discrepantes (*outliers*) foi aplicado a *krigagem* indicatriz, calculado os semivariogramas ajustados pelos modelos esférico, exponencial e gaussiano e mapa da *krigagem* da área amostrada. O semivariograma é usado para modelar dois valores correlacionados no espaço ou no tempo e é pré-requisito para a *krigagem*. Essa ferramenta mede a variação ou discrepância entre pares de valores separados por uma distância determinada h , sendo possível observar que essa dependência será tanto maior quanto menor for a distância entre os pontos, e ainda, resume as nuvens de pontos ($z(x)$, $z(x+h)$) pela média do quadrado das diferenças entre $z(x)$ e $z(x+h)$, para vários valores de h . O semivariograma, pode ser definido matematicamente como:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2n(h)} \sum_{i=1}^{n(h)} [Z(x_i) - Z(x_{i+h})]^2$$

em que:

$Z(x_i)$ é o valor observado da variável x no ponto i ;

$Z(x_{i+h})$ é o valor observado da variável x no ponto $i+h$;

$n(h)$ é o número de pares distanciados a uma distância h .

No estudo geoestatístico o número de percevejos da espécie *Piezodorus guildinii* foram avaliados pelos semivariogramas com as estruturas de covariância exponencial (1), esférico (2) e gaussiano (3) e podem ser apresentados abaixo:

$$\gamma(h) = \begin{cases} C(0) + C \left[\frac{3}{2} \frac{h}{a} - \frac{1}{2} \left(\frac{h}{a} \right)^3 \right], & h \leq a \\ C(0) + C, & h > a \end{cases} \quad (1) \quad \gamma(h) = \begin{cases} C(0) + C \left[1 - e^{-\frac{h}{a}} \right], & h \leq a \\ C(0) + C, & h > a \end{cases} \quad (2)$$

$$\gamma(h) = \begin{cases} C(0) + C \left[1 - e^{-\left(\frac{h}{a} \right)^2} \right], & h \leq a \\ C(0) + C, & h > a \end{cases} \quad (3)$$

A *krigagem* indicatriz, técnica de inferência estatística não linear baseia-se na premissa de que a propriedade em estudo é considerada uma variável aleatória em cada posição não amostrada. O método é baseado em uma transformação binária dos dados, sendo cada dado transformado em um indicador antes de ser submetido às análises geoestatísticas e à krigagem. Por convenção, os dados são codificados em 0 ou 1, se estiverem acima ou abaixo de determinado valor de corte, respectivamente, e segundo Cressie (1993) segue a função :

$$\text{Função } (X_i, Y_k) = \begin{cases} 0 & \text{se } Y_k \geq (X_i) \\ 1 & \text{se } Y_k < (X_i) \end{cases}$$

Em que: Y_k são valores do conjunto de dados e X_i é o valor de corte, em que é o valor do número de percevejo.

O valor de corte é arbitrário e depende do objetivo do estudo. O resultado da transformação é um novo conjunto de dados, composto de 0 e 1, o qual é então submetido às análises geoestatísticas, obtendo-se, assim, o semivariograma indicador, que reflete o modelo de continuidade espacial para o valor de corte preestabelecido. Nesse trabalho o ponto de corte será considerado o nível de dano da praga da soja que é igual a dois. Valores iguais ou superiores a dois são codificados com o valor um (1) e abaixo de dois o valor zero (0). Os estimadores geoestatísticos da autocorrelação espacial são usados como ferramentas de continuidade espacial, como o semivariograma. Essa ferramenta é usada para investigar a magnitude da correlação entre as amostras e sua similaridade ou não, com a distância.

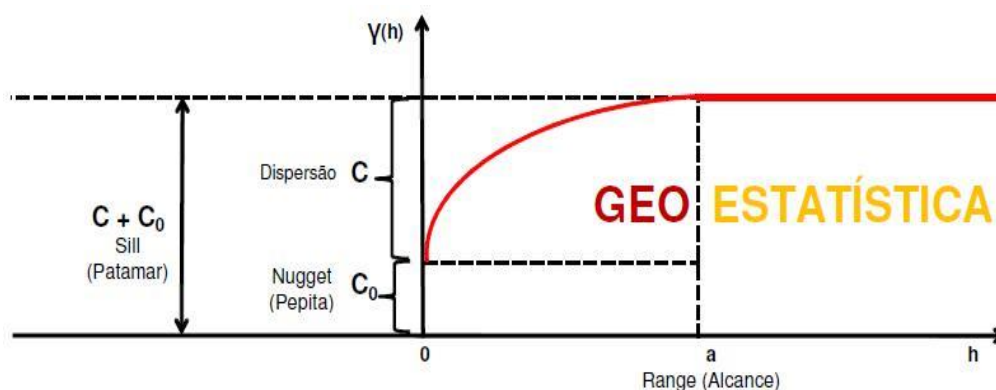


Figura 2. Esquema representando a estrutura de um semivariograma teórico, adaptado de Rosa Neto (2009).

Resultados e Discussão

Na Figura 3 observam-se os locais onde foram retirados os outliers (Figura 3).

Pela Tabela 1 pode-se verificar que inicialmente com 338 observações foram detectados vários valores discrepantes e os resultados para a curtose e assimetria foram (18,07 e 3,65), coeficiente de variação igual a 189,30, antes da transformação dos dados para uma variável categórica. Esses resultados apresentam *outliers* e pode ser verificado pelas Figuras 4 e Figura 5 A,B.

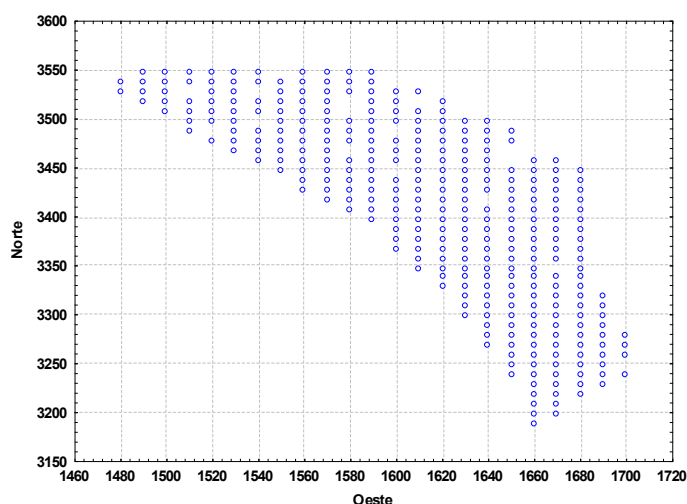


Figura 3. Mapa da área experimental em que foi realizada a coleta de dados na ausência de *outliers* em função dos pontos cardeais Norte e Oeste.

Tabela 1. Estatísticas descritivas para contagem de insetos (*Piezodorus guildinii*) em campos de soja. Safra 2011/2012.

Testes estatísticos ¹	Dados Originais	Sem 19 outliers
Tamanho da Amostra	338	319
g_1 = Coeficiente de Assimetria	3,657	1,586
g_2 = Coeficiente de Curtose	18,07	1,748
Média	1,289	0,836
Mediana	0	0
Moda	0	0
Máximo	20	5
Variância	5,963	1,658
CV= Coeficiente Variação (%)	189,30%	153,88%
Shapiro-Wilk	W =0,5740 Pr < W = 0,00	W=0,694 Pr < W = 0,00

¹ As estatísticas W devem ser não significativas para obtenção da distribuição normal.

O *Boxplot* identificou a presença de *outliers* (Figura 3), cujos valores variaram de seis a vinte percevejos. Após a retirada dos *outliers* foram detectados pelos gráficos do *boxplot* e carta de controle, que os valores dos coeficientes de assimetria e curtose reduziram para 1,586 e 1,748, respectivamente e coeficiente de variação para 153,88 (Tabela 1). Pode-se verificar que mesmo após a retirada de dados discrepantes o conjunto de dados ainda apresenta variabilidade, bastante comum em estudos com população de insetos.

Com a Figura 5A foram detectados os mesmos pontos discrepantes já indicados na Figura 4. Esse gráfico em geral é mais rigoroso que os demais gráficos que detectam *outliers*. Na retirada dos pontos discrepantes foi observado que na carta de controle (Figura 5B), embora ainda apresentem alguns valores distantes da massa de dados, houve maior uniformidade para os demais dados entre os limites superiores e inferiores. Os métodos exploratórios numéricos e gráficos são essenciais antes de qualquer análise conclusiva. Por esse processo que avaliamos se existem valores discrepantes no conjunto de dados, e sua retirada contribui para aumentar a eficácia da análise estatística (Hoaglin et al,1992). Salienta-se que tanto para dados sistematizados (georreferenciados) quanto aos dados casualizados a análise exploratória é uma ferramenta importante na análise de dados.

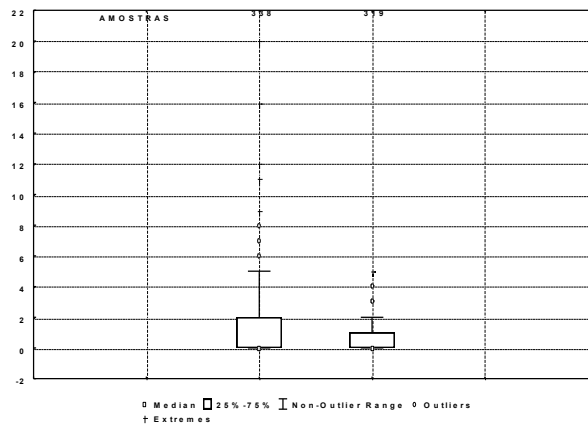


Figura 4. Boxplot antes (338 observações) e após a retirada dos outliers (319 observações) da variável ninfa grande de *Piezodorus guildinii*.

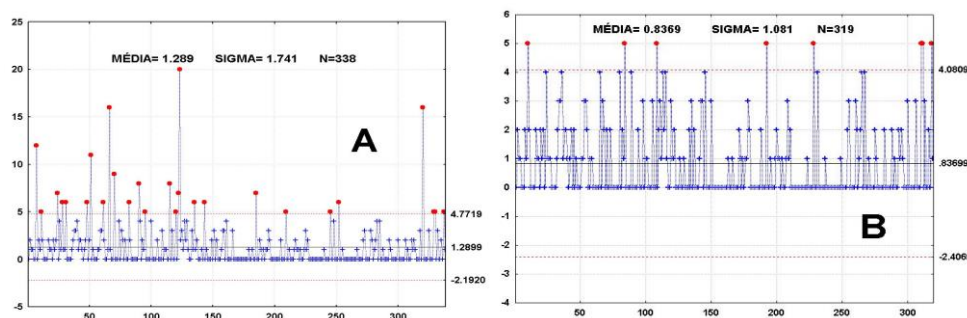


Figura 5. Cartas de Controle para as mesmas situações dos boxplot, com 338 observações (A) e 319 observações (B) após a retirada dos outliers.

Inicialmente, para o estudo geoestatístico é necessário avaliar se os dados apresentam tendência, ou seja, se não indicam patamar bem definido. Em caso afirmativo, após a determinação da semivariância experimental em conjunto com a definição do tamanho do passo a ser dado, os dados foram ajustados por meio da análise de regressão cúbica. Nesse método houve a retirada da tendência tornando-se o modelo mais adequado a esses dados com o passo de 15 metros (Tabela 2). No estudo da dependência espacial pelos modelos exponencial, gaussiano e esférico, foram obtidas as estimativas dos parâmetros e indicado como melhor modelo o gaussiano que se ajustou ao padrão espacial da distribuição de *Piezodorus guildinii*. Com esse modelo foi obtido o menor valor do quadrado médio do erro, maior valor de R^2 e com esse ajuste os primeiros valores foram contemplados pelo modelo gaussiano, pré-requisito ideal para avaliação da dependência espacial (Tabela 3 e Figura 5 B).

Tabela 2. Estimativas dos parâmetros geoestatísticos, coeficiente de determinação e quadrado médio para a variável número de insetos retirando tendência cúbica.

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Teste F
Regressão	9	29,81	3,062	34,33
Desvio	309	27,55	0,0891	
Total	318	57,37		

Coeficiente de Determinação do Ajuste (R^2)= 0,5197 Coeficiente de Correlação (R) = 0,7209

Observou-se nesta tabela que a dependência espacial no modelo gaussiano ocorreu até 125,8049 metros. O modelo Gaussiano apresenta também uma das exigências para que seja considerado como melhor modelo que representa dependência espacial, que o ajuste passe pelos primeiros pontos do semivariograma (Figura 6).

Tabela 3. Estimativas dos Parâmetros geoestatísticos, coeficiente de determinação e quadrado médio para a variável número de insetos da espécie *Piezodorus guildinii*.

Modelos	Efeito Pepita (τ^2)	Patamar (σ^2)	Alcance (ϕ)	R ²	Quadrado Médio do Erro
Exponencial	0,12799	0,20934	193,1995	0,8857	0,001191
Gaussiano	0,16730	0,15769	125,8049	0,9548	0,000667
Esférico	0,11960	0,19122	100,3705	0,8393	0,001556

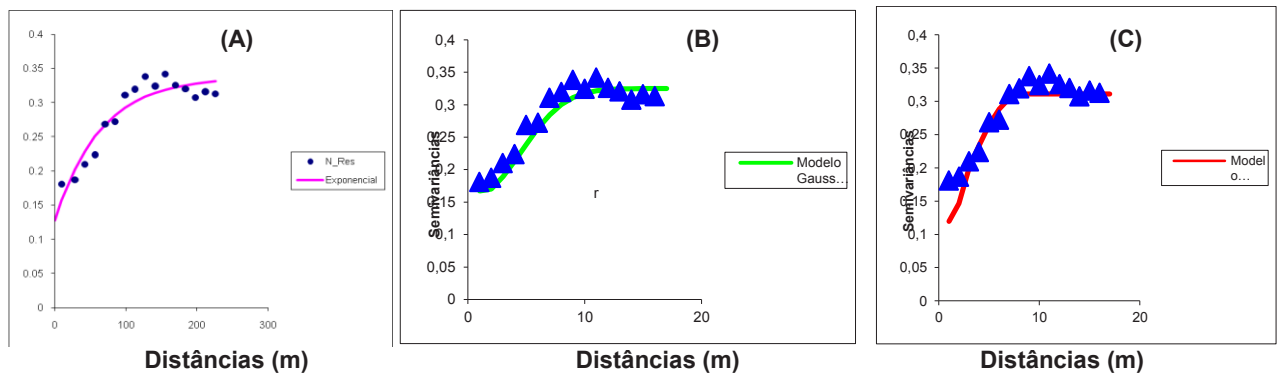


Figura 6. Semivariogramas ajustados aos modelos: Exponencial (A); Gaussiano (B); Esférico (C) utilizando os dados de contagem de *Piezodorus guildinii*.

Com a obtenção do mapa pela *krigagem* indicatriz foram observados que o maior número de percevejos ajustados pelo modelo gaussiano entraram na área experimental pelo lado superior leste. Essas informações são importantes para que o pesquisador escolha estratégias no controle do dano dos percevejos monitorando a entrada dos mesmos na área experimental (Figura 7).

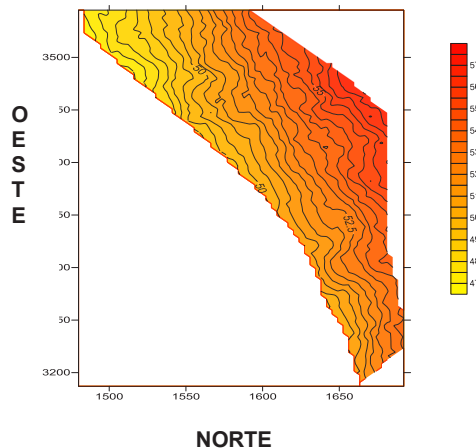


Figura 7. Mapa realizado com a krigagem indicatriz ajustado pelo modelo gaussiano aos dados de contagem de *Piezodorus guildinii*.

Conclusões

- o método exploratório é eficiente para detectar valores discrepantes;
- os dados de contagem de percevejos da espécie *Piezodorus guildinii* apresentam dependência espacial;
- por meio de mapa obtido pela *krigagem* indicatriz é possível detectar a entrada de percevejos na área experimental e,
- com a aplicação dos métodos geoestatísticos é possível reduzir o número de amostras em áreas georreferenciadas na pesquisa com insetos-pragas.

Referências

- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. de. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja. 2000. 70p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 30).
- BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. **Experimentação agrícola**. 4. ed. Jaboticabal: Funep,2006. 237 p.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: user's Guide**. Version 9.2. Cary: SAS Institute, 2009. 7869p.
- SHAPIRO, S.S. & WILK, M.B. "**An analysis of variance test for normality**".Biometrika 52:591-611. 1965.
- STATSOFT, Inc. **STATISTICA for windows** (Computer program manual).Tulsa, Oklahoma, USA, 2001.
- SURFER. **Surfer version 9.9.785 – mar 26.2010, surface mapping system**. www.Goldensoftware.com.
- VIEIRA, S. R. **Curso de Geoestatística**. Curso ministrado na Embrapa Soja, Dezembro, 2010.
- CRESSIE, N. A. C. **Statistics for spatial data**. New York: John Wiley, 1993. 900p.
- HOAGLIN, D. C.; MOSTELLER, F.; TUKEY, J.W. **Análise exploratória de dados: técnicas robustas - um guia**. Edições Salamandra: Lisboa, 1992. 446 p

Métodos Exploratórios na Avaliação da Distribuição Espacial de Percevejos da Soja

Farias, C.H.¹; Oliveira, M.C.N. de²; Roggia, S².

¹Universidade Norte do Paraná (Unopar), ²Embrapa Soja | carlos@cnpso.embrapa.br

Introdução

A grande demanda por alimentos para a população mundial estimulam a realização de estudos que intensificam o controle das pragas para aumento da produtividade sem aumentar a área plantada, como o caso da soja. As diferentes espécies de percevejos são pragas que vêm sendo estudadas e várias são as técnicas agronômicas e estatísticas para melhor avaliar e interpretar estas pesquisas de controle com acurácia. A eficiência destas pesquisas também está diretamente relacionada com os procedimentos anteriores a instalação do experimento como o uso do planejamento experimental adequado. O planejamento do experimento é de extrema importância para se obter conclusões de forma adequada evitando erros que podem ocorrer na obtenção dos dados, na digitação dos mesmos, obtenção de dados na leitura de equipamentos, entre outras situações. Muitos problemas são amenizados se esta prática for assessorada por profissionais da área de estatística, pois a falha na seleção de variáveis, na determinação do número de repetições e ou delineamento podem comprometer a verificação das hipóteses formuladas, para a obtenção das respostas aos questionamentos elaborados (BANZATTO & KRONKA, 1989). Além destes erros sistemáticos, os experimentos estão sempre sujeitos a erros ou variações, que são devidos a fatores não controlados como, pequenas variações no ambiente ou no material (ZIMMERMAN, 2004). A análise exploratória de dados nos fornece um extenso repertório de métodos para um estudo detalhado dos dados. Nessa abordagem, a finalidade é obter dos dados a maior quantidade possível de informação, que indique modelos plausíveis de serem utilizados numa fase posterior à análise conclusiva dos dados da pesquisa. O objetivo desse trabalho é informar a importância da análise exploratória na pesquisa agrícola e quais métodos selecionar para melhor interpretação dos dados.

Materiais e Métodos

Os dados utilizados nesse estudo foram conduzidos no campo experimental da Embrapa Soja no Distrito de Maravilha (Londrina-PR). Localizam-se segundo as coordenadas 23° 28' 44" S; 50° 59' 03" O, e altitude média de 465 m, uma área de aproximadamente 3,38 ha para contagem de insetos da espécie *Piezodorus guildinii* (Figura 1).

Foram utilizadas as estatísticas como a média, a moda, a mediana, os coeficientes de assimetria e curtose, os gráficos como o boxplot, os histogramas de frequência, a superfície de resposta, a carta de controle e os testes de normalidade. Foi utilizado o boxplot e a carta de controle para detectar pontos discrepantes. Esses pontos foram encontrados considerando a mediana (q2),

o quartil inferior (q_1), o quartil superior (q_3) e o intervalo interquartil ($IQR = q_3 - q_1$). A linha central da caixa marca a mediana do conjunto de dados. A parte inferior da caixa é delimitada pelo quartil inferior (q_1) e a parte superior pelo quartil superior (q_3). As hastes inferiores e superiores se estendem, respectivamente, do quartil inferior até o menor valor não inferior a $q_1 - 1,5IQR$ e do quartil superior até o maior valor não superior a $q_3 + 1,5IQR$. Os valores inferiores a $q_1 - 1,5IQR$ e superiores a $q_3 + 1,5IQR$ são representados individualmente no gráfico sendo estes valores caracterizados como outliers. As quantidades $q_1 - 1,5IQR$ e $q_3 + 1,5IQR$ delimitam, respectivamente, os limites inferior e superior e se ocorrem além destes, são outliers. A carta de controle é uma ferramenta usada na indústria para avaliar se existem peças que estão fora do padrão recomendado e é possível detectar se existem pontos amostrais além das linhas inferior e superior aos três desvios padrões considerados neste trabalho. Esse critério é eficiente para o estudo da estabilidade estatística de um processo, a partir da observação de sequências aleatórias de amostras, coletadas a intervalos regulares (RAMOS, 1995). Foram utilizados três testes de normalidade para avaliar a distribuição da população de percevejos da espécie *Piezodorus guildinii*: o teste de Shapiro & Wilk (1965) deve ser aplicado para tamanho de amostras menor ou igual a 2000. Sua estatística W está no intervalo $0 < W < 1$, no caso em que W é igual a 1, afirma-se que os dados provêm de uma distribuição normal e, para pequenos valores de W indicam ausência de normalidade. O teste de Kolmogorov-Smirnov baseia-se na máxima diferença entre a distribuição acumulada da amostra e distribuição acumulada esperada. Se o valor calculado de D é estatisticamente significativo para ($p \leq 0,05$) rejeita-se a hipótese que a distribuição estudada é normal. Não existe restrição para pequenas amostras e é mais rigoroso que o teste de χ^2 . É um teste que pode ser aplicado aos dados individualmente ou quando as observações estão estruturadas numa distribuição de frequência. O teste de Cramer-von Mises é uma alternativa do teste de Kolmogorov-Smirnov (Campos, 1979). Foi também avaliada a distribuição espacial dos insetos nas diferentes direções, pelo gráfico de superfície, a distribuição espacial dos percevejos.

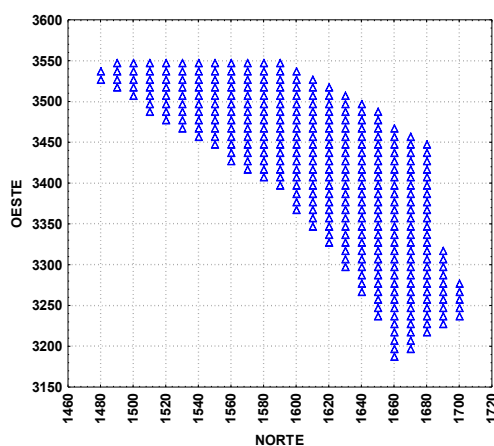


Figura 1. Mapa de amostragem em grid regular para avaliação da distribuição espacial de percevejos na lavoura de soja, na Fazenda Maravilha, Embrapa Soja, safra 2011/2012.

Resultados e Discussão

Pode-se verificar que inicialmente com 338 observações, na presença de vários valores discrepantes, os resultados para os coeficientes de assimetria, de curtose e de variação foram 3,65; 18,07 e 189,30 respectivamente, indicando ausência de normalidade, devido aos dois primeiros coeficientes afastar-se de zero. As medidas de assimetria permitem analisar uma distribuição conforme as relações entre suas medidas de moda, média e mediana, quando observadas graficamente. Considera-se neste caso dos percevejos é uma distribuição assimétrica, pois os valores para a moda, a média e a mediana são diferentes. Os teste de Shapiro & Wilk (1965), Kolmogorov-Smirnov (Campos, 1979) e Cramer von Mises (Campos,

1979) foram unânimes em rejeitar a hipótese de normalidade dos dados (Tabela 1). Além das estatísticas descritivas os métodos gráficos também foram usados para apresentar as respostas do levantamento populacional dos percevejos. O *boxplot* permitiu avaliar a simetria dos dados, sua dispersão e a existência de *outliers* (dados discrepantes). Na retirada dos *outliers* conforme indicado na metodologia houve uma expressiva redução de todas as estatísticas.

Tabela 1. Resultados das estatísticas descritivas para o número de ninfas grandes da espécie *Piezodorus guildinii*, amostradas com georreferenciamento no campo experimental da Fazenda Maravilha, da Embrapa Soja.

Estatísticas	Com outliers	Sem outliers
Nº Amostras	338	319
Média	1,28	0,83
Mediana	0	0
Moda	0	0
Mínimo	0	0
Máximo	20	5
Variância	5,96	1,65
Coeficiente de assimetria	3,65	1,58
Coeficiente de curtose	18,07	1,74
Coeficiente de variação (%)	189,30	153,88
Desvio padrão	2,44	1,28
Shapiro & Wilk	W= 0,574 Pr(W) =0,0001	W=0,694 Pr(W)=0,0001
Kolmogorov-Smirnov	D= 0,298 Pr > D <0,010	D= 0,347 Pr > D <0,010
Cramer-von Mises	W-Sq= 8,48 Pr> W-Sq < 0,005	W-Sq= 7,40 Pr> W-Sq < 0,005

Ainda nesta tabela, após a retirada de vários *outliers* os coeficientes de assimetria e curtose estão distantes de zero. Cabe aqui o bom senso do pesquisador da necessidade ou não da retirada de mais valores. Os três testes aplicados para avaliar a distribuição dos dados rejeitaram a hipótese de que a população de percevejos são provenientes de distribuição normal e este fato interfere nas inferências obtidas para o modelo georreferenciado a ser aplicado à posteriori (Tabela 1). O *boxplot* permitiu avaliar a simetria dos dados, sua dispersão e a existência de *outliers* (dados discrepantes). Na retirada dos *outliers* conforme indicado na metodologia houve uma expressiva redução de todas as estatísticas calculadas. O *boxplot* identificou a presença de *outliers*, cujos valores variaram de seis a 20 percevejos. Pode-se verificar que o conjunto de dados ainda apresenta variabilidade, bastante comum em estudos com população de insetos (Figura2 A,B).

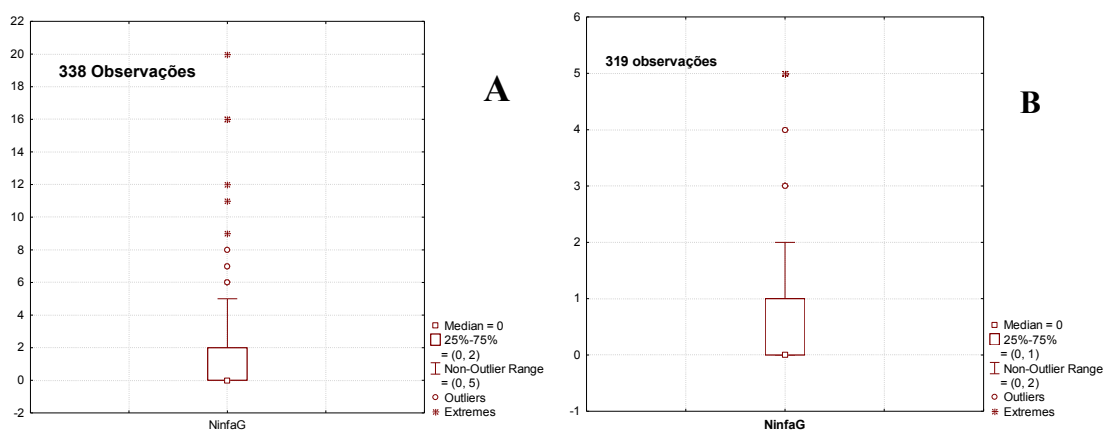


Figura 2. *Boxplot* (A) indicando os dados discrepantes com 338 observações e com um ponto discrepante com 319 amostras (B).

Outra opção de apresentar os dados é por meio dos gráficos de superfície, da probabilidade normal, do histograma de frequência, que indicaram a ocorrência dos percevejos em três dimensões com 338 pontos amostrais, o tipo da distribuição que seguem os mesmos dados e a dispersão de acordo com as coordenadas cardinais (Figs. 3A, 3B, 3C, 3D, 3E e 3F).

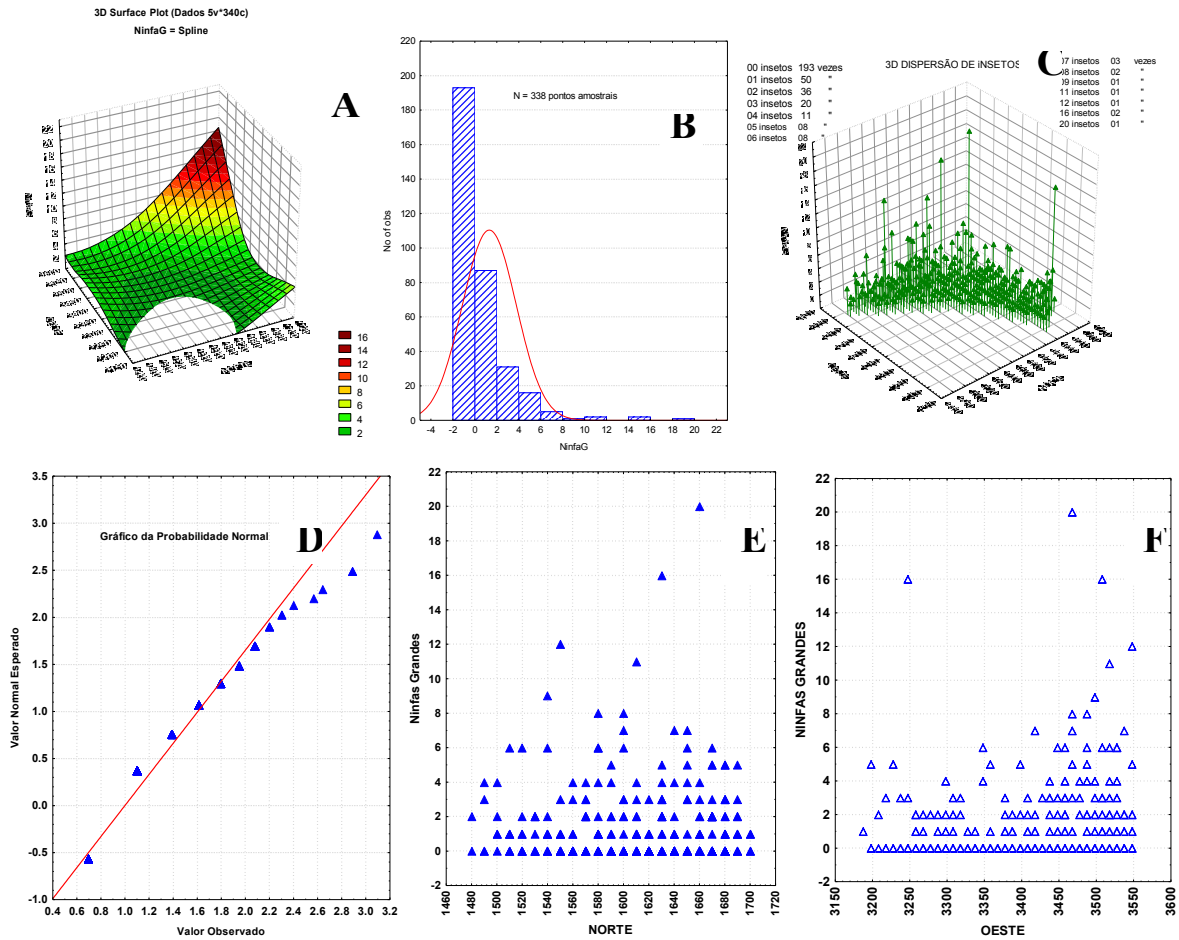


Figura 3. Dispersão de insetos tridimensional com 338 pontos (A, C) e distribuição de frequência dos percevejos (B), probabilidade normal (D), dispersão dos percevejos no lado Norte (E) e dispersão dos percevejos no lado Oeste da área experimental (F)

A carta de controle (Figura 4 A) detectou os mesmos pontos discrepantes já indicados na Figura 2 A. Esse gráfico em geral é mais rigoroso que os demais gráficos que detectam *outliers*. Na retirada dos pontos discrepantes foi observado que na carta de controle (Figura 4B), embora ainda apresentem alguns valores distantes da massa de dados, houve maior uniformidade para os demais dados entre os limites superiores e inferiores. Os métodos exploratórios numéricos e gráficos são essenciais antes de qualquer análise conclusiva. É por meio deste processo que avaliamos se existem valores discrepantes no conjunto de dados, e segundo Hoaglin et al (1922) contribui para aumentar a eficácia da análise estatística. Salienta-se que tanto para dados sistematizados (georreferenciados) quanto aos dados aleatorizados a análise exploratória é uma ferramenta importante na análise de dados.

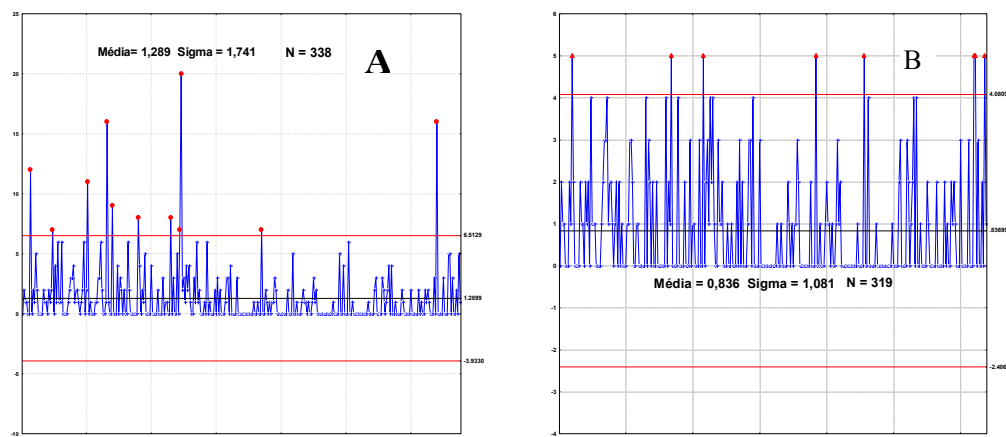


Figura 4. Cartas de Controle para as mesmas situações dos boxplot, com 338 observações (A) e 319 observações (B) após a retiradas dos outliers.

Conclusão

Pode-se concluir que:

- com o diagnóstico exploratório detectam-se pontos discrepantes nos dados com dependência espacial;
- os métodos gráficos são importantes na avaliação de resultados de pesquisas;
- a carta de controle de qualidade é mais rigorosa que o boxplot para detectar outliers;
- com a retirada dos valores discrepantes os resultados da análise estatística têm maior precisão e, a análise exploratória permite obter respostas com confiabilidade e eficácia.
- o diagnóstico exploratório é de grande importância para detectar pontos discrepantes que podem invalidar respostas de pesquisas.

Referências

BANZATO, D. A.; KRONKA, S. N. Experimentação agrícola. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2006. 237 p.

ZIMMERMAN, F. J. P. Estatística aplicada à pesquisa agrícola. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 402p.

HOAGLIN, D. C.; MOSTELLER, F.; TUKEY, J. W. Análise exploratória de dados. Técnicas Robustas. Edições Salamandra. Lisboa. 446 p.

VIEIRA, S.; WADA, R. Estatística: Introdução ilustrada. São Paulo: Atlas, 1986.

RAMOS, A. W. Controle estatístico de processo para pequenos lotes. São Paulo: Edgard Blucher, 1995. 151p.

Interferências metodológicas nos valores de NDVI: Posicionamento do sensor e área amostral

Crusiol, L. G. T.¹; Neiverth, W.²; Rio, A.³; Sibaldelli, R. N. R.⁴; Ferreira, L. C.⁵; Carvalho, J. F. C.⁶; Nepomuceno, A. L.⁷; Neumaier, N.⁷; Farias, J. R. B.⁷

¹Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ²Bolsista CNPq/DTI, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ³Mestrando USP/ESALQ, Embrapa soja, Londrina, Paraná. ⁴Mestrando, UTFPR, Londrina, Paraná. ⁵Pós doutorando/CNPq, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁶Pós doutoranda/CAPEs, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁷Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná.

e-mail: luis.crusiol@cnpso.embrapa.br

Introdução

A soja é fator fundamental da dinâmica econômica brasileira, representando 45%, do total de 82,06 milhões de toneladas de grãos produzidos na safra 2012/2013 (CONAB, 2013). Devido a sua importância, justifica-se o uso de tecnologias que possibilitem um melhor gerenciamento da lavoura da oleaginosa. Neste sentido, o sensoriamento remoto traz grandes contribuições.

O sensoriamento remoto baseia-se no princípio de aquisição de informações sobre um determinado objeto sem a necessidade de contato direto com ele, interpretando-se, para tanto, a interação da radiação eletromagnética com o objeto em questão. Assim, há a otimização das coletas de dados, uma vez que o tempo de levantamento de informações é reduzido, além do fato de que os métodos de coleta não necessitam de destruição das amostras de plantas.

Uma das principais informações providas pelo sensoriamento remoto são os índices de vegetação, sendo o Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI), proposto por Rouse et al. (1973) um dos mais utilizados.

A aquisição de produtos do sensoriamento remoto ocorre em diferentes níveis: Orbital, suborbital e terrestre. Em nível orbital, por meio de satélites, as informações obtidas estão sujeitas à grande interferência atmosférica e têm melhor utilidade para o monitoramento de grandes áreas. Contudo, o sensoriamento remoto em nível terrestre permite reduzir as interferências atmosféricas nos resultados, além de permitir estudos de objetos de menor extensão territorial (Moraes, 2002).

Deste modo, sensores remotos portáteis, passíveis de serem utilizados em laboratório ou em condições de campo, têm sido utilizados com maior frequência, sobretudo na pesquisa agrícola. Isso porque as áreas de estudo são, muitas vezes, de tamanho reduzido e há necessidade de grande tomada de informações ao longo do ciclo de desenvolvimento de uma cultura, podendo-se obter informações sem a dependência de um sensor orbital.

Em pesquisas com soja, uma dificuldade existente na coleta de dados está no caminhamento no interior das parcelas experimentais com as plantas em estádios fenológicos mais tardios. Assim, em algumas coletas pode-se causar danos mecânicos às plantas, comprometendo e mascarando os resultados da pesquisa, além de dificultar a operação do sensor.

Embora exista ampla utilização de sensores remotos em nível terrestre e das dificuldades encontradas na coleta de dados, há uma escassez de metodologias específicas quanto à utilização de tais sensores em determinadas condições, levando-se em conta a altura de

posicionamento do sensor bem como a determinação da dimensão da área amostral. Deste modo, os dados obtidos estão sujeitos a uma interpretação errônea, comprometendo os resultados finais.

O horário de mensuração de NDVI interfere de forma decisiva nos resultados obtidos. Crusiol et al. (2012) constataram que em um mesmo dia a variação do referido índice pode chegar a 25%. Trabalhando com feijão, Ferraz et al. (2007) mostraram que o ângulo de visada do sensor em relação ao dossel, sobretudo nos estádios fenológicos iniciais da cultura, interfere nos valores de NDVI obtidos.

Assim, o presente trabalho teve por objetivo estabelecer uma metodologia específica quanto ao posicionamento do sensor e a determinação da dimensão da área amostral para obtenção de leituras de NDVI.

Material e métodos

A coleta de dados foi realizada em dois diferentes experimentos da Embrapa Soja, no município de Londrina – PR, na safra 2012/2013, cultivados com soja.

As leituras de NDVI foram realizadas com o equipamento *GreenSeeker*® 505 Handheld Sensor, fabricado pela *Ntech Industries, Inc*, sensor ativo, que calcula o NDVI a partir da equação $NDVI = (\rho_{ivp} - \rho_v) / (\rho_{ivp} + \rho_v)$, onde ρ_{ivp} é a reflectância no infravermelho próximo (0,725-1,1 μm) e v é a reflectância no vermelho (0,58-0,68 μm).

Estabeleceu-se o horário de coleta às 09 horas, buscando-se eliminar a interferência das variações diárias de NDVI (Crusiol et al., 2012).

As leituras de NDVI em diferentes alturas foram realizadas no experimento “A”, enquanto as leituras relacionadas à dimensão da área de amostragem foram realizadas no experimento “B”. As condições de cultivo e manejo seguiram as recomendações técnicas da Embrapa Soja (Embrapa, 2010).

Em relação à dimensão da área de amostragem, realizou-se a coleta de dados variando o comprimento da caminhada com o equipamento, isto é, a leitura foi realizada pelo equipamento enquanto se caminhava entre as linhas das parcelas de soja. Assim, a variação de área de amostragem se deu com a variação do comprimento da caminhada.

Em cada um dos experimentos realizaram-se leituras em sete parcelas aleatórias, evitando-se comparações entre tratamentos e materiais, buscando-se evidenciar a interferência da altura do sensor e do tamanho da amostra dentro de uma mesma parcela.

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) através do programa computacional Sisvar®, versão 5.3.

Resultados e discussão

Os valores de NDVI medidos com o sensor posicionado em diferentes alturas em relação ao topo do dossel encontram-se apresentados na Figura 1.

Os valores de NDVI obtidos permitiram verificar que há grande variação numérica dos resultados de acordo com a altura do posicionamento do sensor em relação ao topo do dossel.

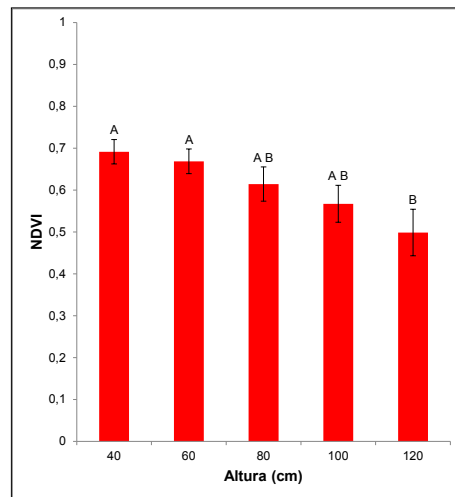


Figura 1. Gráfico de valores de NDVI medidos com o sensor posicionado em diferentes alturas (cm) em relação ao topo do dossel.

Todas as parcelas, com exceção da parcela A aos 80 cm, apresentaram declínio do NDVI conforme o aumento da altura (Figura 2).

Com os resultados dos testes estatísticos observou-se que no grupo de altura 40, 60, 80 e 100 cm não há diferença significativa, bem como no grupo de alturas 80, 100 e 120 cm (Figura 1). Somente a altura 120 cm difere da faixa de altura 40 e 60 cm. Entretanto, mesmo com ausência de resposta estatística dos dados, ressalta-se a grande diferença numérica nos valores de NDVI obtidos (Figura 2).

Um comportamento numérico geral dos dados foi observado quanto ao aumento da altura do posicionamento do sensor e os valores de NDVI (Figura 2), de modo que quanto maior a distância entre o sensor e as plantas, menor foi o NDVI obtido. Conforme observado na Figura 2, a variação numérica dos valores foi bastante pronunciada na parcela F, onde o NDVI medido a 40 cm do topo do dossel, 0,653, foi aproximadamente 80% superior ao medido a 120 cm, 0,363.

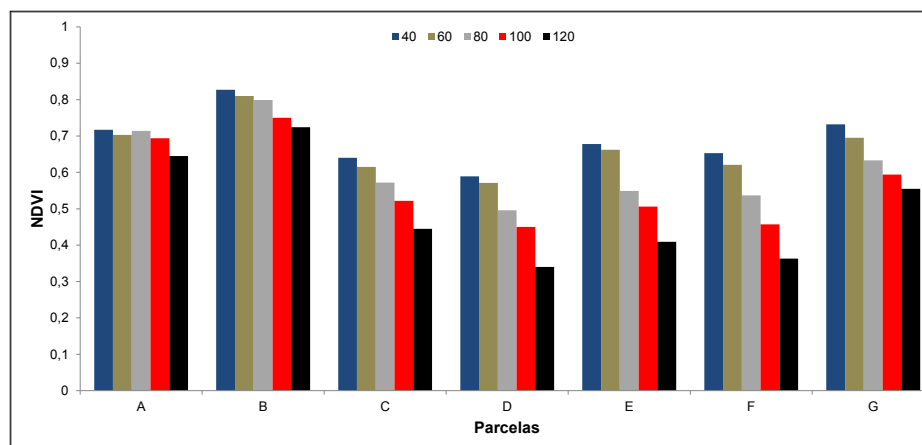


Figura 2. Gráfico de valores de NDVI medidos em diferentes alturas (cm) nas sete parcelas do experimento "A".

Visto a grande variabilidade dos dados frente à forma de coleta de NDVI, é válido analisar tal variação dentro da faixa de altura recomendada pelo fabricante, seguida por grande parte dos operadores do equipamento utilizado neste experimento, bem como de equipamentos similares. O fabricante recomenda que as leituras sejam realizadas entre 80 e 120 cm do topo do dossel. Nessa faixa de altura não houve diferença significativa entre os valores de NDVI. Entretanto, para todas as parcelas analisadas no presente estudo, houve expressiva diferença numérica dos valores obtidos, sendo a variação nos valores de NDVI superior a 10% na faixa de

altura recomendada pelo fabricante. Neste sentido as leituras realizadas a 80 cm apresentaram valores sempre numericamente superiores às realizadas a 120 cm.

Sendo assim, tais variações numéricas podem comprometer os resultados finais, uma vez que podem esconder o real padrão de absorção e reflexão da radiação por parte da planta. A interferência nos resultados pode ser ainda maior se as leituras de um mesmo experimento forem realizadas a diferentes alturas na mesma ocasião ou ao longo do ciclo de desenvolvimento da cultura.

Os valores de NDVI medidos em diferentes áreas amostrais estão dispostos na Figura 3, e o detalhamento das barras de erro padrão na Figura 4. Estas áreas representam a caminhada por uma entrelinha de soja por toda a parcela, caminhada em uma das extremidades da parcela e na outra extremidade. Observou-se a partir dos dados obtidos e dos testes estatísticos realizados que há pequena variação numérica nos valores de NDVI medidos em áreas amostrais diferentes, sendo os resultados estatisticamente semelhantes. O *GreenSeeker*® 505 Handheld Sensor, assim como outros sensores similares, faz leituras em forma de varredura, sendo que para o referido equipamento são realizadas 10 leituras de NDVI por segundo. Assim, ao longo de uma caminhada durante a coleta dos dados, são realizadas dezenas de leituras de NDVI, calculando-se ao final sua média, que expressa a condição da referida área.

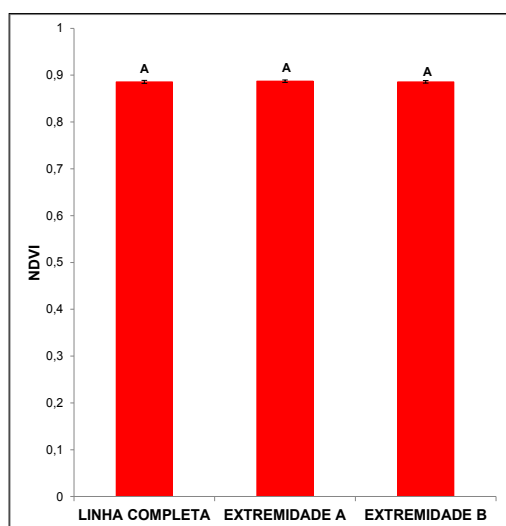


Figura 3. Gráfico de valores de NDVI medidos em diferentes áreas amostrais.

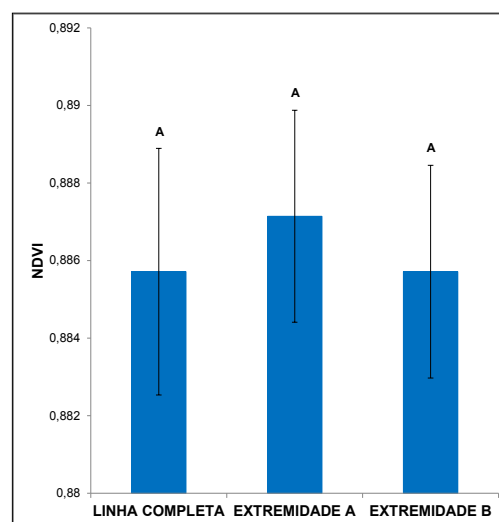


Figura 4. Detalhe da Figura 3 de valores de NDVI medidos em diferentes áreas amostrais.

Observou-se pequena diferença nos valores de NDVI. Tais variações de NDVI de acordo com o local amostral eram esperadas, uma vez que, mesmo em condições experimentais controladas, raramente se obtém uma parcela homogênea, devido a diversos fatores.

Se no início do ciclo de desenvolvimento de uma cultura as leituras forem realizadas ao longo da linha completa e no restante do ciclo somente em uma das extremidades, não haverá interferência nos resultados finais. Isso porque, como já destacado, os valores de NDVI obtidos nas extremidades são muito próximos aos da linha completa, não comprometendo os resultados. Em áreas onde há controle das condições experimentais, a mensuração de NDVI em uma das extremidades da parcela evita danos mecânicos às plantas, pois o operador do sensor não tem a necessidade de caminhar ao longo da parcela. Contudo, se numa mesma data, em determinadas parcelas as leituras forem realizadas ao longo da linha completa e em outras as leituras forem realizadas somente em uma das extremidades, poderá haver diferenças nos resultados.

É de extrema importância que a distância de caminamento em uma das extremidades seja constante para todas as leituras. Sendo assim, é necessário que em um determinado experimento as leituras de NDVI sigam sempre uma mesma metodologia de maneira adequada.

Conclusões

É necessário o estabelecimento de uma altura fixa do posicionamento do sensor em relação ao topo do dossel ao longo de todo o ciclo da cultura, evitando-se distorções numéricas nos resultados e possibilitando-se, assim, leituras de NDVI fidedignas e comparáveis.

Leituras de NDVI realizadas com o sensor posicionado em diferentes alturas do topo do dossel apresentam resultados numéricos com alta variação, mesmo sendo considerados estatisticamente semelhantes.

A leitura de NDVI realizada sempre em uma das extremidades da parcela amostral permite a obtenção de dados verdadeiros, evitando-se danos mecânicos às plantas e possibilitando a otimização das coletas.

As leituras de NDVI podem ser realizadas ao longo da linha completa de uma parcela amostral em estádios iniciais do desenvolvimento das plantas e em uma das extremidades em estádios avançados de desenvolvimento, sem interferência nos resultados finais, desde que o padrão de leitura seja o mesmo para a data de coleta e em todas as parcelas amostrais.

Referências

- FERRAZ, P.; ANGULO FILHO, R.; PIEDADE, S. M. S.; MONTEIRO, R. O. C. Influência do ângulo de visada na resposta espectral da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 13. (SBSR), 2007, Florianópolis. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 2007. p. 6335-6342. CD-ROM, On-line. ISBN 978-85-17-00031-7. Disponível em: <<http://urlib.net/dpi.inpe.br/sbsr@80/2006/11.06.13.21>>. Acesso em: 10 abr. 2013.
- CRUSIOL, L. G. T.; CARVALHO, J. F. C.; SIBALDELLI, R. N. R.; PROCÓPIO, S. O.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; FARIAS, J. R. B. Influência do horário das medições nos valores de NDVI. In: VI Congresso Brasileiro de soja. Cuiabá, 2012. **Resumos...** Brasília: Embrapa, 2012. Artigos, p. 82. ISBN 978-85-7035-056-5. Disponível em <http://www.cbsoja.com.br/anais/trabalhos/127_s323.pdf>
- CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sexto levantamento, março 2013**/ Companhia Nacional de Abastecimento – Brasília: Conab, 2013. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 18 Mar. 2013.
- MORAES, E. C. de. **Fundamentos de sensoriamento remoto**. Capítulo 1. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. São José dos Campos, 2002.
- ROUSE, J. W.; HAAS, R. H.; SCHELL, J. A.; DEERING, D. W. Monitoring vegetation systems in the great plains with erts. In: EarthResourcesTechnologySatellite-1 Symposium, 3, 1973, Washington, D. C. **Proceedings...** Washington, D. C.: NASA. Goddard Space Flight Center, 1973, v. 1, p. 309-317. (NASA SP-351).

NDVI de estádios de desenvolvimento da soja BRS 284 em condições de campo

Crusiol, L. G. T.¹; Neiverth, W.²; Rio, A.³; Sibaldelli, R. N. R.⁴; Ferreira, L. C.⁵; Carvalho, J. F. C.⁶; Nepomuceno, A. L.⁷; Neumaier, N.⁷; Farias, J. R. B.⁷

¹Bolsista Cnpq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ²Bolsista CNPq/DTI, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ³Mestrando USP/ESALQ, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁴Mestrando UTFPR, Londrina, Paraná. ⁵Pós doutorando/CNPq, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁶Pós doutoranda/CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁷Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná.

e-mail: luis.crusiol@cnpso.embrapa.br

Introdução

No cenário mundial, o Brasil figura entre os maiores produtores de soja, podendo tornar-se o maior produtor mundial na safra 2012/2013. Estima-se que para a referida safra a produção total mundial de soja seja de 264,28 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por aproximadamente 30% deste total (SEAB, 2012).

Para a safra 2012/2013, estima-se uma produção recorde de 183,58 milhões de toneladas de grãos no Brasil. Dentre estes, 82,06 milhões, aproximadamente 45%, relaciona-se à produção de soja (CONAB, 2013). Tais valores expressam a importância da soja para a economia do país, uma vez que a produção da oleaginosa é fundamental para o setor do agronegócio, interferindo diretamente no Produto Interno Bruto (PIB) nacional.

Com algumas exceções, ano após ano, importantes avanços têm sido obtidos na produtividade brasileira. Tais avanços estão diretamente relacionados ao desenvolvimento de melhores equipamentos, produtos agrícolas, técnicas de manejo e cultivares que se adaptem melhor às mais diversas condições ambientais.

Buscando uma melhor avaliação das condições da vegetação, técnicas de sensoriamento remoto têm sido amplamente aplicadas à agricultura. O sensoriamento remoto baseia-se no princípio de aquisição de informações de um determinado objeto sem a necessidade de contato direto com ele. Desse modo, a coleta de dados é otimizada, proporcionando maior veracidade das informações e agilidade na obtenção das mesmas.

Dentre as principais informações obtidas por meio do sensoriamento remoto estão os índices de vegetação. De acordo com Almeida et al. (2005), os índices de vegetação, expressos em valor numérico, resultam da combinação de dois ou mais comprimentos de onda e permitem a detecção de presença e estado da vegetação em questão. Índices de vegetação apresentam boa relação com características fisiológicas e biofísicas da vegetação, como área foliar, fitomassa, anomalias, evapotranspiração, produtividade e condição hídrica (Asrar et al., 1985; Antunes et al., 1993; Moreira, 2003; Leivas et al., 2011; Crusiol et al., 2012 A).

Um dos principais índices de vegetação utilizados é o Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI), proposto por Rouse et al. (1973). O acompanhamento de safras por meio do NDVI tem sido realizado com frequência mais intensa nos últimos anos. Gusso et al. (2007), Junges et al. (2007) e Esquerdo et al. (2009) destacam a eficiência do NDVI no gerenciamento do ciclo produtivo de plantas de soja. Contudo, não foram encontrados na literatura trabalhos que caracterizem espectralmente, por meio do NDVI, os estádios de desenvolvimento da soja.

Deste modo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o perfil espectral temporal da cultura da soja (Cultivar BRS 284) frente aos principais estádios do seu ciclo de crescimento, em condições de campo.

Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido nos campos experimentais da Embrapa Soja, localizada no município de Londrina - PR, ao longo da safra 2012/2013.

A cultivar utilizada foi a BRS 284, de tipo de crescimento indeterminado, devido à sua grande aceitação comercial e à crescente demanda por cultivares com esse tipo de crescimento. A data de semeadura foi 05 de novembro de 2012 e o espaçamento entre linhas foi de 0,5 metros. As condições de manejo e cultivo seguiram as recomendações técnicas da Embrapa Soja (Embrapa, 2010).

As leituras de NDVI foram realizadas com aparelho *GreenSeeker*® 505 Handheld Sensor, fabricado pela *Ntech Industries, Inc*, que calcula o NDVI a partir da equação $NDVI = (\rho_{ivp} - \rho_v) / (\rho_{ivp} + \rho_v)$, onde ρ_{ivp} é a reflectância no infravermelho próximo (0,725-1,1 μm) e ρ_v é a reflectância no vermelho (0,58-0,68 μm). Seus valores variam de -1 a 1 de modo que, quanto mais próximo de 1 mais sadia encontra-se a vegetação.

Realizaram-se as coletas de NDVI com o sensor posicionado a uma altura fixa entre o topo do dossel e o sensor, dentro da faixa de altura recomendada pelo fabricante. Estipulou-se o horário de coleta sempre às 09 horas, conforme estabelecido por Crusiol et al. (2012 B). Para as coletas de NDVI, o número de repetições foi igual a 4 parcelas não irrigadas (sob condições naturais de campo).

O acompanhamento dos estádios de desenvolvimento, identificados de acordo com classificação detalhada em Embrapa Soja (2010), foi realizado três vezes por semana, em cinco plantas presentes em apenas uma das quatro parcelas utilizadas para determinação do NDVI.

O acompanhamento das variáveis climáticas foi feito a partir da estação meteorológica da Embrapa Soja, localizada dentro da área experimental.

Resultados e discussão

Os valores de NDVI estão apresentados na Figura 1 e na Tabela 1. Os estádios de desenvolvimento (ED) relacionados aos dias após a semeadura da medição do NDVI (DAS-NDVI) e dias após a semeadura da análise do estádio de desenvolvimento (DAS-ED) estão dispostos na Tabela 1. Embora algumas leituras de NDVI tenham sido realizadas um dia antes do acompanhamento do estádio (Tabela 1), verificou-se que as plantas de soja permaneceram no mesmo estádio de desenvolvimento por período superior ao intervalo das análises de NDVI.

As maiores variações nos valores de NDVI foram observadas no início e final do ciclo. No estádio de desenvolvimento V1, aos 17 DAS, obteve-se o menor valor de NDVI (0,199) que resultou da pequena área foliar da cultura caracterizada pela presença de folhas unifolioladas completamente desenvolvidas (Embrapa, 2010).

Para o estádio V2 de desenvolvimento, houve aumento de NDVI em torno de 40% em decorrência de maior área foliar e/ou número de folhas.

De acordo com Embrapa (2011), a cultura da soja necessita de disponibilidade hídrica contínua ao longo de todo o seu ciclo produtivo, sendo necessários de 450 a 800 mm de água ao longo de seu desenvolvimento. No período de coleta de dados, foi registrado um total pluviométrico de 504,5 mm. Como já destacado, o NDVI de plantas de soja é sensível a diferentes disponibilidades hídricas. Entretanto, tendo em vista a boa disponibilidade hídrica para a vegetação no referido período, as variações de NDVI observadas deveram-se muito provavelmente, às alterações morfológicas das plantas.

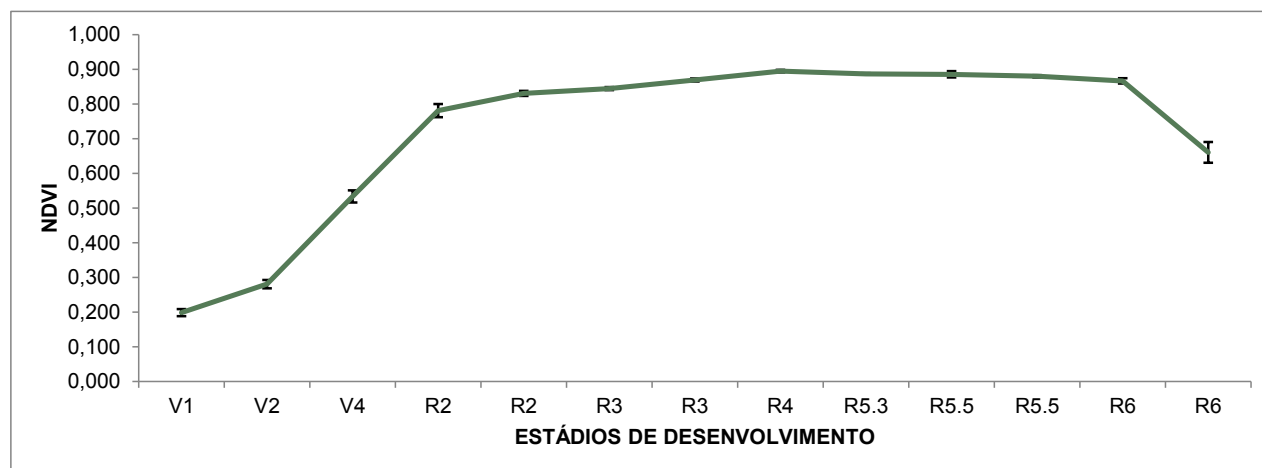


Figura 1. Valores de NDVI ao longo dos estádios de desenvolvimento da soja. As barras de erro referem-se ao erro padrão da média.

Tabela 1. Valores de NDVI ao longo dos estádios de desenvolvimento da soja. ED - Estádio de desenvolvimento; DAS - ED - Dias após a semeadura do acompanhamento do estágio; DAS - NDVI Dias após a semeadura das leituras de NDVI e NDVI - Valores de NDVI para os referidos dias.

ED	V1	V2	V4	R2	R2	R3	R3	R4	R5.3	R5.5	R5.5	R6	R6
DAS - ED	17	23	30	38	43	52	59	64	74	79	86	93	112
DAS - NDVI	16	23	30	38	44	52	59	66	74	79	86	93	112
NDVI	0,199	0,281	0,534	0,781	0,831	0,844	0,869	0,895	0,887	0,886	0,880	0,867	0,661

Entre os estádios V2 e R2 foram observados os maiores aumentos nos valores de NDVI ao longo do ciclo (178%), sobretudo entre os estádios V2 e V4, quando houve o maior aumento de NDVI (90%). Entre os estádios V4 e R2, a variação foi de aproximadamente 46% (Figura 1).

A partir do estágio R2, 38 DAS, houve desaceleração do aumento de NDVI. Entre R2 e R4, em 28 dias, observou-se um constante, porém leve, aumento do NDVI. Ao longo do estágio R2, detectado entre 38 e 44 DAS, houve o maior aumento percentual do NDVI (6,4) naquele período. Na transição do R2 para R3, observou-se estabilização do referido índice, com aumento de apenas 1,5%. Na transição R3 para R4 houve uma retomada, ainda que pequena, do aumento de NDVI.

O NDVI máximo foi obtido no estágio R4, aos 66 DAS. Embora o estágio de desenvolvimento tenha sido detectado aos 64 DAS não houve interferência nas análises, visto que as plantas atingiram o estágio R4 aos 64 DAS e passaram para o estágio R5 aos 72 DAS.

Após o NDVI máximo, o referido índice apresentou redução até a última análise. Entretanto, apenas no estágio R6 foi observada redução expressiva do referido índice. Entre o estágio R4 e até se atingir o R6, o NDVI manteve-se quase inalterado.

A redução percentual entre os estádios R4 e R5.3 foi de apenas 1%. Entre R5.3 e a primeira leitura realizada no R5.5 o valor de NDVI manteve-se praticamente inalterado, com redução de apenas 0,001. Entre as duas leituras feitas no R5.5 houve, novamente, uma pequena redução do referido índice, sendo esta inferior a 1%.

Conforme citado anteriormente, observou-se expressiva redução de NDVI somente no estádio R6. Neste estádio, as plantas já haviam completado o período de enchimento de grãos. A redução observada neste período foi superior a 23%, devido a mudanças nas atividades fisiológicas das plantas, bem como menor área foliar útil, além do amarelecimento e queda das folhas.

Conclusões

O NDVI máximo obtido no ciclo da soja cultivar BRS 284 se deu no estádio R4.

Houve estabilização do NDVI entre os estádios R2 e R6.

Novas avaliações de NDVI devem ser feitas ao longo das safras seguintes visando obter um padrão do perfil espectral de cultivares de soja de tipo de crescimento indeterminado.

Referências

ALMEIDA, T. S.; FONTANA, D. C.; MARTORANO, L. G.; BERGAMASCHI, H. Índices de vegetação para a cultura da soja em diferentes condições hídricas e de sistema de manejo do solo. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 12. (SBSR), 2005, Goiânia. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 2005. p. 17-24. CD-ROM, On-line. ISBN 85-17-00018-8. Disponível em: <<http://urlib.net/ltid.inpe.br/sbsr/2004/11.18.17.02>>. Acesso em: 30 ago. 2012.

ANTUNES, M. A. H.; BATISTA, G. T.; ASSAD, E. D.; MOREIRA, M. A. Utilização de medidas espectrais para o monitoramento da cultura da soja (*Glycine Max (L.) Merrill*) ao longo do ciclo de crescimento. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 7. (SBSR), 1993, Curitiba, BR. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 1993. v. 4, p. 42-51. Printed, On-line. ISBN 978-85-17-00055-3. (INPE-7604-PRE/3455). Disponível em: <<http://urlib.net/sid.inpe.br/iris@1912/2005/07.20.00.53.56>>. Acesso em: 30 ago. 2012.

ASRAR, G.; KANEMASU, E. T.; JACKSON, R.D.; PINTER JUNIOR, P.J. Estimation of total above-ground phytomass production using remotely sensed data. **Remote Sensing of Environment**. 17. p 211 - 220. 1985.

CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sexto levantamento, março 2013**/ Companhia Nacional de Abastecimento – Brasília: Conab, 2013. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em: 18 Mar. 2013.

CRUSIOL, L. G. T.; CARVALHO, J. F. C.; SIBALDELLI, R. N. R.; PROCÓPIO, S. O.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; FARIAS, J. R. B. Influência do horário das medições nos valores de NDVI. In: VI Congresso Brasileiro de soja. Cuiabá, 2012. **Resumos...** Brasília: Embrapa, 2012. Artigos, p. 82. ISBN 978-85-7035-056-5. Disponível em <www.cbsoja.com.br/anais/trabalhos/127_s323.pdf> a.

CRUSIOL, L. G. T.; CARVALHO, J. F. C.; TOLEDO, C. DE F.; NEUMAIER, N.; FARIAS, J. R. B.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K.; NEPOMUCENO, A. L. Comportamento espectral de diferentes genótipos de soja (GM para tolerância a seca e convencionais), em condição irrigada e sob estresse hídrico. In: VI Congresso brasileiro de soja. Cuiabá, 2012. **Resumos...** Brasília: Embrapa, 2012. Artigos, p. 83. ISBN 978-85-7035-056-5. Disponível em <www.cbsoja.com.br/anais/trabalhos/128_s324.pdf> b.

EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja: Região central do Brasil 2011**. Londrina: Embrapa Soja. 2010. 255 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 14).

ESQUERDO, J. C. D. M.; ZULLO JUNIOR, J.; ANTUNES, J. F. G. Uso de perfis multi-tempoais de NDVI/AVHRR no acompanhamento da cultura da soja no oeste do Paraná. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 14. (SBSR), 2009, Natal. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 2009. p. 145-150. DVD, On-line. ISBN 978-85-17-00044-7. Disponível em: <<http://urlib.net/dpi.inpe.br/sbsr@80/2008/11.12.17.50>>. Acesso em: 25 mar. 2013.

GUSSO, A.; FONSECA, E. L.; FONTANA, D. C. Monitoramento do desenvolvimento da cultura da soja no sul do Brasil usando dados SPOT Vegetation e NOAA/AVHRR. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 13. (SBSR), 2007, Florianópolis. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 2007. p. 225-232. CD-ROM, On-line. ISBN 978-85-17-00031-7. Disponível em:<<http://urlib.net/dpi.inpe.br/sbsr@80/2006/11.16.03.30>>. Acesso em: 25 mar. 2013.

JUNGES, A. H.; ALVES, G.; FONTANA, D. C. Estudo indicativo do comportamento do NDVI e EVI em lavouras de cereais de inverno da região norte do Estado do Rio Grande do Sul, através de imagens MODIS. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 13. (SBSR), 2007, Florianópolis. **Anais...** São José dos Campos: INPE, 2007. p. 241-248. CD-ROM, On-line. ISBN 978-85-17-00031-7. Disponível em:<<http://urlib.net/dpi.inpe.br/sbsr@80/2006/11.15.10.52>>. Acesso em: 25 mar. 2013.

LEIVAS, J. F.; ANDRADE, R. G.; NOGUEIRA, S. F.; BOLFE, É. L. Estimativa da evapotranspiração em áreas com diferentes características ambientais utilizando o algoritmo Sebal. In: XVII Congresso Brasileiro de Agrometeorologia, 2011, Guarapari. **Anais...** Guarapari: SIGERA, 2011. Disponível em <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/55706/1/Janice-CBA.pdf>>

MOREIRA, M. A. **Fundamentos do sensoriamento remoto e metodologias de aplicação**. 2.ed. – Viçosa: UFV, 2003. 307 p.

ROUSE, J. W.; HAAS, R. H.; SCHELL, J. A.; DEERING, D. W. Monitoring vegetation systems in the great plains with erts. In: EarthResourcesTechnologySatellite-1 Symposium, 3, 1973, Washington, D. C. **Proceedings...** Washington, D. C.: NASA. Goddard Space Flight Center, 1973, v. 1, p. 309-317. (NASA SP-351).

SEAB – Departamento de Economia Rural. Soja – Análise da conjuntura agropecuária, outubro 2012/ Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento – Curitiba: SEAB, 2012. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/soja_2012_13.pdf>. Acesso em 18 mar. 2013.

Flutuação populacional do ácaro-verde, *Mononychellus planki*, em soja safrinha.

FERRARI, F.¹; ROGGIA, S.²; CORRÊA-FERREIRA, B.S.²; RODRIGUES, L.V.¹; VISENTINI, A.³; MAZIERO, E.C.⁴ | ¹ Centro Universitário Filadélfia; ² Embrapa Soja; ³ Escola Estadual Técnica Fronteira Noroeste, Santa Rosa, RS; ⁴ Universidade do Norte do Paraná.

Introdução

A soja é uma das principais culturas agrícolas do Brasil e apresenta grande importância econômica e social para o país. O Brasil é um dos maiores produtores e exportadores de soja do mundo. O sucesso da soja como cultura agrícola no Brasil deve-se aos avanços tecnológicos ligados ao uso de cultivares adaptadas e de alta produtividade, a mecanização e o conhecimento de estratégias adequadas de manejo cultural e fitossanitário, bem como, a ampliação da área cultivada.

Técnicas de manejo fitossanitário modernizaram-se em anos recentes, porém o manejo de pragas secundárias ainda apresentam lacunas que necessitam se resolvidas. Entre estas destacam-se os ácaros-praga, pela dificuldade de controle e pelos elevados custos associados à aplicação de acaricidas. Apesar de considerados pragas secundárias da soja, nos últimos 10 anos foram registrados ataques severos e frequentes em diferentes regiões produtoras do Brasil (REZENDE et al., 2012; ROGGIA et al., 2008).

O cultivo de soja safrinha (soja de segunda época) é uma realidade para diferentes regiões produtoras brasileiras, em especial aquelas onde não há restrições hídricas ou baixas temperaturas no outono/inverno. O cultivo de milho safrinha se tornou uma prática comum entre agricultores destas regiões, e mais recentemente tem aumentado também o interesse pelo cultivo de soja safrinha, pelo seu menor custo de produção, pela possibilidade de produção de sementes de melhor qualidade e pelo maior valor da produção em relação ao milho. O sistema de soja safrinha é muito carente em relação ao conhecimento dos artrópodes de importância agrícola associada ao cultivo, no que se refere aos organismos com potencial de causar danos (pragas) e aos controladores biológicos.

No período de cultivo de soja safrinha, nas regiões produtoras do Paraná, a frequência de chuvas é relativamente baixa, podendo favorecer o ataque de determinadas pragas, principalmente de ácaros tetraniquídeos. Adicionalmente, o sistema de sucessão pode contribuir para o aumento da pressão de pragas desde o início do desenvolvimento da cultura, sendo plausível que uma lavoura de soja safrinha possa sofrer um ataque mais intenso de pragas quando cultivada em sucessão a um cultivo que seja hospedeiro das suas pragas (soja, feijão, ...) do que sucedendo culturas com as quais compartilha um menor número de pragas (milho, sorgo, ...). No contexto do manejo integrado de pragas o conhecimento das espécies ocorrentes, características de ataque e flutuação populacional de ácaros em soja tem se mostrado muito importante para estabelecer estratégias de manejo da praga na cultura.

O objetivo do presente trabalho foi realizar um levantamento para avaliar a flutuação populacional de ácaros associados com a soja safrinha cultivada em sucessão a soja e milho.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em lavoura comercial, em Campo Mourão, durante o período de janeiro a abril de 2013. Foi estudada a flutuação populacional de ácaros em dois sistemas de cultivo: soja safrinha sucedendo uma lavoura de soja e sucedendo uma lavoura de milho. A semeadura do primeiro campo foi realizada na última semana de janeiro e do segundo campo na primeira semana de fevereiro de 2013, com intervalo de uma semana entre cada semeadura. Em cada sistema de sucessão foram estabelecidos quatro tratamentos com diferentes manejos de pragas: (1) manejo integrado de pragas (MIP) – aplicação de inseticidas apenas quando foi atingido o nível de controle de lagartas e percevejos; (2) aplicação preventiva – com pulverizações calendarizadas de inseticidas para lagartas e percevejos, usando inseticidas combinados com as aplicações de herbicida e fungicida;

(3) manejo do agricultor – com pulverizações definidas pelo critério do agricultor; (4) testemunha – sem inseticida. Os inseticidas utilizados em cada tratamento e sistema de cultivo são apresentados na tabela 1. Todos os tratamentos receberam aplicação do fungicida Azoxistrobina+Ciproconazol (i.a. 60+24g/ha), acrescido de 500mL/ha de óleo mineral (Nimbus), sendo que a soja em sucessão a soja recebeu uma aplicação e a soja em sucessão ao milho recebeu duas aplicações.

Parcelas de aproximadamente 25x50m para cada tratamento foram demarcadas no interior de talhões de aproximadamente 9ha e 13ha para, respectivamente, soja safrinha em sucessão a soja e milho, estando as sucessões culturais distanciadas em aproximadamente 500m entre si. A densidade de ácaros foi amostrada de 13/03 a 24/04 abrangendo toda a fase reprodutiva da cultura. Em cada data de amostragem foram coletadas, aleatoriamente, 30 folhas por parcela, estas foram acondicionadas em saco plástico e mantidas em caixa de isopor com gelo para serem transportadas ao laboratório. No laboratório, as amostras foram mantidas em geladeira (~8°C) até ser realizada a sua análise. De cada folha coletada em campo foi observada, sob microscópio estereoscópio, uma área foliar de 10,18cm², delimitada por uma circunferência de 3,6cm de diâmetro. Foram contabilizados os ovos, ninfas e adultos de ácaros praga e predadores. Uma amostra de ácaros foi montada em meio de Hoyer, em lâmina de microscopia, para confirmação da espécie. Os dados climáticos foram obtidos na estação meteorológica da Fazenda Experimental da COAMO, distante cerca da 8,5 Km do local do experimento.

Tabela 1. Inseticidas utilizados para o manejo de pragas em diferentes sistemas de cultivo de soja safrinha. Safra agrícola 2012/13, Campo Mourão, PR.

Sistema de manejo de pragas	Sistema de cultivo de soja safrinha	
	Soja safrinha após soja	Soja safrinha após milho
1. MIP	Acefato (450g i.a./ha) ¹	Sem inseticidas
2. Preventivo	Betaciflutrina+Imidacloprido (7,5+60g i.a./ha), Acefato (450g i.a./ha), Acefato (450g i.a./ha)	Betaciflutrina+Imidacloprido (7,5+60g i.a./ha), Acefato (450g i.a./ha)
3. Produtor	Betaciflutrina+Imidacloprido (7,5+60g i.a./ha), Acefato (450g i.a./ha)	Acefato (450g i.a./ha)
4. Testemunha	Sem inseticidas	Sem inseticidas

¹ Em parênteses é apresentada a dose do ingrediente ativo (i.a.) do inseticida por hectare (ha).

Resultados e Discussão

Nas amostras coletadas a única espécie de ácaro-praga encontrada foi o ácaro-verde, *Mononychellus planki* (McGregor, 1950). A densidade de ácaros predadores foi muito baixa, sendo que foi encontrado apenas um indivíduo ao longo de todo o estudo. Desde a primeira data de amostragem foram observados ácaros nas amostras, porém a infestação se tornou expressiva a partir de R3 (canivetininho - início de formação de legumes) e as maiores densidade populacionais ocorreram entre 10/04 a 24/04, na fase de enchimento de grãos (Figuras 1 e 2).

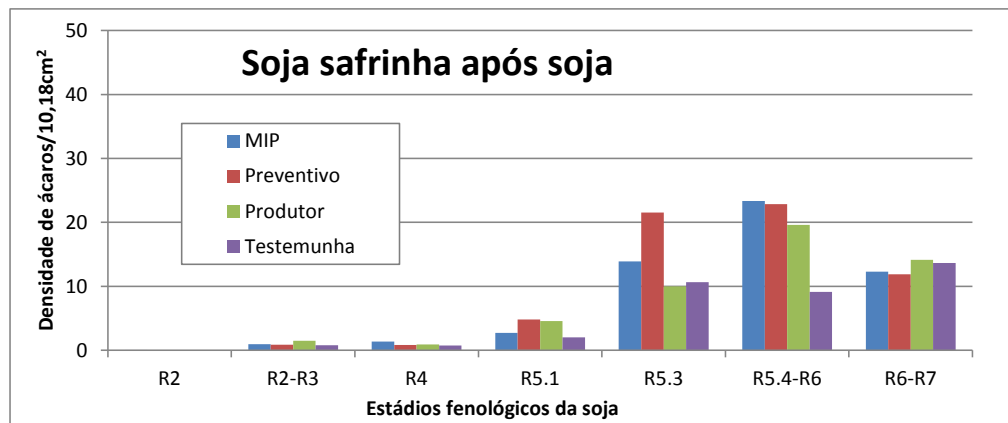


Figura 1. Flutuação populacional de ninfas+adultos do ácaro-verde, *Mononychellus planki*, em soja safrinha cultivada após soja. Safra 2012/13, Campo Mourão, PR.

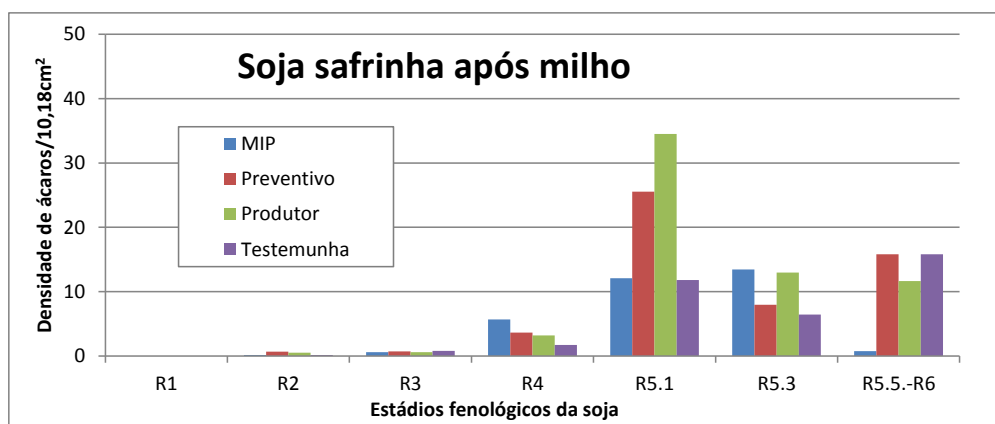


Figura 2. Flutuação populacional de ninfas+adultos do ácaro-verde, *Mononychellus planki*, em soja safrinha cultivada após milho. Safra 2012/13, Campo Mourão, PR.

Para a soja cultivada em sucessão à soja e o pico populacional foi observado em R5.4-R6 (final da fase de enchimento de grãos) para todos os tratamentos, exceto para a testemunha em que o pico populacional foi observado mais tardiamente, em R6 (enchimento pleno de grãos). Para a soja cultivada em sucessão ao milho o pico populacional foi observado em R5.1 (início da fase de enchimento de grãos) para os tratamentos 'Preventivo' e 'Produtor', e mais tardiamente para o tratamento MIP (R5.3) e testemunha (R5.5). O aumento da densidade de ácaros coincidiu com a redução da frequência e do volume de chuvas (Figura 5), bem como, com o avanço no desenvolvimento da soja.

Ovos do ácaro-verde foram observados desde a primeira amostragem, mas só se tornaram expressivos a partir de R5.1 em soja sobre soja e a partir de R4 em soja sobre milho, com pico na última avaliação, em 24/04, para ambos os sistemas de sucessão (Figuras 3 e 4). O pico de ovos foi observado no final do ciclo da cultura após uma semana sem chuvas. A resposta dos tratamentos sobre o número de ovos foi muito similar entre os sistemas de sucessão de cultura, com maior densidade o tratamento 'Produtor' seguido dos tratamentos 'Preventivo' e Testemunha, a menor densidade de ovos foi observada no tratamento MIP.

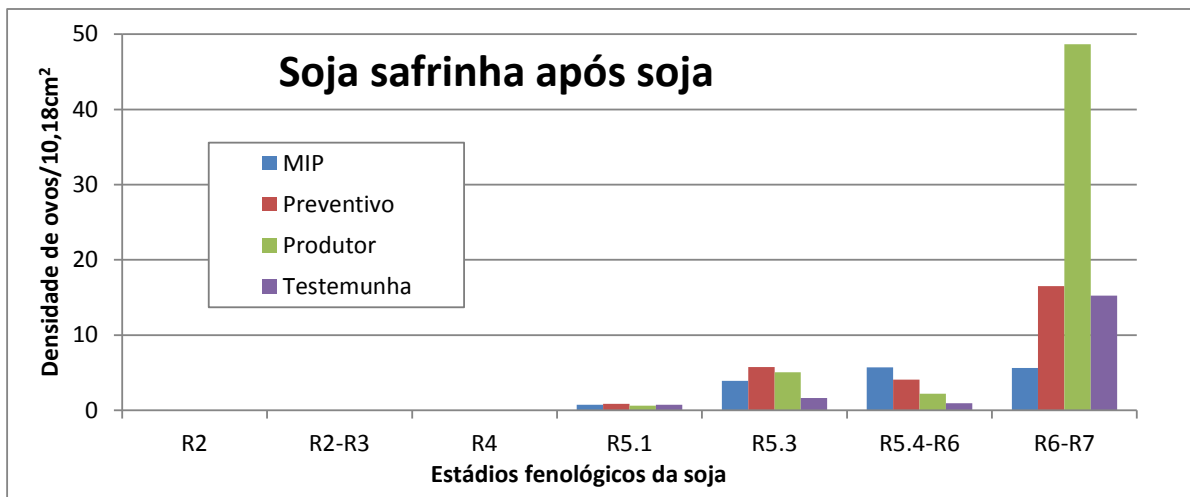


Figura 3. Flutuação populacional de ovos do ácaro-verde, *Mononychellus planki*, em soja safrinha cultivada após soja. Safra 2012/13, Campo Mourão, PR.

Uma análise global indica que as menores densidades de ácaros ocorreram na testemunha (sem inseticida) do sistema de sucessão soja-soja e na testemunha e MIP da sucessão milho-soja, indicando que a não aplicação de inseticidas ou seu uso racional tendem a apresentar menores densidades de ácaros. O pico populacional de ácaros ocorreu mais tardiamente na testemunha e no MIP.

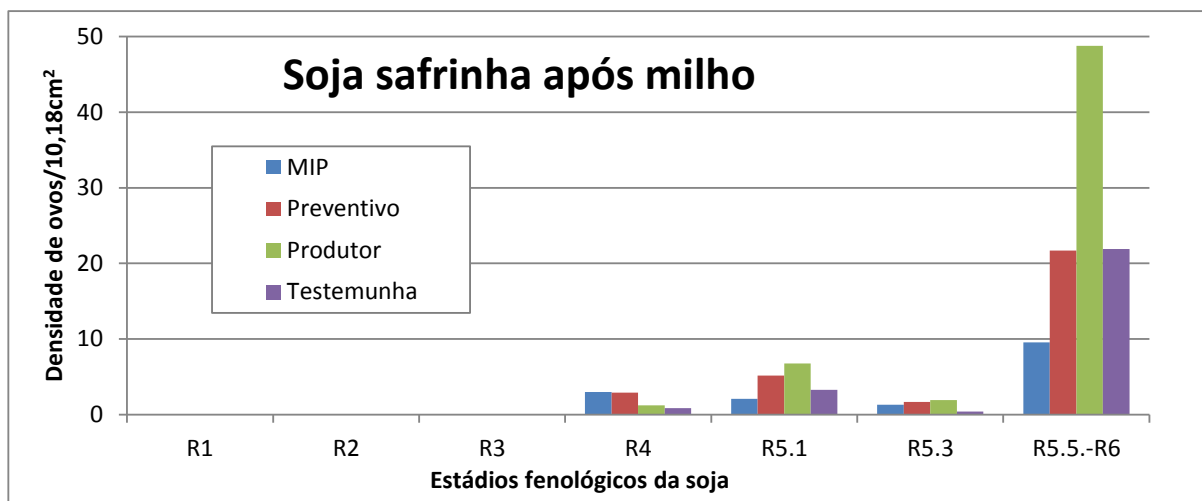


Figura 4. Flutuação populacional de ovos do ácaro-verde, *Mononychellus planki*, em soja safrinha cultivada após milho. Safra 2012/13, Campo Mourão, PR.

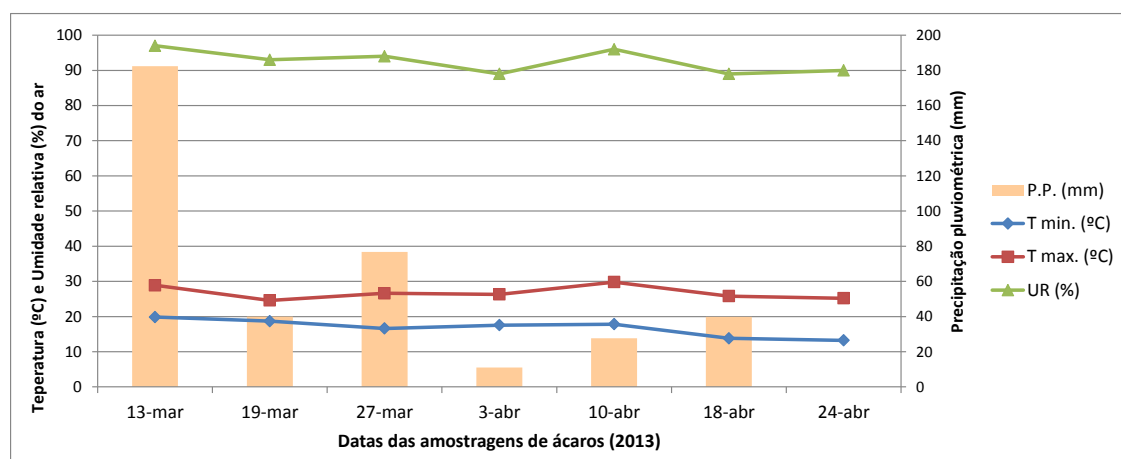


Figura 5. Médias diárias de temperaturas e umidade relativa do ar, e precipitação pluviométrica acumulada no intervalo entre cada data de amostragem. Fonte: Estação Experimental da COAMO. Período: 07/03 a 24/04/2013.

Conclusão

Em soja de segunda safra (safrinha) o ataque do ácaro-verde, *Mononychellus planki*, ocorre mais intensamente na fase de enchimento de grãos sendo que o aumento da densidade populacional está relacionado à redução da frequência e volume de chuvas. Manejos de praga com uso racional de inseticidas apresentam ataques menos intensos de ácaro-verde.

Referências

REZENDE, J.M.; LOFEGO, A.C.; NÁVIA, D.; ROGGIA, S. Mites (Acari: Mesostigmata, Sarcoptiformes and Trombidiformes) associated to soybean in Brazil, including new records from the Cerrado areas. **Florida Entomologist**, v.95, n.3. p.683-693, 2012.

ROGGIA, S; GUEDES, J.V.C.; KUSS, R.C.R.; ARNEMANN, J.A.; NÁVIA, D. Spider mites associated to soybean in Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.3, p.295-301, 2008.

Alternativas culturais para o manejo do nematoide das lesões radiculares durante a entressafra da soja no Mato Grosso

Mendes, F. L.¹; Araújo, K.¹; Debiasi, H.²; Franchini, J. C.²; Dias, W. P.²; Ramos Junior, E. U.²; Silva, J. F. V.³

¹ UNOPAR – Universidade Norte do Paraná; ² Embrapa Soja; ³ Embrapa Agrossilvipastoril.

Introdução

Os nematoides das lesões radiculares (*Pratylenchus spp.*) são considerados o segundo grupo de fitonematoides de maior importância econômica em todo o mundo. Dentro do gênero *Pratylenchus*, a espécie *P. brachyurus* é a única que apresenta relevância para a soja (DIAS et al., 2010), causando prejuízos de até 50% na produtividade desta cultura (ANTONIO et al., 2012). Esse nematoide tem causado danos elevados e crescentes à cultura da soja, especialmente na região Centro-Oeste, onde sua ocorrência é mais intensa, devido à predominância de solos arenosos e também pela utilização de milho ou algodão em sucessão à soja, culturas que são suscetíveis ao nematoide. Outro problema que dificulta o controle populacional do nematoide é a capacidade do mesmo em parasitar várias espécies vegetais e, também, a inexistência de cultivares de soja resistentes e/ou tolerantes a ele.

A utilização da rotação e sucessão na entressafra, com espécies vegetais não hospedeiras, é o método com maior potencial para o manejo de *P. brachyurus*. Os efeitos de diferentes espécies vegetais sobre a população de *P. brachyurus* tem sido extensivamente estudados em condições casa de vegetação (INOMOTO; MACHADO; ANTEDOMÊNICO, 2007; MACHADO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2007; INOMOTO, 2011). Entretanto, a reação destas espécies vegetais ao nematoide das lesões radiculares em condições de campo tem sido pouco estudada. Outro método para controlar o nematoide, mas que vem sendo pouco estudado, é o alqueive, que consiste em preparar o solo por meio de aração e/ou gradagem, mantendo a área sem qualquer tipo de vegetação por certo período de tempo, para que o nematoide não se desenvolva (INOMOTO, 2008). Dessa forma, os nematoides morrem por inanição (falta de planta hospedeira), por dessecação e pela ação da luz (a faixa ultra-violeta tem propriedades nematicidas).

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos de diferentes práticas culturais adotadas na entressafra sobre a população do nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) e os danos causados por ele na soja na safra 2012/2013.

Material e Métodos

O experimento foi instalado em fevereiro de 2010, em área naturalmente infestada com *P. brachyurus*, pertencente à Fazenda Dacar, localizada em Vera, região médio-norte do Mato Grosso (12° 08' S e 55° 10' O). O solo foi classificado como Latossolo Vermelho Amarelo distrófico, textura arenosa (130, 20 e 850 g kg⁻¹ de argila, silte e areia, respectivamente). A área foi desmatada em 2004, sendo cultivada com arroz nos dois primeiros anos e com a sucessão

soja/milheto nas demais safras. Nesse período, a soja foi implantada em semeadura direta e o milho em preparo mínimo (gradagem leve). A última calagem foi realizada em outubro de 2008, mediante aplicação superficial de calcário dolomítico em taxa variável, com dose média de 1 Mg ha⁻¹.

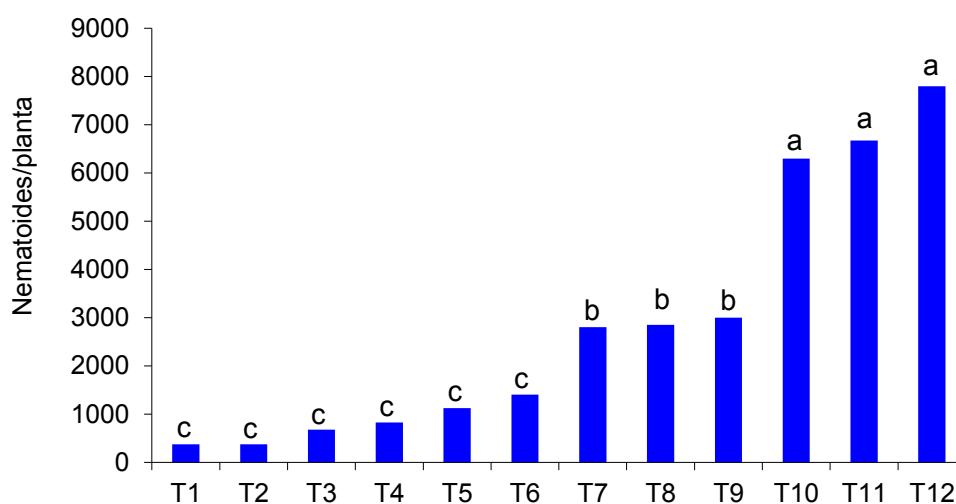
Os dados apresentados neste trabalho se referem à terceira safra de condução do experimento (2012/2013). Os tratamentos (parcelas de 6 x 10 m) foram os seguintes: T1) *Crotalaria spectabilis*; T2) alqueive mecânico, com controle de plantas daninhas por meio de uma gradagem leve (0,1 m de profundidade) seguida de duas aplicações de herbicida (glifosato); T3) *C. ochroleuca*; T4) *C. juncea*; T5) Pousio; T6) *C. spectabilis* + milho "ADR 300"; T7) alqueive químico, com controle de plantas daninhas mediante três aplicações de herbicida (glifosato); T8) milho "GNZ 2005"; T9) Milheto "ADR 300"; T10) *C. spectabilis* + *Brachiaria ruziziensis*; T11) *B. ruziziensis*; T12) *B. brizantha* "Marandu". À exceção do alqueive mecânico, todos os tratamentos foram conduzidos sob sistema de plantio direto (SPD). As espécies vegetais foram semeadas em fevereiro de 2012, em linhas espaçadas de 0,9 m (milho) ou 0,225 m (demais culturas), empregando-se uma semeadora-adubadora tratorizada. Apenas o milho foi adubado, aplicando-se 200 kg ha⁻¹ de NPK 05-20-20 na linha de semeadura. No T6, as quantidades de sementes puras e viáveis utilizadas foram de 5 kg ha⁻¹ para o milho e de 25 kg ha⁻¹ para a *C. spectabilis*. Já no T10, foram utilizados 4 kg ha⁻¹ e 25 kg ha⁻¹ de *B. ruziziensis* e 25 kg ha⁻¹ para a *C. spectabilis*. Tanto no T6 quanto no T10, as sementes das duas espécies foram misturadas e distribuídas em todas as linhas de semeadura.

Os tratamentos foram dessecados aos 35 e aos 20 dias antes da semeadura da soja, por meio da aplicação do herbicida glifosato, na dose de 0,864 kg e.a. ha⁻¹. A semeadura da soja cv. "M-Soy 9144RR" foi realizada em 12/11/2012, empregando-se uma semeadora tratorizada, regulada de modo a obter uma população de 270.000 plantas por hectare, com espaçamento entre linhas de 0,5 m. Foram aplicados 550 kg ha⁻¹ de NPK 00-18-18 a lanço antes da semeadura da soja. Os demais tratamentos culturais foram realizados de acordo com as indicações técnicas para a soja na região.

Antes da semeadura da soja (novembro/2012), foi coletada uma amostra de solo na camada de 0,0-0,2 m por tratamento, composta por seis subamostras, para determinação da densidade populacional de *P. brachyurus* por meio de bioensaio. O bioensaio consistiu no cultivo de soja (linhagem "PI 595099") em casa de vegetação (Embrapa Soja, Londrina/PR), em vasos contendo 1 kg de solo coletado em cada tratamento. Após 60 dias de cultivo, procedeu-se a contagem do número de nematoides nas raízes das plantas de soja. A população de *P. brachyurus* também foi determinada nas raízes da soja cultivada no experimento a campo aos 60 dias após a semeadura (DAS). Para isso, foram coletados os sistemas radiculares de 10 plantas de soja por parcela. A extração dos nematoides presentes nas raízes da soja foi realizada pelo método de Coolen e D'Herde (1972). A produtividade de grãos da soja na parcela foi avaliada em uma área útil de 4,5 m x 4,5 m, corrigindo-se os pesos obtidos para a umidade de 13%. Os dados obtidos a campo e no bioensaio foram submetidos à análise da variância (ANOVA, $p < 0,05$), utilizando o delineamento experimental de blocos casualizados com quatro repetições. A comparação entre as médias dos tratamentos foi realizada por meio do critério de Scott-Knott ($p < 0,05$). Tanto a ANOVA quanto o teste de médias foram realizados com o auxílio do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2008).

Resultados e Discussão

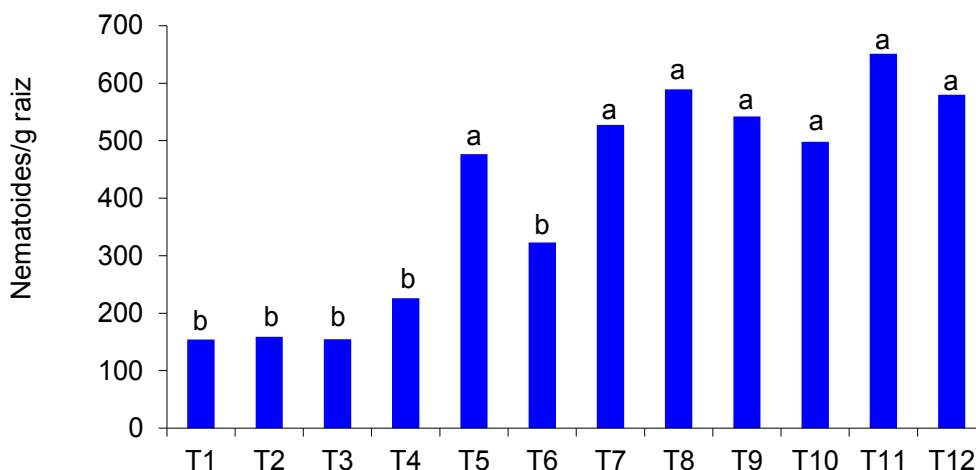
Foram utilizadas diferentes opções de manejo durante a entressafra, as quais influenciaram a população de *P. brachyurus* tanto no bioensaio quanto nas raízes de soja coletadas aos 60 DAS (Figuras 1 e 2). É possível observar que, no bioensaio, os tratamentos *C. spectabilis*, alqueive mecânico, *C. ochroleuca*, *C. juncea*, pousio e *C. spectabilis* + milho “ADR 300” (Figura 1) resultaram nas menores populações de nematoides nas raízes das plantas da soja. Já os tratamentos que resultaram nas maiores populações do nematoide foram o consórcio *C. spectabilis* + *B. ruziziensis*, a *B. ruziziensis* solteira e a *B. brizantha* “Marandu”. Os tratamentos alqueive químico, milho “GNZ 2005” e milho “ADR 300” ocuparam uma posição intermediária na densidade de nematoides na soja em relação às outras opções de manejo.



T1 = *Crotalaria spectabilis*; T2 = alqueive mecânico; T3 = *C. ochroleuca*; T4 = *C. juncea*; T5 = pousio; T6 = *C. spectabilis* + milho “ADR 300”; T7 = Alqueive químico; T8 = milho “GNZ 2005”; T9 = milho “ADR 300”; T10 = *C. spectabilis* + *Brachiaria ruziziensis*; T11 = *B. ruziziensis*; T12 = *B. brizantha* “Marandu”.

Figura 1. Número médio de nematoides (*Pratylenchus brachyurus*) por planta de soja (linhagem “PI 595099”), obtido por meio de bioensaio, em função dos diferentes manejos aplicados na entressafra. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Com relação à população de *P. brachyurus* nas raízes de soja aos 60 DAS (Figura 2), os resultados foram similares aos observados para o bioensaio. Neste sentido, a menor densidade populacional de *P. brachyurus* nas raízes de soja aos 60 DAS também foi observada nos tratamentos *C. spectabilis*, alqueive mecânico, *C. ochroleuca*, *C. juncea*, e *C. spectabilis* + milho “ADR 300”. Por outro lado, os tratamentos pousio, alqueive químico, milho “GNZ 2005”, milho “ADR 300”, *C. spectabilis* + *B. ruziziensis*, *B. ruziziensis* e *B. brizantha* “Marandu” resultaram em um maior número de nematoides por grama de raiz de soja. Porém, as diferenças entre os manejos no que se refere à população do nematoide aos 60 DAS foram menores do que as indicadas pelo bioensaio, pois houve a formação de apenas dois grupos de tratamentos estatisticamente diferentes entre si. Neste sentido, os tratamentos pousio, alqueive químico, milho “GNZ 2005” e milho “ADR 300” que, na avaliação pelo bioensaio, apresentaram menores densidades populacionais de nematoides do que *C. spectabilis* + *B. ruziziensis*, *B. ruziziensis* e *B. brizantha* “Marandu”, obtiveram população similar a estes manejos na avaliação realizada aos 60 DAS. Este resultado pode ser atribuído a um maior aumento na população de *P. brachyurus* nos tratamentos com menor densidade populacional inicial, indicada pelo bioensaio, devido ao maior desenvolvimento das raízes e, conseqüentemente, maior disponibilidade de alimento para os nematoides. Comportamento similar foi observado neste mesmo experimento na safra 2011/2012 (MENDES et al., 2012).



T1 = *Crotalaria spectabilis*; T2 = alqueive mecânico; T3 = *C. ochroleuca*; T4 = *C. juncea*; T5 = pousio; T6 = *C. spectabilis* + milho "ADR 300"; T7 = Alqueive químico; T8 = milho "GNZ 2005"; T9 = milho "ADR 300"; T10 = *C. spectabilis* + *Brachiaria ruziziensis*; T11 = *B. ruziziensis*; T12 = *B. brizantha* "Marandu".

Figura 2. Número médio de nematoides (*Pratylenchus brachyurus*) por grama de raiz de soja (cultivar M-Soy 9144RR) aos 60 dias após a semeadura da cultura (safra 2012/2013), em função dos diferentes manejos aplicados na entressafra. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

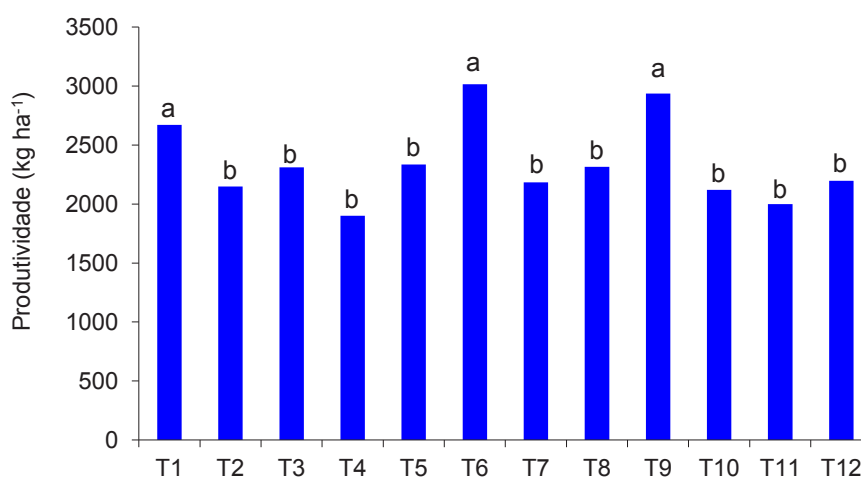
Experimentos realizados em casa de vegetação (RIBEIRO et al., 2007; MACHADO et al., 2007) têm demonstrado que *C. spectabilis* e *C. ochroleuca* são as espécies vegetais mais resistentes a *P. brachyurus*, em geral com fator de reprodução (FR) igual a zero, enquanto que a *C. juncea* o multiplica um pouco (FR ligeiramente superiores a 1,0). Apesar disso, os dados obtidos na presente pesquisa mostraram que a *C. juncea* resultou em populações de *P. brachyurus* similares a *C. spectabilis* e *C. ochroleuca*. Possivelmente, a *C. juncea*, por apresentar um crescimento mais rápido do que as outras duas crotalárias, resulta em uma maior produção de fitomassa em condições de segunda safra, o que pode ter compensado o maior FR inerente a esta espécie.

Analisando-se os dados obtidos no bioensaio (Figura 1), é possível inferir que o milho "ADR 300" apresentou um comportamento intermediário entre o grupo formado pelas espécies de crotalária e pelo alqueive mecânico (menor população), e o grupo que envolve as braquiárias e o milho (maior população). Este resultado corrobora com Borges (2009) que, em experimentos de casa de vegetação, concluiu que os milhetos são suscetíveis a *P. brachyurus* mas, dependendo da variedade, apresentam baixos valores de FR, em geral maiores que as crotalárias (RIBEIRO et al., 2007), mas inferiores às braquiárias (INOMOTO; MACHADO; ANTEDOMÊNICO, 2007) e ao milho (INOMOTO, 2011). Cabe também destacar o desempenho do consórcio *C. spectabilis* + milho "ADR 300", que resultou em populações de *P. brachyurus* similares às crotalárias solteiras e ao alqueive mecânico (Figuras 1 e 2), corroborando com os dados obtidos por Mendes et al. (2012) neste mesmo experimento na safra 2011/2012. Por outro lado, o consórcio entre *C. spectabilis* e *B. ruziziensis* não foi eficiente em reduzir a população de *P. brachyurus* (Figuras 1 e 2).

O principal mecanismo envolvido na supressão dos nematoides pelas crotalárias é a capacidade das mesmas em atuar como planta armadilha, permitindo a penetração dos juvenis em suas raízes, mas impedindo o seu desenvolvimento até a fase adulta (SILVA et al., 2009). Além desse mecanismo, as crotalárias produzem alguns metabólitos secundários com potencial nematicida, como o alcalóide pirrolizidínico chamado monocrotalina (WANG et al. 2002). Neste sentido, a aplicação de 13 Mg ha⁻¹ de massa seca proveniente da parte aérea de *C. spectabilis* reduziu a densidade populacional de *Pratylenchus* spp. no feijoeiro comum de 544 para 1,23 indivíduos por grama de raiz (SILVEIRA; RAVA, 2004).

O alqueive mecânico foi outra estratégia que se mostrou eficiente em diminuir a população do nematoide das lesões radiculares comparativamente a outras opções de manejo, equiparando-se às crotalárias solteiras e ao consórcio *C. spectabilis* + milho “ADR 300” (Figuras 1 e 2). De modo similar ao observado neste trabalho, Borges (2009), em experimento conduzido sob casa de vegetação, concluiu que o alqueive seco, por um período de 96 dias, diminuiu a população de *P. brachyurus* em taxa similar à *C. spectabilis*. A redução da densidade populacional de *P. brachyurus* em função do preparo do solo pode ser atribuída ao aumento da velocidade de degradação das raízes nas quais o nematoide encontra abrigo, além da mortalidade por dessecação ou exposição direta ao sol (INOMOTO, 2008). No entanto, a gradagem aumenta a suscetibilidade do solo à erosão e a taxa de mineralização da matéria orgânica, o que contribui para a degradação da qualidade do solo ao longo do tempo. Já o alqueive químico não foi eficiente em reduzir a população de *P. brachyurus* (Figura 1 e 2), mostrando que, mesmo na ausência de hospedeiro vivo, esse nematoide é capaz de sobreviver nas raízes da soja em decomposição durante todo o período da entressafra.

A produtividade da soja foi maior nos tratamentos *C. spectabilis* + milho “ADR 300”, milho “ADR 300” e *C. spectabilis* em relação aos demais manejos, os quais não diferiram entre si (Figura 3). Apesar da menor população de *P. brachyurus* no bioensaio (Figura 1) e em raízes coletadas aos 60 DAS (Figura 2), a produtividade da soja obtida na *C. ochroleuca*, *C. juncea* e no alqueive mecânico foi menor comparativamente ao milho “ADR 300” e similar aos tratamentos pousio, alqueive químico, milho “GNZ 2005”, *C. spectabilis* + *B. ruziziensis*, *B. ruziziensis* e *B. brizantha* “Marandu”.



T1 = *Crotalaria spectabilis*; T2 = alqueive mecânico; T3 = *C. ochroleuca*; T4 = *C. juncea*; T5 = pousio; T6 = *C. spectabilis* + milho “ADR 300”; T7 = Alqueive químico; T8 = milho “GNZ 2005”; T9 = milho “ADR 300”; T10 = *C. spectabilis* + *Brachiaria ruziziensis*; T11 = *B. ruziziensis*; T12 = *B. brizantha* “Marandu”.

Figura 3. Produtividade da soja (cultivar M-Soy 9144RR) na safra 2012/2013, em função de diferentes manejos aplicados na entressafra. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Esses resultados revelam que a produtividade da soja neste experimento não foi determinada apenas pela densidade populacional de *P. brachyurus*, mas também por outros fatores influenciados pelos manejos adotados na entressafra. Embora não determinado neste trabalho, foi possível constatar visualmente que a cobertura do solo no momento da semeadura da soja foi menor no alqueive mecânico e no alqueive químico, em função do revolvimento solo e/ou ausência de plantas vivas durante a entressafra, e nas crotalárias, devido à rápida decomposição da fitomassa destas leguminosas. A menor cobertura do solo provavelmente resultou em maiores perdas de água por evaporação e, assim, em menor disponibilidade hídrica para a cultura, o que se constitui em um fator limitante à produtividade particularmente em solos arenosos caracterizados por uma baixa capacidade de retenção de água e onde os danos por *P. brachyurus* são maiores (DIAS et al, 2010). Esse efeito pode ter compensado as

maiores populações observadas nas braquiárias e no milho, diminuindo assim as diferenças de produtividade entre esses tratamentos. Por outro lado, o milheto “ADR 300”, embora não tenha sido a melhor opção para redução da população do nematoide, proporcionou maior cobertura do solo comparativamente às crotalárias, o que beneficiou o desenvolvimento da soja. Além disso, o milheto apresenta grande capacidade de ciclagem de potássio (SORATTO et al., 2012), o que é muito importante em solos de textura arenosa, com baixa capacidade de troca de cátions. Neste contexto, o consórcio *C. spectabilis* + milheto “ADR 300” constitui-se em uma prática promissora para reduzir a população de *P. brachyurus* e, ao mesmo tempo, produzir adequada cobertura do solo, garantindo assim maiores produtividades de soja em solos arenosos.

Conclusões

Os tratamentos *Crotalaria spectabilis*, alqueive mecânico, *C. ochroleuca*, *C. juncea* e *C. spectabilis* + milheto “ADR 300” resultaram em menor densidade populacional de *P. brachyurus* nas raízes da soja.

A magnitude dos danos à produtividade da soja não é determinada apenas pela densidade de *P. brachyurus*, mas também pelos efeitos do manejo adotado na entressafra sobre outros fatores.

O consórcio entre *C. spectabilis* e milheto “ADR 300” constitui-se em uma prática promissora para reduzir a população e os danos de *P. brachyurus* na soja.

Referências

ANTONIO, S. F.; MENDES, F. L.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; GOULART, A. M. C.; SILVA, J. F. V. Perdas de produtividade da soja em área infestada por nematoide das lesões radiculares em Vera, MT. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 6., 2012, Cuiabá. Soja: integração nacional e desenvolvimento sustentável: **anais**. Brasília, DF: Embrapa, 2012. 4 p. 1 CD-ROM.

BORGES, D. C. **Reação de culturas de cobertura utilizadas no sistema de plantio direto ao nematoide das lesões *Pratylenchus brachyurus* e ao nematoide das galhas, *Meloidogyne incognita***. 44 f. 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

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

DIAS, W. P.; ASMUS, G. L.; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Nematoides. In: ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S. (Ed.) *Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura*. Embrapa Soja: Londrina, 2010. p. 173-206.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v.6, p. 36-41, 2008.

INOMOTO, M. M. Importância e manejo de *Pratylenchus brachyurus*. **Revista Plantio Direto**, v.108, p. 4-9, 2008.

INOMOTO, M. M.; MACHADO, A. C. Z.; ANTEDOMÊNICO, S. R. Reação de *Brachiaria* spp. e *Panicum maximum* a *Pratylenchus brachyurus*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p. 341-344, 2007.

- INOMOTO, M. M. Avaliação da resistência de 12 híbridos de milho a *Pratylenchus brachyurus*. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 5, 308-312, 2011.
- MACHADO, A. C. Z.; MOTTA, L. C. C.; SIQUEIRA, K. M. S.; FERRAZ, L. C. C. B.; INOMOTO, M. M. Host status of green manures for two isolates of *Pratylenchus brachyurus* in Brazil. **Nematology**, v. 9, p. 799-805, 2007.
- MENDES, F. L.; ANTONIO, S. F.; DEBIASI, H.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; RAMOS JUNIOR, E. U.; SILVA, J. F. V. Manejo cultural do nematoide das lesões radiculares durante a entressafra da soja no Mato Grosso. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 6., 2012, Cuiabá. Soja: integração nacional e desenvolvimento sustentável: **anais**. Brasília, DF: Embrapa, 2012a. 4 p. 1 CD-ROM.
- RIBEIRO, N. R.; DIAS, W. P.; HOMECHIN, M.; SILVA, J. F. V.; FRANCISCO, A. Avaliação da reação de espécies vegetais ao nematoide das lesões radiculares. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 29., 2007, Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande: Uniderp: Embrapa Soja, 2007. p. 64-65.
- SILVA, G.S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J.M. Atração, penetração e desenvolvimento de larvas de *Meloidogyne javanica* em raízes de *Crotalaria* spp. **Nematologia Brasileira**, v.13, p. 151-163, 1989.
- SILVEIRA, P. M. da; RAVA, C. A. **Utilização de crotalária no controle de nematoides da raiz do feijoeiro**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 2 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Comunicado Técnico, 74).
- SORATTO, R., P.; CRUSCIOL, C. A. C.; COSTA, C. H. M.; FERRARI NETO, J.; CASTRO, G. S. A. Produção, decomposição e ciclagem de nutrientes em resíduos de crotalária e milheto, cultivados solteiros e consorciados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.1462-1470, 2012.
- WANG, K.H.; SIPES, B.S.; SCHMITT, D.P. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: a review. **Nematropica**, v.32, p. 35-57, 2002.

Controle biológico de lepidópteros-praga da soja com liberação de *Trichogramma pretiosum*

¹Barbosa, G.C.; ²Pomari, A. F.; ³Bortolotto, O.C.; ⁴Bueno, A.F.; ⁵Braga, K. B.; ⁶Queiroz, A.P.; ⁶Cruz, Y.K.S.; ⁶Sanzovo, A.W.

¹Centro Universitário Filadélfia; ²Universidade De São Paulo/Ffclrp; ³Universidade Federal Do Paraná; ⁴Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária-Cnpso, ⁵Universidade Norte Do Paraná; ⁶Universidade Estadual Do Norte Do Paraná; Embrapa Soja, Caixa Postal, 231, 86001-970, Londrina-Pr; agrogustavo2015@hotmail.Com

Introdução

Atualmente, um dos principais desafios para a produção de soja tem sido os lepidópteros desfolhadores da cultura. Dentre as principais espécies, destacam-se a lagarta-da-soja *Anticarsia gemmatalis* Hubner (Lepidoptera: Erebididae) e a falsa-medideira *Chrysodeixis includens* (Walker) (Lepidoptera: Noctuidae). O ataque desses desfolhadores em soja pode reduzir significativamente a área foliar da cultura e conseqüentemente a sua produtividade (Sujii et al., 2012).

A espécie *C. includens* adquiriu importância econômica recentemente (meados da década de 2000), e atualmente tem acarretado prejuízos significativos na produção de soja em anos que favorecem o seu desenvolvimento. Por essa razão, o controle químico tem sido basicamente a única medida de controle adotada, porém o seu uso muitas vezes sem critério (produtos não seletivos, aplicações de calendário, momento inadequado de aplicação, entre outros) tem ocasionado no aumento da problemática da praga. Uma das razões disso pode ser a redução populacional de inimigos naturais que atuam livremente no agroecossistema e podem auxiliar na supressão desses lepidópteros-praga da soja (Carvalho-Coelho et al., 2012).

Assim, a utilização isolada do uso de inseticidas para o controle de pragas tem um grande impacto ambiental, com contaminação do ambiente e intoxicação do homem (PICANÇO & GUEDES, 1999). Neste contexto, se faz necessário a busca por novas alternativas para o controle dessas pragas. Nesse sentido, dentro do manejo integrado de pragas, a liberação de parasitoides tem sido uma tática de controle bastante promissora (Carvalho-Coelho et al., 2012). O parasitoide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) tem sido recomendado por diversos estudos, porém em condições de campo ainda precisa de maiores pesquisas para avaliar a sua eficiência. De acordo com Parra & Zucchi (2004) esse parasitoide apresenta uma alta agressividade, além de ser relativamente fácil de ser criado, o que potencializa a recomendação desse inimigo natural para a regulação populacional de pragas. Desse modo, objetivou-se avaliar o controle biológico de lepidópteros-praga da soja com liberação de *T. pretiosum*.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido em uma lavoura de soja localizada na fazenda experimental da Embrapa Soja, Londrina – PR, durante a safra 2012/2013. A cultivar utilizada foi BRS 295 semeada em 27/10/2012. Foi utilizado o espaçamento de 0,40 m entre linhas. O delineamento

experimental foi de blocos ao acaso com três tratamentos e quatro repetições. Cada unidade experimental (parcela) apresentou a dimensão de 20 x 20m, totalizando uma área de 400 m², distanciadas em 8 metros. No entorno de cada parcela, a área foi mantida no limpo sem vegetação espontânea que foi eliminada por roçagem e dessecação, a fim de isolar as parcelas e evitar a dispersão dos parasitoides para parcelas circunvizinhas.

Os tratos culturais (aplicação de herbicidas e fungicidas) foram padronizados em todos os tratamentos. No total foram realizadas 1 aplicação de herbicida (03/12/2012) e duas de fungicidas (07/01/2013 e 01/02/2013). Os tratamentos do estudo foram a testemunha (sem controle de insetos), controle biológico (liberação de *T. pretiosum*) e “produtor” (aplicação de inseticida por calendário, junto aos outros tratos culturais).

No controle biológico foi realizada a liberação semanal de *T. pretiosum* colocando-se em quatro pontos distanciados igualmente (Zachrisson & Parra, 1998) potes plásticos com cartelas de onde emergiram os parasitoides com no máximo 24 horas de idade. A quantia utilizada foi de aproximadamente 10 mil vespas em cada parcela. Quando a praga atingiu o nível de controle, foi realizada uma aplicação de inseticida acelerador de ecdise. O controle químico foi realizado seguindo o manejo comumente utilizado pelo produtor. Assim sendo, foram realizadas três aplicações utilizando os inseticidas: Karate (i.a. lambda-cialotrina) (15ml/ha), Engeo (i.a. Tiametoxam) (250ml/ha) e Intrepid (i.a. Metoxifenoza) (90ml/ha). As aplicações foram realizadas compreendendo os estádios V6, R2 e R4.

Para o monitoramento das lagartas desfolhadoras, foram realizadas quatro amostragens (pano de batida) em cada parcela, quantificando-se as lagartas (grandes e pequenas) em soja. A avaliação ocorreu com frequência semanal, compreendendo todo o ciclo de desenvolvimento da cultura (emergência até ponto de colheita) (escala fenológica de Fehr & Caviness, 1977). Apesar do objetivo do trabalho ser com *A. gemmatilis* e *C. includens*, todas as demais espécies de lagartas foram identificadas em nível de espécie, exceto as lagartas da subfamília Heliiothinae, devido a sua complexidade. Paralelamente, também se quantificou os predadores presentes no pano de batida, com a finalidade de comparar a abundância desses inimigos naturais nos diferentes tratamentos. No centro de cada parcela, para avaliação da produtividade, foi demarcada uma área de 25 m², onde não foram realizadas as avaliações, para evitar o amassamento da cultura. Para comparar a produtividade considerou-se uma área de 5 m de comprimento e seis linhas da cultura da soja. Após a colheita, a umidade dos grãos foi corrigida para 13%, e estimou-se a produtividade em Kg/ha. Os resultados foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos, a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram então comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) para a comparação populacional de lagartas e da produtividade (SAS Institute 2001). Devido a menor abundância de predadores, a sua análise foi realizada agrupando-se o total quantificado durante o ciclo da cultura e foi utilizado o teste não paramétrico Qui-quadrado para proporções esperadas iguais (Bioestat 5.0).

Resultados e Discussão

Nesse estudo, de forma geral, foram registradas seis espécies de lagartas desfolhadoras, além da subfamília Heliiothinae, que engloba os gêneros *Heliiothis* e *Helicoverpa*. A espécie mais abundante foi *A. gemmatilis*, com 91% da abundância total, enquanto *C. includens* teve representação de 6%, e as demais foram representadas pelo complexo *Spodoptera* e Heliiothinae. A população de lagartas desfolhadoras ficou abaixo do nível de controle (20 lagartas/pano) até o estágio R1 da cultura da soja, independente do tratamento avaliado (Tabela 2). Nesse caso, esse resultado demonstra que o monitoramento das lavouras deve ser

sempre realizado, pois muitas vezes a adoção de controle químico é desnecessário, em razão da “calendarização” deste método de controle. Mesmo quando considerado o total de lagartas (Tabela 1), o pico populacional da praga não foi abaixo de 6 lagartas por pano, mesmo na testemunha. O correto manejo da lavoura, como adoção do método de controle traz inúmeras vantagens ao produtor, como a questão econômica (menor uso de inseticidas), preservação de inimigos naturais e menor impacto ambiental.

Tabela 1. Número médio \pm EP de lagartas coletadas no método de amostragem com pano de batida na cultura da soja. Londrina, safra 2012/13.

Tratamentos	Estádio fenológico da soja								
	V6	V6-7	V7	R1	R2	R4-5	R5	R5-6	R6
Testemunha	0,19 \pm 0,06	3,38 \pm 0,66	5,50 \pm 0,87	21,50 \pm 1,36	45,50 \pm 1,46 a	27,88 \pm 3,08 a	6,75 \pm 1,33	2,25 \pm 0,36	0,13 \pm 0,12
Controle Biológico	0,63 \pm 0,26	2,81 \pm 0,63	4,13 \pm 0,63	21,37 \pm 2,29	45,50 \pm 3,23 a	7,81 \pm 0,81 b	5,13 \pm 1,54	2,63 \pm 0,51	0,31 \pm 0,16
Produtor	0,38 \pm 0,13	2,00 \pm 0,57	3,25 \pm 0,61	24,43 \pm 1,22	12,68 \pm 1,04 b	8,81 \pm 2,06 b	7,88 \pm 2,43	3,25 \pm 0,75	0,06 \pm 0,06
CV (%)	100,41	45,61	35,54	8,48	6,91	17,98	50,46	26,06	139,19
P-valor	n.s	n.s	n.s	n.s	< 0,01	< 0,05	n.s	n.s	n.s
GL resíduo	6	6	6	6	6	6	6	6	6
F	1,21	1,05	2,21	0,78	78,4	6,14	0,26	0,31	1,25

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns}ANOVA não significativa.

Tabela 2. Número médio \pm EP de lagartas grandes (> 1,5 cm) quantificadas com o uso do pano de batida na cultura da soja. Londrina, safra 2012/13.

Tratamentos	Estádio fenológico da soja								
	V6	V6-7	V7	R1	R2	R4-5	R5	R5-6	R6
Testemunha	0,00 \pm 0,00	1,00 \pm 0,25	2,88 \pm 0,30 a	9,12 \pm 1,22	26,13 \pm 1,58 a	22,69 \pm 2,80 a	5,06 \pm 1,12 a	0,88 \pm 0,28	0,08 \pm 0,06
Controle Biológico	0,25 \pm 0,18	0,81 \pm 0,33	2,25 \pm 0,27 ab	8,81 \pm 1,42	21,88 \pm 1,60 a	5,88 \pm 0,39 b	3,25 \pm 0,41 b	0,56 \pm 0,10	0,00 \pm 0,00
Produtor	0,13 \pm 0,13	0,13 \pm 0,07	1,62 \pm 0,26 b	9,31 \pm 0,77	7,00 \pm 0,70 b	3,38 \pm 1,63 b	1,38 \pm 0,66 b	0,25 \pm 0,16	0,00 \pm 0,00
CV (%)	206,92	81,86	24,85	28,69	15,47	29,3	44,79	59,72	-
P-valor	n.s	n.s	< 0,05	n.s	< 0,01	< 0,01	< 0,05	n.s	n.s
GL resíduo	6	6	6	6	6	6	6	6	6
F	0,91	3,03	5	0,03	50,16	45,36	5,14	3,46	-

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns}ANOVA não significativa.

As lagartas atingiram o nível de controle apenas a partir do estágio R2, quando mesmo no tratamento de controle biológico verificou-se infestação populacional acima do nível de controle (20 lagartas/pano). Por esse fato, foi adotado o controle químico com Intrepid 240 SC (i.a. Metoxifenoizida) nas parcelas com liberação de *T. pretiosum*, uma vez que os parasitoides não conseguiram manter a população da praga dentro do nível tolerável. Assim, na avaliação seguinte (estádio R4-5) a população de lagartas por pano e batida caiu para menos de seis lagartas/pano, não diferindo do tratamento “produtor”. A eficiência da aplicação foi comprovada devido o contraste com a população da praga na testemunha, onde o nível populacional de lagartas permaneceu elevado, acima de 20 lagartas/pano. Esses resultados pressupõem que o parasitoide de ovos *T. pretiosum* não apresenta boa capacidade de parasitismo em campo. Dentre as razões, pode ser a baixa mobilidade do parasitoide, aliado aos fatores climáticos que também podem interferir que o mesmo possa atuar de maneira efetiva na supressão das pragas.

A partir do estágio R5 a população da praga foi baixa novamente em todos os tratamentos, sem diferir estatisticamente entre si. A queda brusca no intervalo de uma semana deve-se as chuvas constantes, que ocasionaram um número muito elevado de lagartas infectadas por *Nomuraea*, tornando desnecessário assim, a adoção de outras formas de controle de pragas. A presença de fungos entomopatogênicos impede que a população de *A. gemmatilis* atinja o nível de dano econômico, evitando assim a aplicação de inseticidas contra essa praga. Nas culturas de soja do centro-sul do Brasil, *N. rileyi* por exemplo, pode causar epizootias em populações de *A. gemmatilis* (Faria et al., 1993). Porém, a ocorrência de períodos de baixa precipitação, geralmente observada nos meses de janeiro e fevereiro pode impedir que este fenômeno ocorra a tempo de evitar que as populações desta praga atinjam o nível de dano econômico (Tigano-Milani et al., 1995).

O uso de entomopatógenos é uma alternativa muito eficiente para a supressão populacional de pragas. No caso da lagarta-da-soja, a aplicação de baculovírus *AgMNPV* já foi amplamente difundido pelos sojicultores, porém atualmente está em desuso. No presente estudo, verificou-se que em um cenário similar, seria uma ferramenta adicional, visto que a população de *A. gemmatalis* foi superior a 90% do total dos lepidópteros-praga.

Em relação à produtividade, o tratamento produtor foi o que apresentou os melhores resultados, diferindo do controle biológico e da testemunha (Tabela 3). O tratamento controle biológico, apesar de ter produzido menos que o produtor, teve 1119 kg de soja a mais do que a testemunha. Nesse quesito, recomenda-se que sejam feitos estudos adicionais, para comparar o custo de produção entre o controle biológico e o manejo do produtor, de forma a ficar de melhor compreensão essa relação custo-benefício. O tratamento de controle biológico também verificou-se maior abundância de predadores (Tabela 4), não diferindo da testemunha, mas ambos foram superiores ao manejo "produtor". Os principais predadores encontrados foram os aracnídeos e o percevejo *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae), que representaram mais de 80% do total (dados não apresentados). A razão para essa diferença, com menor abundância de inimigos naturais no manejo produtor pode ser em justificada pelo uso de inseticidas que prejudicam os inimigos naturais e/ou pela relação da menor abundância de presas, o que caracterizaria uma relação de denso-dependência.

Tabela 3. Produtividade média \pm (EP) de soja nos tratamentos. Londrina, safra 2012/13.

Tratamentos	Produtividade kg (ha)
Testemunha	2816,5 \pm 193,24 c
Controle biológico	3935,0 \pm 92,83 b
Produtor	4750,0 \pm 310,87 a
CV (%)	8,2
P-valor	< 0,01
GL resíduo	6
F	38,17

¹Médias \pm EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). ^{ns}ANOVA não significativa.

Tabela 4. Comparação populacional do total de artrópodes predadores na cultura da soja. Londrina, safra 2012/13.

Tratamentos	Predadores Total
Testemunha	131 (42%) a
Controle biológico	106 (34%) a
Produtor	78 (24%) b
P-valor	< 0,01
GL resíduo	6

Teste qui-quadrado para proporções esperadas iguais

Conclusão

Assim, nesse trabalho, verificou-se que a liberação de *Trichogramma* pode ser uma ferramenta complementar na supressão de lepidópteros-praga em soja, visando principalmente a redução no uso de inseticidas. Entretanto, a adoção única dessa forma de controle não é satisfatória para manter a população de lagartas abaixo do nível de controle, o que irá refletir em menor rendimento por parte do produtor.

Referências

- CARVALHO, L.C.; FERREIRA, F. M.; BUENO, N.M.; **IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E GENERALIDADES PARA O CONTROLE DA LAGARTA FALSA-MEDIDEIRA NA CULTURA DA SOJA**. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Volume 8, N° 15, 2012. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012b/ciencias%20agrarias/importancia%20economica.pdf>> Acesso em 24 de Abril. 2013.
- FARIA, M. R.; TIGANO-MILANI, M. S.; LECUONA, R. E. Incidência natural de *Nomuraea rileyi* Farlow em população de *Anticarsia gemmatalis* Huebner no Distrito Federal. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 22, p. 385-388, 1993.
- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. AMIS: Iowa Station University of Science and Technology, 1977. 11p. (Special Report, 80).
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GÓMEZ, D.R. S; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D. OLIVEIRA, E.B. Pragas de soja no Brasil e seu manejo integrado. Londrina: Embrapa Soja, 2000. 79p (Embrapa Soja. Circular Técnica, 30).
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. Trichogramma in Brazil: Feasibility of use after twenty years of research.. Neotropical Entomology, Londrina, v. 33, n. 3, p. 271-281, 2004
- PICANÇO, M.C.; GUEDES, R.N.C. Manejo integrado de pragas no Brasil: situação atual, problemas e perspectivas. Ação Ambiental, Brasil, v.2, n.4, p.23-26, 1999.
- SUJII, E.R. et al. CONTROLE BIOLÓGICO DE INSETOS-PRAGA NA SOJA ORGÂNICA DO DISTRITO FEDERAL. Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília, v.19, n.2, p.299-312, maio/ago. 2002 Disponível em: <http://webnotes.sct.embrapa.br/pdf/cct/v19/cc19n2_06.pdf> Acesso em 24 de Abril. 2013.
- TIGANO-MILANI, M. S.; FARIA, M. R.; LECUONA, R. E.; SARTORI, M. R.; ARIMA, E. Y.; DIAZ, B. M. Análise de patogenicidade e germinação do fungo *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson isolado no Distrito Federal. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 24, p. 53-60, 1995.
- ZACHRISSON, B.; PARRA, J.R.P. Capacidade de dispersão de *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 para o controle de *Anticarsia gemmatalis* hübner, 1818 em soja. **Scientia Agricola**, v.55, n.1, p. 72-77, 1998.

Avaliação da Distribuição Espacial de *Euschistus heros* pelo Método da *Krigagem Ordinária*.

¹Santos, J.A. Dos, ²Oliveira, M.C.N. de, ²Roggia, S.

¹Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP) - campus Cornélio Procópio, ²Embrapa Soja, Londrina, PR. / jaqueline_j.a.s@hotmail.com.

Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma das principais culturas do agronegócio brasileiro sendo importante para a abertura e manutenção do seu mercado a melhoria constante da sua qualidade e do seu rendimento (HIRAKURI et al., 2011). Segundo dados da Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB (2013) a produção estimada para a safra atual 2012/2013 está em 82,06 milhões de toneladas, isto é 23,6%, ou 15,68 milhões de toneladas superiores ao volume produzido em 2011/12, tornando-se o maior produtor mundial nesta safra.

Um dos desafios para a pesquisa é que a produtividade seja máxima, para isso é necessário solucionar vários pontos cruciais para atingir esses objetivos. Um dos mais importantes é a ocorrência das pragas e doenças da soja. Na cultura da soja são encontradas várias espécies de pragas na cultura da soja, entre elas estão os percevejos pentatomídeos *Euschistus heros* (Fabricius), *Piezodorus guildinii* (West.) e *Nezara viridula* (L.), caracterizados por atacarem diretamente as vagens e grãos da cultura, podendo inutilizar as sementes ou reduzir sua viabilidade. (CORRÊA-FERREIRA et al., 2003). Com o aumento gradual da produção de soja, diversas alternativas e estratégias de manejo de pragas vem sendo criadas visando sempre maior qualidade e rendimento da produção. Com o avanço das tecnologias, diversas práticas tecnológicas também vêm sendo adaptadas e utilizadas na agricultura para melhorar as condições de produção, seja ela na área agrônômica, seja na seleção das técnicas experimentais como a geoestatística. A aplicação da geoestatística em dados entomológicos vem sendo utilizada com auxílio do georreferenciamento. Para a análise dos dados, considerando que não há um padrão espacial e que a partir de delineamentos estatísticos formais não pode ser obtida, a dependência espacial deve ser avaliada pelo método geoestatístico (COCHRAN & COX, 1957, OLIVEIRA, 2003). A ferramenta que verifica a existência desta dependência é o semivariograma (VIEIRA et al., 1983). A simulação dos dados nos locais onde não foram amostrados foi realizada pelo método da krigagem ordinária.

O objetivo do presente trabalho é auxiliar no planejamento de medidas e ações mais eficientes de manejo e controle de pragas, por meio da medição da distribuição espacial de percevejos da espécie *Euschistus heros* (F.) na área com cultivo de soja com as ferramentas geoestatísticas.

Material e Métodos

1-Local experimental

Os dados utilizados nesse estudo foram coletados no campo experimental da Embrapa Soja no Distrito de Maravilha (Londrina-PR), com as coordenadas " 23° 28' 44" S; 50° 59' 03" O, e altitude média de 465 m, com área de aproximadamente 3,38 ha. Foram realizadas quatro amostragens com pano de batida para a coleta de percevejos da espécie *Euschistus heros* (Fabricius) e nessa amostragem foram consideradas as ninfas grandes e adultos, as quais não são mais

prejudiciais para a cultura da soja. A coleta ocorreu em 09/03/2011, estando a soja em R6. Na área experimental foram amostrados e georreferenciados 338 pontos numa grade de 10 X 10 m. Foi utilizado nesta coleta o aparelho GPS de navegação marca Garmin, modelo MAP 62. O mapa amostral antes da retirada dos *outliers* (Figura 1).

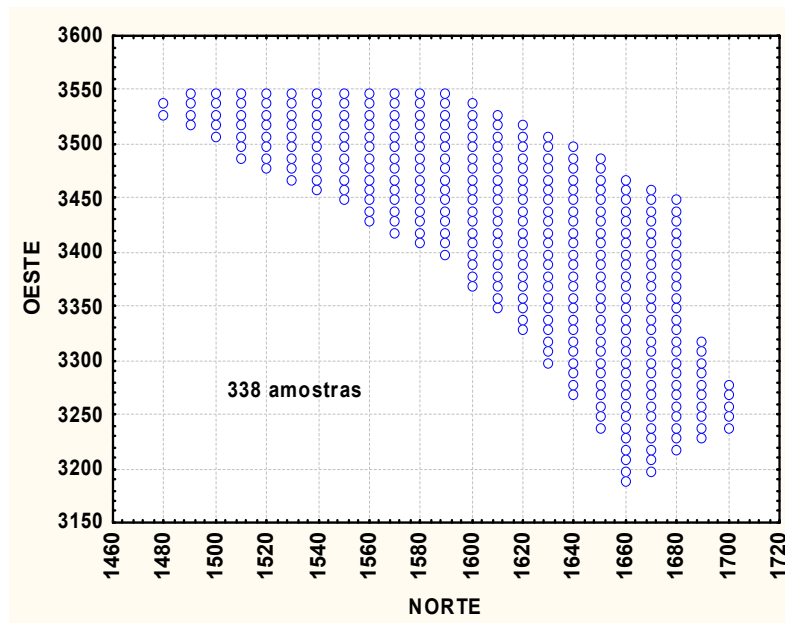


Figura 1. Mapa de amostragem em malha regular com 338 amostras na presença de outliers para a distribuição espacial de *Euschistus heros*.

2-Métodos exploratórios

Pelo programa SAS-Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 2001) foram realizadas as estatísticas descritivas como: a média, a mediana, os coeficientes de assimetria, de curtose, de variação e o teste de normalidade Shapiro-Wilk (1965). Os gráficos como: o *boxplot*, a carta de controle e histograma de frequência foram elaborados pelo software Statistica versão 7.1, (2001) para detectar dados discrepantes ou *outliers* que podem invalidar as respostas da pesquisa e avaliar a distribuição da praga da soja. No *boxplot* são apresentadas as estatísticas como: a mediana (q_2), os quartis inferior e superior (q_1 , q_3) e a diferença entre estes quartis (intervalo interquartil). O ponto central da caixa do *boxplot* é a mediana dos dados. Valores que estão acima e abaixo das linhas do *boxplot* são determinados como *outliers*.

3-Métodos geoestatísticos

Além destes softwares foram também utilizados o Geoest (VIEIRA, 2010) e o Surfer v. 9 para plotar as superfícies obtidas pelo método de krigagem ordinária. Após realizada a análise exploratória e retirados os *outliers* foi aplicado os métodos geoestatísticos com as ferramentas da *krigagem* ordinária, semivariograma ajustado ao melhor modelo e mapa da *krigagem* da área amostrada. O semivariograma é uma função matemática definida para apresentar o nível de dependência entre duas variáveis aleatórias regionalizadas locais e, para exemplificar, pode ser o grau de continuidade dos percevejos em campos experimentais. Ele é usado para modelar dois valores correlacionados no espaço ou no tempo e é pré-requisito para a *krigagem*. A modelagem do semivariograma pode ser ajustada em diferentes estruturas de correlação espacial (OLIVEIRA, 2003). O método mede a variação ou discrepância entre pares de valores separados por uma distância determinada h , nele é possível observar que essa dependência será tanto maior quanto menor for a distância entre os pontos. Resume as nuvens de pontos ($z(x)$, $z(x+h)$) pela média do quadrado das diferenças entre $z(x)$ e $z(x+h)$, para vários valores de h . O semivariograma, pode ser definido matematicamente como:

$$\gamma(h) = \frac{1}{2n(h)} \sum_{i=1}^{n(h)} [Z(x_i) - Z(x_{i+h})]^2$$

em que:

$Z(x_i)$ é o valor observado da variável x no ponto i ;

$Z(x_{i+h})$ é o valor observado da variável x no ponto $i+h$ e,

$n(h)$ é o número de pares distanciados a uma distância h .

Sendo assim, para o estudo geoestatístico o número de percevejos da espécie *Euschistus heros* foram avaliados pelos semivariogramas com estrutura de covariância exponencial (1), esférico (2) e gaussiano (3) e podem ser apresentados abaixo:

$$\gamma(h) = \begin{cases} \frac{C(0) + C \left[\frac{3}{2} \frac{h}{a} - \frac{1}{2} \left(\frac{h}{a} \right)^3 \right]}{C(0) + C}, & h \leq a \\ C, & h > a \end{cases} \quad (1) \quad \gamma(h) = \begin{cases} \frac{C(0) + C [1 - e^{-\frac{h}{a}}]}{C(0) + C}, & h \leq a \\ C, & h > a \end{cases} \quad (2)$$

$$\gamma(h) = \begin{cases} \frac{C(0) + C [1 - e^{-\left(\frac{h}{a}\right)^2}]}{C(0) + C}, & h \leq a \\ C, & h > a \end{cases} \quad (3)$$

A *krigagem* ordinária é um método que utiliza o semivariograma formado pelas variâncias amostrais dos pares de variáveis e suas respectivas distâncias. Para descrever a dependência espacial e a escolha de um modelo geoestatístico para estimar valores em locais não amostrados, ou seja, interpola valores com as condições de considerando considera a estrutura de variabilidade espacial encontrada para o atributo, sendo definida pela equação $\hat{Z}_i = \sum \lambda_i * Z_i$ em que: \hat{Z}_i é o valor interpolado; λ_i o peso atribuído aos valores amostrados; Z_i é o valor do atributo amostrado; n é o número de localidades vizinhas empregadas para interpolação do ponto, sendo que o somatório dos pesos λ_i deve ser igual a um.

Resultados e Discussão

Na análise exploratória observou-se para o número de percevejos da espécie *Euschistus heros*, que na retirada de outliers os valores de assimetria e curtose foram 0,36 e 0,68 na análise com 330 observações e 0,52 e -0,02 com 320 observações, Já na análise com presença de outliers (338 observações) esse valores foram 2,05 e 9,86. Também foi possível observar que na retirada de outliers o valor do coeficiente de variação das análises com 330 e 320 observações (25,62 e 22,99) apresentaram diminuição em relação ao coeficiente (32,06) da análise com presença de outliers. Nas três situações (338, 330 e 320 observações) os dados não apresentaram normalidade (Tabela 1). No entanto é importante ressaltar que não se deve desconsiderá-las e o bom senso deve prevalecer, pois é comum a ausência de normalidade em dados de distribuição populacional de insetos (Figura 2).

As cartas de controle permitiram detectar os valores discrepantes da mesma forma que o Boxplot (Figura 3 A, B, C e D). Há casos em que a carta de controle é mais precisa em detectar *outliers*. Com 338 observações pode-se observar a presença de *outliers* fora dos limites superiores e inferiores do patamar da carta de controle (A). No gráfico B com a retirada de oito *outliers* é possível observar que ainda há outliers fora dos limites do gráfico.

Tabela 1. Estatísticas descritivas para o número de percevejos (*Euschistus heros*) na presença e ausência de outliers, provenientes da amostragem realizada em 09/03/2011, na Fazenda Maravilha, Embrapa Soja.

Testes estatísticos ¹	Dados Originais	Sem 8 outliers	Sem 18 outliers
Tamanho da Amostra	338	330	320
g_1 = Coeficiente de Assimetria	2,05	0,36	0,52
g_2 = Coeficiente de Curtose	9,86	0,68	-0,02
Média	12,08	11,72	11,64
Mediana	11,50	11,50	11,50
Moda	11,50	11,50	11,50
CV= Coeficiente Variação (%)	32,06	25,62	22,99
Shapiro-Wilk	W=0,862 Pr<W=0,00	W=0,972 Pr<W=0,00	W=0,973 Pr<W=0,00

¹A estatística W deve ser não significativa para obtenção de distribuição normal. g_1 = Coeficiente de assimetria; g_2 = Coeficiente de curtose e CV = Coeficiente de variação.

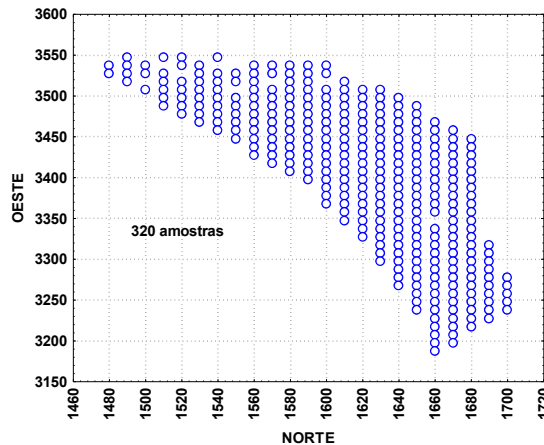


Figura 2. Mapa de amostragem em malha regular com 320 amostras na ausência de *outliers* para a distribuição espacial de *Euschistus heros*.

O analista deve se preocupar se os valores detectados como dados discrepantes se os mesmos não são os objetivos da pesquisa, cuidado e bom senso e integração com o pesquisador é de grande importância. No entanto, no gráfico C já não se observam dados fora do patamar da carta de controle, nesse gráfico foram retirados 18 outliers. Este fato indica que a distribuição populacional não foi uniforme no campo experimental.

Avaliou-se se a contagem de percevejos apresenta dependência espacial e que modelo permitirá avaliar o mapa espacial indicando a estratégia dos insetos para entrar na área experimental na cultura de soja. Além destes procedimentos há também a necessidade de retirar algum efeito ou tendência que interfira na dependência espacial dos dados georreferenciados e neste caso foi retirada a tendência quadrática (Tabela 2).

Com a aplicação da geoestatística os resultados indicaram que o modelo gaussiano foi o que melhor ajustou aos dados se considerarmos que obteve maior valor do coeficiente de determinação (R^2), menor quadrado médio do erro, o ajuste do modelo passa pelos primeiros valores iniciais e o alcance amostral de 69 metros. Nos próximos estudos não são mais necessários que sejam de 10 em 10 metros e sim em torno de 69 metros como obtidos pelo ajuste da estrutura de covariância gaussiana (Tabela 3 e Figura 4). Na região de estudo observou-se que a maior quantidade de percevejos entram pela região próxima da estrada região leste superior e número menores entram por todas as regiões amostradas (Figura 5).

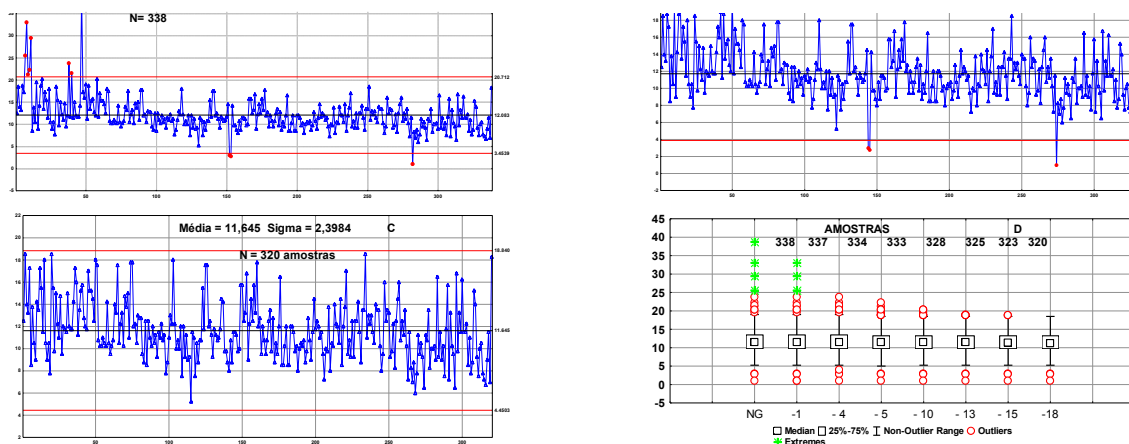


Figura 3. Cartas de controle para a distribuição espacial de *Euschistus heros*, com outliers-338 amostras (A), com 330 (B) e sem a presença de outliers com 320 (C), (IC de 3σ ; -3σ). Boxplot com 338 a 325 (c/outliers) e 320 amostras (s/outliers) (D).

Tabela 2. Estimativas dos parâmetros geoestatísticos, coeficiente de determinação e quadrado médio para a variável número de insetos da espécie *Euschistus heros* retirando tendência quadrática.

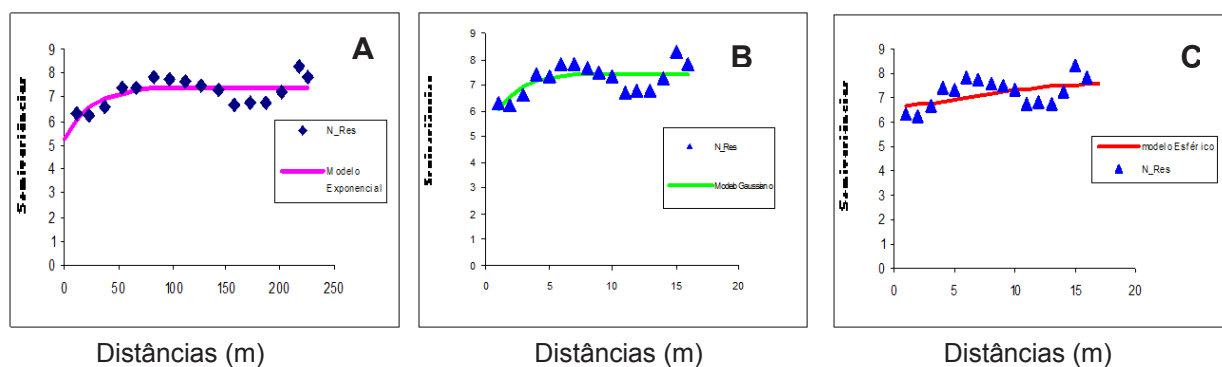
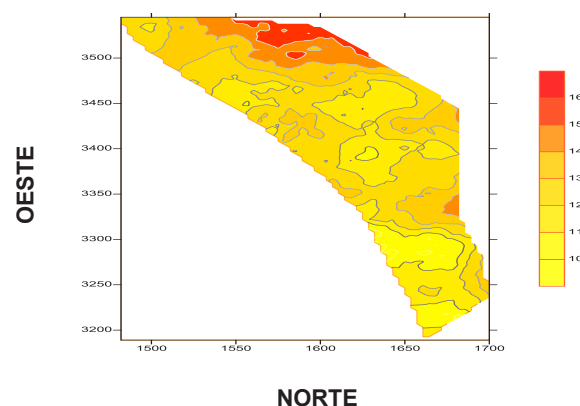
Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	Teste F
Regressão	5	402,1	401,000	62,80
Desvio	314	2005,0	6,385	
Total	319	2407,0		

Coeficiente de Determinação do Ajuste (R^2)= 0,1671

Coeficiente de Correlação (R) = 0,4087

Tabela 3. Estimativas dos parâmetros geoestatísticos, coeficiente de determinação e quadrado médio do erro para a variável número de insetos da espécie *Euschistus heros*.

Modelos	Efeito Pepita	Patamar	Alcance	Coeficiente de Determinação	Quadrado Médio
	(τ^2)	(σ^2)	(ϕ)	R^2	do erro
Exponencial	5,22726	2,20786	74,90995	0,42966	0,02556
Gaussiano	6,00158	1,43224	69,71731	0,47615	0,02411
Esférico	6,65119	0,90967	235,57541	0,23087	0,03128

**Figura 4.** Semivariogramas utilizando os modelos Exponencial (A), modelo Gaussiano (B) e modelo Esférico (C), para ajustar aos dados georreferenciados de contagem de insetos de *Euschistus heros* no período de 09/03/11.**Figura 5.** Mapa realizado com a krigagem ordinária ajustado pelo modelo gaussiano aos dados de *Euschistus heros*.

Conclusões

- os dados de contagem de percevejos da espécie *Euschistus heros* apresentam dependência espacial;
- a análise exploratória é eficiente para detectar valores discrepantes;

- por meio de mapa obtido pela *krigagem* ordinária é possível detectar a entrada de percevejos na área experimental e a região com cores mais fortes indicam maior infestação, permitindo detectar se algum fator externo contribuiu para a entrada de percevejos.
- com a aplicação dos métodos geoestatísticos é possível reduzir o número de amostras e o custo do experimento, em áreas georreferenciadas na pesquisa com insetos-pragas.

Referências

- COCHRAN, W.G.; COX, G. **Experimental Designs**. 2 ed. John Wiley, New York, 1957. 11p.
- COMPANHIA NACIONAL DO ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos safra 2012/2013**. Março, 2013. p. 20. 6º levantamento.
- CORRÊA-FERREIRA, B.S. (Org.). **Soja Orgânica. Alternativas para o manejo dos insetos-pragas**. Embrapa Soja, Londrina 2003. 83 p. il. Autores: Antonio Garcia; Flávio Moscardi; Beatriz Spalding Corrêa-Ferreira; Wilsimar Adriana A. Peres; Antonio Ricardo Panizzi; Lenita Jacob Oliveira; Clara Beatriz Hoffmann-Campo; Daniel Ricardo Sosa-Gomez; Décio Luiz Gazzoni.
- HIRAKURI, M.H.; OLIVEIRA, A.B. de; TAVARES, L.C.V.; SEIXAS, C.D.S.; PASTORE, A. **Avaliação econômica do cultivo orgânico de soja no Estado do Paraná para a safra 2010/2011**. Londrina: Embrapa Soja, 2011.9p.il.(Embrapa Soja. Circular técnica, 85).
- NETO, E.A.R. **Uso de geoestatística no estudo espacial de dados e propriedades físicas em solos hidromórficos**. UEL, Londrina. Especialização em estatística experimental, 2009.
- OLIVEIRA, M.C.N. de, CORRÊA-FERREIRA, B.S. Diagnóstico exploratório na análise de dados entomológicos: efeito do diflubenzurom no consumo alimentar de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. Dezembro, 1998. p. 627-637, v. 27(4).
- OLIVEIRA, M.C.N. de. **Métodos de estimação de parâmetros em modelos geoestatísticos com diferentes estruturas de covariância: uma aplicação ao teor de cálcio no solo**. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Tese (Doutorado), 2003.183p.
- SSAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. 6. ed. Cary, 2001. SAS Institute, 2000. 291p, v. 8.2.
- SHAPIRO, S.S.; Wilk, M.B. "An analysis of variance test for normality". *Biometrika*. 52:591-611. 1965
- STATSOFT, INC. **STATISTICA for windows (Computer program manual)**.Tulsa, Oklahoma, USA, 2001.
- SURFER. **Surfer: surface mapping system**. Marc, 2010.
- VIEIRA, S. R. **Curso de Geoestatística**. Curso ministrado na Embrapa Soja, Dezembro, 2010.
- VIEIRA, S.R.; HATFIELD, J.L.; NIELSEN, D.R. & BIGGAR, J.W. **Geoestatistical theory and application to variability of some agronomical properties**. Hilgardia, Berkeley, 1983. 51(3):1-75.

Efeito da soja Bt sobre a frequência e densidade populacional de pragas e predadores.

FAZAM, J.C.¹; SISMEIRO, M.N.S.¹; ROGGIA, S.²; PASINI, A.¹; TURA, G.M.³; VISENTINI, A.³; VIEIRA, A.C.¹; SILVA, J.E.P. da⁴; LOPES, G.H.¹ | ¹ Universidade Estadual de Londrina; ² Embrapa Soja; ³ Escola Estadual Técnica Fronteira Noroeste; ⁴ Universidade Estadual Paulista – São José do Rio Preto.

Introdução

A cultura da soja apresenta diversas espécies de artrópodes causadores de danos, que conseqüentemente ocasionam a redução da produtividade das lavouras ou diminuição da qualidade de grãos e sementes (GALLO et al., 2002; SOSA-GOMÉZ et al., 2006). Com o objetivo de minimizar os problemas decorrentes do ataque de insetos na cultura da soja e disciplinar a utilização de inseticidas, implementou-se o Manejo Integrado de Pragas (MIP-Soja), que preconiza a utilização integrada de diversas táticas de controle.

Uma dessas estratégias utilizadas no MIP é a tecnologia de plantas geneticamente modificadas (transgênicas) tolerantes a pragas. Atualmente, as plantas transgênicas tolerantes a lagartas contêm genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) que codificam toxinas letais para determinados grupos de insetos. As plantas Bt apresentam um potencial de minimizar perdas causadas por insetos-praga, principalmente da ordem Lepidoptera, bem como, reduzir a utilização de inseticidas.

Entretanto, o uso desta tecnologia proporciona alguns questionamentos quanto ao seu impacto sobre organismos benéficos nos agroecossistemas e também a evolução de resistência de insetos praga às proteínas de Bt, devido a sua expressão ocorrer em toda a planta durante todo o ciclo da cultura. Este trabalho tem por objetivo avaliar comparativamente a frequência e a densidade populacional acumulada de insetos fitófagos e de artrópodes predadores, em campos de soja não-transgênica, RR e Bt.

Material e Métodos

O experimento foi instalado na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, localizada na região do norte do Paraná. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é do tipo subtropical úmido (Cfa). A média anual da temperatura é de 20,9°C e da precipitação é de 1.615 mm.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso com oito repetições. Os tratamentos consistiram de três genótipos de soja, uma cultivar não-transgênica (BRS 284) e duas linhagens transgênicas RR e Bt RR2. Ambas as linhagens são necessariamente derivadas da cultivar BRS284. A linhagem RR contém o gene cp4-epsps que confere tolerância ao herbicida glifosato. A linhagem Bt RR2 contém o gene cry1Ac que confere tolerância as principais espécies de lagartas pragas da soja. O manejo fitossanitário nestes cultivos foi realizado de acordo com as recomendações técnicas para cada tipo de genótipo, obedecendo aos preceitos do manejo integrado de pragas da soja. Os produtos aplicados para o manejo fitossanitário da cultura da soja são apresentados na Tabela 1.

A soja foi semeada em 5 de outubro de 2012 em parcelas com a dimensão de 18 x 18 metros. A densidade de semeadura utilizada foi de 18 sementes/metro linear e espaçamento de 0,50

m entre linhas. A semente foi tratada com o fungicida carboxina+tiram (50+50g i.a./100Kg de sementes). A adubação foi realizada com 250 kg/ha de adubo químico da fórmula NPK 00-20-20. Semanalmente, entre os estádios R1 a R7.5 da soja, foram realizadas avaliações da densidade de insetos praga e predadores através de método do pano-de-batida, conforme Hoffmann-Campo et al. (2005), com quatro sub-amostras (batidas de pano) por parcela.

A partir dados de densidade de pragas e inimigos naturais por pano de batida (média de quatro sub-amostras por parcela) foi calculado o índice IAD (insetos acumulados diários), que considera a densidade populacional diária acumulada de indivíduos. Este método agrupa os dados de datas de amostragem seguintes considerando o intervalo de tempo entre cada amostragem. O índice IAD foi calculado pela seguinte equação (eq. 1):

$$IAD = \sum 0,5 \times (P_n + P_{n+1}) \times D \quad (1)$$

onde, P_n referem-se ao número de indivíduos na amostra n , P_{n+1} referem-se ao número de indivíduos na amostra seguinte; D é o tempo em dias entre amostragens sucessivas.

O dados de densidade populacional de pragas e predadores com valores acumulados diários (IAD), foram submetidos a análise de variância e, havendo significância do teste F para tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Tabela 1. Produtos e doses utilizados no manejo fitossanitário dos genótipos de soja em estudo. Safra agrícola 2012/13, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Data	Estádio da soja ¹	Genótipo	Produto comercial (p.c.)	Princípio ativo (p.a.)	Concentração do p.a. no p.c. (g/L)	Dose do p.c. (ml/ha)
03/10	Pré-Sem.	BRS284/RR/Bt	Spider 840 WG	Diclosulam	840	41,7
03/10	Pré-Sem.	BRS284/RR/Bt	Glifosato Atanor	Glifosato	480	2700
07/10	Pré-Em.	BRS284	Basagran 600	Bentazona	600	1600
28/11	R2	RR/Bt	Glifosato Atanor	Glifosato	480	2700
28/11	R2	BRS284	Select 240 EC	Cletodim	240	700
12/12	R3	BRS284/RR/Bt	Priori Xtra	Azoxistrobina+Ciproconazol	200+80	300
11/01	R5.5	BRS284/RR/Bt	Priori Xtra	Azoxistrobina+Ciproconazol	200+80	300
11/01	R5.5	BRS284/RR/Bt	Engeo Pleno	Tiametoxam+Lambdacialotrina	146+141	250
23/01	R6	BRS284/RR/Bt	Engeo Pleno	Tiametoxam+Lambdacialotrina	146+141	250

¹ Estádios das soja: Pré-Sem. - pré-semeadura da soja; Pré-Em. - pré-emergência da soja.

Resultados e Discussão

Foram realizadas 11 amostragem, entre os estádios R1 a R7.5 da cultura de soja amostrando-se 4.477 indivíduos, sendo *Euschistus heros* a espécie mais frequente com que 40,83% dos indivíduos amostrados. Para os genótipos não-Bt (BRS 284 e RR), *Anticarsia gemmatalis* e *E. heros* apresentaram maior frequência se comparado aos outros insetos amostrados (Tabela 2), indicando serem as pragas mais relevantes para a soja não-Bt.

Para o genótipo Bt RR2, houve redução na abundância de insetos amostrados, motivada principalmente pela menor densidade de lagartas, prevalecendo o percevejo *E. heros* com 66,20% de frequência. Cavalcante et al. (2009) afirmam que a modificação da planta de soja, com a inserção de genes de Bt pode causar alteração nas interações planta/inseto fitófago/inimigos naturais com impacto sobre a diversidade de inimigos naturais e outras espécies não-alvo. No caso da soja Bt, este impacto pode ser benéfico, desde que a tecnologia seja acompanhada ao uso racional de inseticidas.

Tabela 2. Frequência relativa dos principais insetos fitófagos e artrópodes predadores associados a diferentes genótipos de soja, entre os estádios R1 a R7.5 da cultura. Safra agrícola 2012/13, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Insetos	Tratamentos – genótipos de soja ¹			Total (%)
	Cultivar BRS 284	Linhagem RR	Linhagem Bt RR2	
<i>Anticarsia gemmatilis</i>	31,95	32,82	4,92	25,78
<i>Crysoideixis includens</i>	10,57	16,47	1,21	10,54
Outras Lagartas	2,28	3,26	2,79	2,77
<i>Euschistus heros</i>	35,57	29,98	66,20	40,83
Outros Percevejos	0,82	1,13	1,58	1,12
Coleópteros desfolhadores	5,72	4,74	10,12	6,41
Insetos predadores	13,08	11,61	13,18	12,55
Total de indivíduos ²	1712	1688	1077	4477

¹ A cultivar BRS284 é não-transgênica, as linhagens são transgênicas essencialmente derivadas de BRS284, sendo a RR tolerante ao herbicida glifosato e a Bt RR2 tolerante a lagartas e ao glifosato. ² Refere-se ao total de indivíduos coletados ao longo de 8 amostragens em cada cultivar de soja.

No genótipo Bt RR2, a densidade de *A. gemmatilis* e *Crysoideixis includens* foi reduzida em relação a média dos genótipos não-transgênicos, já que a planta apresenta o gene cry1Ac que codifica toxina letal para estas lagartas. No genótipo Bt RR2, houve menor densidade de predadores em relação aos demais genótipos, o que provavelmente está relacionado à menor oferta de lagartas como presas (Tabela 3). O hábito generalista dos predadores possibilitou a sua permanência na área evitando a redução drástica da sua densidade populacional. Apesar da menor densidade de predadores observada no genótipo Bt RR2, a relação de predador presa se manteve muito próxima entre aos genótipos estudados sendo: 1:6,0; 1:6,7 e 1:5,8 para BRS284, RR e Bt RR2, respectivamente. Os principais predadores amostrados no experimento, independente do genótipo, foram *Geocoris* spp. e *Lebia* spp.

Tabela 3. Densidade populacional acumulada diária (IAD) de insetos fitófagos e artrópodes predadores associados a diferentes genótipos de soja, entre os estádios de R1 a R7.5 da cultura. Safra agrícola 2012/13, Embrapa Soja, Londrina, PR.

Tratamentos ¹ (genótipos de soja)	<i>Anticarsia gemmatilis</i>	<i>Crysoideixis includens</i>	<i>Euschistus heros</i>	Coleópteros desfolhadores	Insetos predadores
Cultivar BRS284	113,28 a ²	32,72 b	114,80 ns	21,53 ns ³	46,72 a
Linhagem RR	110,23 a	46,31 a	96,34	16,92	40,17 ab
Linhagem Bt RR2	11,08 b	2,17 c	134,05	22,59	29,52 b
C.V. (%) ⁴	29,50%	31,34%	28,72%	34,54%	25,18%

¹ A cultivar BRS284 é não-transgênica, as linhagens são transgênicas essencialmente derivadas de BRS284, sendo a RR tolerante ao herbicida glifosato e a Bt RR2 tolerante a lagartas e ao glifosato. ² Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ³ ns: diferença estatística não significativa pelo teste F a 5% de significância. ⁴ C.V.: coeficiente de variação.

Embora não diferente estatisticamente, a densidade populacional de *E. heros* foi 17,5% e 39,5% superior no genótipo Bt RR2, em relação aos genótipos não-Bt (BRS284 e RR). Por apresentar uma tecnologia recente, deve ser estudada em maior profundidade, para se obter informações mais detalhadas sobre organismos não-alvo e as interações destes com seus inimigos naturais.

Conclusão

O genótipo Bt RR2 reduz drasticamente a densidade das lagartas *Anticarsia gemmatilis* e *Crysoideixis includens* no cultivo, contribuindo para o manejo integrado de pragas na cultura. A redução da densidade populacional de insetos predadores no genótipo Bt RR2 está relacionada à menor densidade de presas disponíveis, pois a proporção predador:presa e a frequência de predadores na comunidade de insetos é minimamente alterada neste genótipo.

Referências

CAVALCANTE, K. R ; TOGNI, P. H. B; MENCARINI, L. G; HALTERREITEN-SOUZA, E. S; PIRES, C. S. S;

FONTES, E. M. G; SUJII, E. R. Impactos do algodão Bt no controle biológico natural no Distrito Federal. In: Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 14. 2009, Brasília. **Resumos...** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2009. Resumo 075.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIN, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GÓMEZ, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L.; OLIVEIRA, E.B. de. **Trabalhador no cultivo de grãos e oleaginosas: soja-MIP**. Curitiba: SENAR, Paraná, 2005, 82 p

SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORSO, I.C.; OLIVEIRA, L.J.; MOSCARDI, F.; PANIZZI, A.R.; BUENO, A. de F.; HIROSE, E. **Manual de identificação de insetos e outros invertebrados da cultura da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2006. 66p. Embrapa Soja, Circular Técnica, 30.

Aspectos Biológicos de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) Desenvolvida em Milho Bt e Não Bt

Oliveira, K.B¹., BORTOLOTTI, O.C²., QUEIROZ, A.P³., SILVA, G.V²., BARBOSA, G.C⁴., CRUZ, S. Y³., POMARI, A.F⁵., SANZOVO, A³., BUENO, A.F⁶., Silva, m. e.⁴ ¹Universidade Norte do Paraná, ²Univesidade Federal do Paraná, ³Universidade Estadual do Norte do Paraná, ⁴Centro Universitário Filadélfia, ⁵Universidade de São Paulo, ⁶Embrapa Soja. Londrina, Paraná, e-mail: karla.braga@cnpsobr.br., embrapa.br.,

Introdução

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é cultivada em diversos países do mundo, e no Brasil se destaca por ser uma das principais commodities agrícolas. Entretanto, dentre os principais fatores limitantes do cultivo desse cereal se destaca os problemas fitossanitários, como a ocorrência de lepidópteros desfolhadores. Por esta razão, a o uso de híbridos resistentes à insetos tem ocupado grande espaço no cenário nacional e mundial, por ser uma eficiente tática do manejo integrado de pragas (James, 2009). O milho geneticamente modificado resistente à pragas expressa a proteína inseticida da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berlinier (Bt) no tecido da planta. Esse advento tecnológico foi desenvolvido principalmente para o controle de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), porém também pode apresentar impacto sobre outros lepidópteros-praga (Van den Berg & Wyk (2007). Dentre as vantagens do cultivo de milho Bt se destaca a redução no uso de inseticidas nas lavouras, o que contribui com o menor impacto ambiental (Wang et al., 2004). Embora essa ferramenta seja bastante eficiente na regulação populacional da praga-alvo, a redução no uso de agrotóxicos pode favorecer a incidência de pragas-não-alvo. Nesse sentido, atualmente muitos produtores tem observado o crescimento populacional de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae) em lavouras de milho, principalmente nas áreas onde cultiva-se a tecnologia Bt. Esse fato tem deixado os produtores em alerta, pois o inseto pode estar encontrando condições favoráveis nas lavouras de milho Bt para o seu desenvolvimento. As razões que podem favorecer o crescimento populacional de pragas não-alvo são o menor uso de inseticidas e também a menor competição por alimento com outras pragas (Zeilinger et al. 2011). Porém ainda são escassas as informações a respeito do impacto da tecnologia Bt sobre pragas não-alvo Desse modo, devido a necessidade de esclarecer esta relação trófica, o objetivo desse estudo foi avaliar os aspectos biológicos de *S. eridania* desenvolvida em milho Bt e não Bt, para que possa ser possível indicar um manejo apropriado para a regulação populacional da praga.

Material e Métodos

Esse estudo foi realizado na Embrapa Soja, em câmaras climatizadas do tipo BOD, reguladas a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa (UR) de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 14 h. As lagartas de *S. eridania* utilizados no provieram da criação da própria instituição, mantidas há aproximadamente 20 gerações.

As isolinhas de milho utilizadas no estudo foram um milho híbrido não Bt (2B688) e as isolinhas Bt Herculex® I (companhia Dow Agrosiences) e Powercore™ (companhia Dow Agrosiences em parceria com a Monsanto). O milho Herculex* I (evento TC1507) expressa o gene inseticida

cry1F, enquanto o milho Powercore™ (evento MON89034 × DAS01507 × MON00603) expressa cinco genes estaqueados, sendo três inseticidas: cry1F + cry1A.105 + cry2Ab2, e dois herbicidas (EPSPS + PAT) que conferem tolerância aos herbicidas glifosato e glufosinato (Santos et al., 2012).

Em casa de vegetação foi realizada a semeadura das plantas em vasos de 8L, contendo terra esterilizada. Para cada isolinha utilizou-se 15 vasos, onde foram colocadas cinco sementes em cada, totalizando 75 plantas.linhagem⁻¹. O molhamento do substrato (terra esterilizada) ocorreu imediatamente antes e após a semeadura, de modo a garantir a distribuição homogênea da umidade dentro dos vasos. Posteriormente, a vistoria e irrigação das plantas foram realizadas diariamente. O manejo nutricional do milho foi realizado com adubação de sulfato de amônio [(NH₄)₂SO₄] seguindo as recomendações técnicas da região (Rodrigues & Neto, 2011). As técnicas de manejo fitossanitário (herbicidas, fungicidas ou inseticidas) não foram realizadas durante o ciclo da cultura, para não ter influência de outros fatores no estudo

A coleta de folhas para oferta às lagartas ocorreu no milho a partir do estágio 2 (plantas com oito folhas distendidas) (Francelli & Dourado-Neto, 2000), que foram cortadas em pedaços com área aproximada de 30 cm² para serem ofertadas as lagartas. Em seguida, as folhas de milho foram submetidas a um processo de higienização, sendo submersas em solução de água e hipoclorito de sódio (5%) por 15 min. Após esse período, as folhas foram retiradas da solução e secas por 30 min, até a evaporação da solução antes do material ser ofertado às lagartas.

Bioensaios 1 e 2: aspectos biológicos de *S. eridania* de 1º e 3º instares em milho Bt e não Bt

Bioensaio 1: no bioensaio de primeiro instar, lagartas recém eclodidas (até 24 h de vida) foram individualizadas em copos parafinados de 50 mL em cada tratamento, com auxílio de um pincel de ponta fina (0,6 mm). Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com três tratamentos (híbrido não Bt 2B688 e duas isolinhas Bt, Herculex e Power-core) com 10 repetições compostas por oito lagartas individualizadas (80 lagartas. tratamento⁻¹). Dentro de cada copo foi ofertada uma área foliar de 30 cm². lagarta⁻¹ Na base de cada folha foi colocado um chumaço de algodão embebido em água, para retardar o ressecamento das folhas, que foram trocadas diariamente, junto à avaliação do instar larval e a taxa de mortalidade dos indivíduos.

Bioensaio 2: Nesse bioensaio as lagartas foram mantidas em dieta artificial (Greene et al. 1976) até atingirem o terceiro instar, quando foram transferidas para os respectivos tratamentos. A partir desse momento, utilizou-se a mesma metodologia descrita no bioensaio 1.

Bioensaio 3 aspectos biológicos e consumo foliar de *S. eridania* de 5º instar em milho Bt e não Bt

Seguindo a mesma metodologia descrita anteriormente para os bioensaios com *S. eridania* de 1º e 3º instares, as lagartas foram mantidas em dieta artificial até atingirem o 5º instar, quando foram individualizadas em copos parafinados e ofertada a área foliar de milho para seu consumo. Como houve sobrevivência larval das lagartas de 5º instar e, conseqüentemente consumo foliar, a área consumida por *S. eridania* nos diferentes híbridos de milho foi mensurada. Paralelamente, utilizou-se uma testemunha (com ausência da praga) para avaliar a redução foliar devido a uma possível desidratação, que apresentou a média de 5% de redução da área foliar, permitindo corrigir a área consumida. As avaliações da área consumida pelas lagartas ocorreram diariamente, utilizando-se o equipamento de medição foliar modelo LICOR 300 até os insetos morrerem ou cessaram a alimentação.

Bioensaios 4 e 5: aspectos biológicos de *S. eridania* e *S. frugiperda* em grãos de milho Bt e não Bt e comparação da taxa de consumo

As lagartas neonatas foram individualizadas de acordo com a metodologia descrita no bioensaio 1. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com três tratamentos (híbrido não Bt 2B688 e isolinhas Bt, Herculex e Power-core) e cinco repetições, compostas por 11 lagartas individualizadas. Para alimentação dos insetos ofertou-se grãos imaturos de milho *ad libitum* até completarem a fase larval (fase de pré-pupa).

Quando os insetos atingiram o 5º instar, procedeu-se a mensuração do consumo de grãos de milho, por meio de pesagem diária do alimento, antes e após (24 h) ser ofertado para a praga. Para correção do peso de grãos consumido, foi utilizada uma testemunha (com ausência de lagarta), e foi registrada uma perda média de 7% de peso por desidratação.

O instar larval e a taxa de mortalidade de ambas as espécies foram avaliados diariamente. No intervalo de 24 h após os insetos atingirem a fase de pupa, as mesmas foram separadas por sexo e pesadas (g) com uso de balança analítica. Nesse bioensaio foram comparados os seguintes parâmetros biológicos: duração da fase jovem (em dias), taxa de mortalidade (%), peso de pupa (g) e razão sexual de *S. eridania* e *S. frugiperda*.

Análises estatísticas

Os resultados dos diferentes bioensaios foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade dos resíduos (Shapiro & Wilk 1965), a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo (Burr & Foster 1972) para permitir a aplicação da ANOVA. As médias foram então comparadas pelo teste de Tukey para os ensaios realizados com a área foliar do milho, exceto para a comparação dos parâmetros biológicos de *S. eridania* e *S. frugiperda* onde se empregou o teste *t* de Student (SAS Institute 2001). Para ambas a análise considerou-se diferença significativa quando $p \leq 0,05$.

Resultados e Discussão

De forma geral, verificou-se que a parte vegetativa (área foliar) e reprodutiva (grãos frescos) de milho Bt prejudicam o desenvolvimento de *S. eridania*. Entretanto, a área foliar Bt e não Bt foram inapropriadas para a praga, pois não permitiu o desenvolvimento da mesma. Por outro lado, quando a praga alimentou-se de grãos imaturos de milho não Bt foi possível completar a fase jovem.

Quando as lagartas recém eclodidas de *S. eridania* alimentaram-se da área foliar de milho Bt, morreram mais rapidamente do que as desenvolvidas na isolinha não Bt (Tabela 1), porém a taxa mortalidade foi de 100% em todos os tratamentos, com longevidade inferior a dois dias.

Resultados semelhantes foram observados com as lagartas de 3º instar, pois embora alguns indivíduos tenham realizado ecdise, a praga não conseguiu completar a fase jovem em nenhum tratamento. Assim como observado no bioensaio com lagartas neonatas, novamente verificou-se que as isolinhas Bt aceleraram a morte da praga (Tabela 1).

A má qualidade nutricional da área foliar do milho foi comprovada com o estudo dos aspectos biológicos das lagartas de 5º instar, onde também registrou-se 100% de mortalidade da praga em todos os tratamentos (Tabela 1). As lagartas que se alimentaram da área foliar do milho Powercore tiveram 85% de mortalidade antes de realizarem a ecdise, enquanto nas isolinhas Herculex e não Bt essa taxa foi de apenas 25 e 15%, respectivamente. Apesar dessa diferença, nenhuma lagarta que atingiu o 6º instar conseguiu empupar, evidenciando a má qualidade nutricional do alimento para a espécie.

O impacto dos eventos Bt sobre a praga ficou mais claro quando comparado o consumo foliar, que foi superior na isolinha não Bt, enquanto Powercore e TC1507 não diferiram entre si (Tabela 1). Porém, deve-se considerar que as lagartas não atingiram a fase de pupa em nenhum tratamento, demonstrando que a área foliar de milho não apresenta condições nutricionais apropriadas para o desenvolvimento de *S. eridania*. Embora estudos relatem que a espécie *S. eridania* ocorra em lavouras de milho, o presente trabalho demonstra que a praga tem baixo potencial biótico quando se alimenta somente da área foliar dessa cultura. Assim, a sua ocorrência nas lavouras de milho pode ser atribuída à outros fatores, como por exemplo outras plantas hospedeiras que podem estar servindo de alimento para a praga.

Essa hipótese é ratificada pelo fato de que foi observado que as lagartas de 1° e 3° instar praticamente não ocasionaram injúrias foliares no milho, mesmo quando ofertado o híbrido não Bt. Os autores Tingle et al. (1978) encontraram lagartas de *S. eridania* alimentando-se de caruru (*Amaranthus hybridus*) em lavouras de milho, e raramente observaram a praga atacando as plantas cultivadas. Outra planta invasora que ocorre em lavouras de milho e apresenta condições nutricionais que permitem o desenvolvimento da praga é a corda-de-viola (*Ipomea grandiflora*) (Santos et al. 2005). Assim, dentro do contexto do MIP, a manutenção de plantas espontâneas que são hospedeiras de pragas, pode ser benéfica, pois a sua eliminação poderá potencializar os danos da praga. Assim, o manejo adequado das plantas daninhas antes e logo após o a semeadura podem consistir num importante fator para redução de pragas secundárias na cultura do milho. Essas hipóteses, entretanto, precisam a ser mais bem investigadas estudando o comportamento e a migração dessa praga em condições de campo.

Tabela 1. Aspectos biológicos de *S. eridania* alimentada com área foliar de isolinhas de milho Bt e não Bt. Londrina, 2012.

Milho	Bioensaios 1 e 2		Bioensaio 3
	Sobrevivência (dias) ¹ [Mortalidade %]		Consumo foliar (cm ²)
	1° instar	3° instar	5 - 6° ínstars
2B688	1,7 ± 0,13 a [100]	3,69 ± 0,15 b [41]	58,87 ± 4,85 a
2B688 Herculex	1,0 ± 0,04 b [100]	4,83 ± 0,25 a [73]	42,20 ± 2,61 b
2B688 PowerCore	1,0 ± 0,06 b [100]	4,92 ± 0,08 a [95]	37,55 ± 2,38 b
CV (%)	19,48	12,50	16,78
GL _{resíduo}	27	27	12
F	21	16,14	10,45
P	<0,01	<0,01	<0,01

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna do mesmo estágio de desenvolvimento do inseto não diferem entre si pelo teste de Tukey (p>0,05). ^{ns}ANOVA não significativa.

Os grãos imaturos de milho Bt ofertados para *S. eridania* e *S. frugiperda* ocasionaram 100% de mortalidade das lagartas neonatas, que sobreviveram por menos de dois dias em ambos os eventos Bt, comprovando o impacto dessas proteínas para ambos lepidópteros. Porém, para as lagartas alimentadas com a isolinha não Bt verificou-se que ambas as espécies completaram a fase jovem (Tabela 2). A espécie *S. eridania* apresentou menor viabilidade larval, porém apresentou maior longevidade (Tabela 2) assim como maior taxa de consumo de grãos (Figura 1), entretanto, o peso de pupa foi significativamente inferior ao de *S. frugiperda* (Tabela 2). Entretanto, mesmo com maior mortalidade de *S. eridania* em relação à *S. frugiperda*, a praga apresentou maior taxa de consumo de grãos, o que demonstra que a ocorrência de *S. eridania* durante o espigamento da cultura poderá ocasionar perdas significativas de produção. Além do dano direto (consumo de grãos) a ocorrência da praga na espiga pode promover a infestação de microlepidópteros, permitir a infecção por doenças da espiga e contaminação por aflotoxinas (Rodríguez-del Bosque 1996, Rodríguez-del Bosque et al., 1998). Recentemente,

alguns estudos têm demonstrado que a presença da lagarta-da-maçã do algodão *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1805) (Lepidoptera: Noctuidae) em espigas de milho pode acarretar em perda de aproximadamente 14% do peso de espiga, além de afetar a proporção nutricional dos grãos, alterando os teores de gordura e proteína (Keszthelyi et al. 2011).

Tabela 2. Desenvolvimento larval e pupal de *S. eridania* comparado com *S. frugiperda* alimentada com grãos frescos de milho não Bt. Londrina, 2012.

Espécie	Duração da fase larval (dias)	Viabilidade larval (%)	Consumo (g)	Peso de pupa (g)
<i>S. eridania</i>	21,55 ± 0,73 a	56,40 ± 6,85 b	5,39 ± 0,31 a	0,26 ± 0,01
<i>S. frugiperda</i>	18,38 ± 0,78 b	80,20 ± 5,25 a	3,92 ± 0,32 b	0,29 ± 0,01
CV (%)	8,49	19,96	15,42	6,63
GL resíduo	8	8	8	8
F	8,77	7,61	10,34	7,31
P	0,01	0,02	0,01	0,03

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna do mesmo estágio de desenvolvimento do inseto não diferem entre si pelo teste de *t* (*p*>0,05).

²ANOVA não significativa.

Isso pode ser justificado pela provável menor adaptação à cultura, uma vez que de forma geral a espécie *S. eridania* desenvolve-se melhor em culturas de famílias diferentes, que não sejam pertencentes ao grupo das Poacea. Isso pode justificar também a maior duração da fase jovem observado para *S. eridania* comparativamente à *S. frugiperda*, o que refletiu em maior consumo de grãos e conseqüentemente em maior peso de pupas do que *S. frugiperda*.

Conclusão

A fase jovem de *S. eridania* apresenta potencial para ocasionar danos em lavouras de milho não Bt, entretanto somente quando o ataque ocorrer nas espigas, pois a praga não consegue completar o seu desenvolvimento quando se alimenta da área foliar da cultura. Quando alimentadas com milho Bt, observa-se 100% de mortalidade para os espécimes alimentados com a área foliar ou grãos da espiga da planta.

Agradecimentos

À instituição financiadora Embrapa Soja, e à equipe de Entomologia pertencente ao Laboratório de Parasitoides.

Referências

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. A test for equality of variances. **Mimeo Series**. University of Purdue, West Lafayette, 1972. p .26.

CAPINERA, J. L. Southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae). University of Florida. 2005.

CRUZ, I. A lagarta do cartucho na cultura do milho. Sete Lagoas, EMBRAPA-CNPMS. **(Circular Técnica 21)**. 1995. p.45.

DEGRANDE, P.E. Guia prático de controle das pragas do algodoeiro. Dourados, UFMS, 1998. p.60.

FANCELLI, A.L. & D. DOURADO-NETO. Produção de Milho. Ed. Agropecuária, Guaíba. 2000. p.360.

GREENE, G. L., LEPPLA, N. C., DICKERSON, W. A. Velvetbean caterpillar: a rearing procedure and artificial medium, **Journal of Economic Entomology**.1976. ed. 69, p. 487- 488.

JAMES, CLIVE. **Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops**: ISAAA Brief N. 41. ISAAA: Ithaca, New York. 2009.

KESZTHELYI, S. PÁL-FÁM, F. KERESPESI, I. Effect of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* Hubner) caused injury on maize grain content, especially regarding to the protein alteration. **Acta Biologica Hungarica**. 2011 ed. 62. p.57-64.

MONNERAT, R.; BRAVO, A. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. (Ed.). **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio Ambiente, 2000. p. 163-200.

RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE, L. A. Impact of agronomic factors on aflatoxin contamination in preharvest field corn in Northeastern Mexico. **Plant Disease**. 1996. ed. 80: p.988-993.

RODRIGUEZ-DEL-BOSQUE, L. A. Martinez, J. Downd, P.F. Effect of ear wounding and cultural practices on abundance of *Carpophilus freemani* (Coleoptera: Nitidulidae) and other microcoleopterans in maize in northeastern Mexico. **Journal of Economic Entomology**. 1998. ed 91. p.796-801.

RODRIGUES, L. R.; PINHEIRO MACHADO NETO, D. (Orgs.). REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DE MILHO E SORGO. Porto Alegre: FEPAGRO, 2011. p.48.

SANTOS K B, NEVES P J, MENEGUIM A M. Biologia de *Spodoptera eridania* (Cramer) (Lepdoptera Noctuidae) em diferentes hospedeiros. **Neotropical Entomology**. 2005. ed.34. p.903-910.

SAVOIE, K. L. Selective feeding by species of *Spodoptera* (Lepdoptera: Noctuidae) In a bean field with minimum tillage. Turrialba. 1988. ed.38. p.67-70.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An analysis of variance test for normality. **Biometrika**. 1965. Ed. 52, p.591-611.

TINGLE, F. C.; ASHLEY, T. R.; MITCHELL, E. R. Parasites of *Spodoptera exigua*, *S. eridania* [Lep.: Noctuidae] and *Herpetogramma bipunctalis* [Lep.: Pyralidae] collected from *Amaranthus hybridus* in field corn. **Biocontrol**. 1978. ed.23 p.343-347.

VANDENBERG, J.; VAN WYK, A. The effect of Bt maize on *Sesamia calamistis* in South Africa. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 2007. Ed.12, p.45-51.

WANG, J. LIU, J.; WANG, X.; YAO, J.; YU, Z. Application of electrospray ionization mass spectrometry in rapid typing of fengycin homologues produced by *Bacillus subtilis*. **Letters in Applied Microbiology**. 2004. v.39, p.98-102.

ZEILINGER, A. R.; OLSON, D. M.; ANDOW, D. A. Competition between sting bug and heliothine caterpillar pests on cotton at within-plant spatial scales. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 2011. Ed.141, p.59-70.

Produtividade e teor foliar de nitrogênio na soja em função da pressão de pastejo, época de dessecação e aplicação de nitrogênio em sistema lavoura-pecuária.

ARAUJO, K.¹; MENDES, F.L.¹; DEBIASI, H.²; BALBINOT JR, A.A.²; FRANCHINI, J.C.². ¹Universidade Norte do Paraná, Londrina, PR; Bolsista PIBIC/CNPq. ²Embrapa Soja, Londrina, PR.

INTRODUÇÃO

A intensificação do uso da terra, integrando as atividades da agricultura e da pecuária tem se mostrado como opção viável para o aumento da rentabilidade e da sustentabilidade quando comparado com os sistemas exclusivos. A integração lavoura-pecuária (ILP), como tem sido comumente denominada, tem chamado a atenção de produtores e ambientalistas devido ao aumento na eficiência de uso dos recursos disponíveis nos agroecossistemas, associado à melhoria da qualidade do solo e da água, redução do consumo de insumos e geração de maior renda por área (BALBINOT JR. et al., 2009; NAIR et al., 2010). A ILP pode ser definida como um sistema de produção que alterna, na mesma área, o cultivo de espécies para produção de grãos e pastagens de forma concomitante ou não, de modo que haja sinergia entre as atividades (NAIR et al., 2010). Apesar do aumento no nível de adoção de sistemas de ILP ainda permanecem várias dúvidas quanto ao manejo mais adequado da pastagem na fase de transição entre a pecuária e a lavoura. A forrageira *Urocloa ruziziensis* tem sido uma das espécies mais utilizadas pelo produtor de grãos no início das atividades com pecuária. Apesar de apresentar menor capacidade relativa de suporte animal e maior suscetibilidade relativa à cigarrinha das pastagens, a facilidade de manejo com baixas doses de herbicida, o hábito de crescimento prostrado sem a formação de touceiras e a produção de forragem de boa qualidade fazem desta espécie uma importante opção de forrageira para a ILP. Apesar disto ainda existem poucas informações sobre a melhor forma de manejo desta forrageira quando se associa a pressão de pastejo com a época de dessecação na transição do sistema de pecuária para o sistema de lavoura com a cultura da soja. Outra dúvida que existe na condução de sistema de ILP é se com o uso de forrageira tropicais em sucessão ou rotação com a soja seria necessária a complementação com adubação nitrogenada na implantação de cultura da soja devido ao aumento da quantidade de palhada no sistema. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da pressão de pastejo, da época de dessecação da pastagem e da aplicação de nitrogênio na semeadura sobre a produtividade e o teor de nitrogênio foliar da cultura da soja cultivada em sucessão a uma pastagem perenizada de *Urocloa ruziziensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido na Embrapa Soja em Londrina/PR (23°12' S, 51°11' W e altitude média de 585 m), sobre um Latossolo Vermelho Distroférrico muito argiloso (respectivamente 787, 168 e 45 g kg⁻¹ de argila, silte e areia), que vinha sendo cultivado sob SPD há quinze anos com soja no verão e trigo ou aveia preta no inverno. De agosto de 2008 a setembro de 2009 a área foi ocupada com pastagem de *Urocloa brizantha* cv. 'Xaraes'. Entre outubro de 2009 a março de 2010 a área foi cultivada com soja. Após o cultivo da soja a área foi semeada com *Urocloa*

ruzizensis. A partir de outubro de 2010 até maio de 2011 a área foi uniformemente pastejada com a pressão de 2 UA/ha. Após um período de 60 dias de diferimento, a pastagem recebeu em 22/07/2011 adubação com 45 kg/ha de N na forma de sulfato de amônio. A partir de agosto até dezembro de 2011 a área foi uniformemente pastejada com a pressão de 2 UA/ha. A partir de dezembro de 2012 quando a pastagem estava com altura média de 50 cm, foram estabelecidos três piquetes com aproximadamente 1 ha e um quarto piquete com área de 0,5 ha. Nos piquetes de 1,0 ha foram estabelecidos os seguintes níveis de pressão de pastejo: P1 = pastejo contínuo com 2 UA/ha; P2 = pastejo contínuo com 4 UA/ha e P3 = pastejo contínuo com 6 UA/ha. Os pastejos foram estabelecidos com o objetivo de manter alturas aproximadas de 50, 35 e 15 cm para P1, P2 e P3, respectivamente. Os animais eram constituídos de bovinos machos e fêmeas sem padrão racial. A área de 0,5 ha foi mantida sem pastejo. Em 31/05/2012 os animais foram retirados das áreas pastejadas, que foram mantidas sem animais até outubro. A partir do dia 03 de outubro de 2012 foram delimitadas áreas de 50 m² onde foram estabelecidos os seguintes tratamentos de dessecação: primeira época, dessecação da forrageira 35 dias antes da semeadura da soja (DAS); segunda época, dessecação da forrageira 28 DAS; terceira época, dessecação da forrageira 20 DAS; e quarta época, dessecação da forrageira 8 DAS. Em todos os tratamentos, foi utilizado o herbicida glifosato para dessecação, na dose de 2,52 kg i.a. ha⁻¹. Um dia após a quarta época de dessecação foi feita a aplicação de 30 kg/ha de N na forma de sulfato de amônio em subparcelas de 25 m². O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e quatro repetições. Nas parcelas foi semeada em 06/11/2012 a cultivar de soja 'BRS 360RR', utilizando-se uma semeadora-adubadora tratorizada equipada com mecanismos sulcadores do tipo guilhotina para o adubo e discos duplos desencontrados para a semente. A semeadora foi regulada visando o estabelecimento de 350 mil plantas de soja por hectare, com espaçamento de 0,45 m entre linhas. A adubação de base equivaleu a 50 kg ha⁻¹ de P₂O₅ e de K₂O. As sementes foram inoculadas com *Bradyrhizobium japonicum* e *B. elkanii*, estirpes SEMIA 587 e SEMIA 5019. Os tratos culturais e tratamentos fitossanitários foram realizados seguindo as indicações técnicas para a cultura na região. Em 15/01/2013 quando a soja se encontrava no estágio de desenvolvimento R3, foram coletados 20 trifólios por parcela, em geral o terceiro ou quarto trifólio de cima para baixo, sem o pecíolo. As folhas foram secas a 50 °C durante 72 h até peso constante, moídas e armazenadas para análise. O teor de nitrogênio na folha foi determinado após digestão sulfúrica pelo método de Kjeldhal (EMBRAPA 1997). A produtividade da soja foi estimada por meio da colheita de três linhas de 10 m por subparcela, sendo os valores corrigidos para a umidade de 13% e expressos em sacas ha⁻¹. Os dados foram submetidos à análise da variância (teste F, P<0,05), sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey (P<0,05), utilizando-se o programa SISVAR 4.3 (FERREIRA, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fatores níveis de pastejo, época de dessecação e aplicação de nitrogênio influenciaram as variáveis teor foliar de N e produtividade da soja, porém sem apresentar interação entre si (dados não apresentados).

A produtividade da soja aumentou com o pastejo das áreas, porém não foi observada diferença significativa entre os níveis de pastejo (Figura 1). O aumento da produtividade da soja com o pastejo também foi observado por Debiasi e Franchini (2012), quando foi utilizada *Urochloa brizantha* cv. Xaraes como forrageira. Vários fatores podem estar relacionados a este efeito, podendo ser destacadas a alteração na dinâmica de nutrientes e a melhoria nas condições de plantabilidade devido à redução na quantidade de palhada. No presente estudo, a quantidade de palha na área não pastejada chegou a 17 ton ha⁻¹, quantidade que pode interferir na qualidade da semeadura e no estabelecimento inicial da cultura. Debiasi e Franchini (2012) observaram que quantidades de palha maiores do que 9 ton ha⁻¹ interferem negativamente na produtividade da soja.

A produtividade da soja aumentou à medida que foi reduzido o período entre a dessecação e a semeadura, sendo a diferença significativa apenas entre os períodos extremos (Figura 2). Esse comportamento foi o inverso do observado por Debiasi e Franchini (2012) quando avaliaram o efeito da época de dessecação em *Urocloa brizantha*. Desta forma, a dessecação de *Urocloa ruziziensis* mais próxima da semeadura da soja exerceu efeito positivo sobre o estabelecimento e desenvolvimento da soja. Nesse sentido, Franchini et al. (2009; 2011) observaram que o desenvolvimento radicular e a produtividade foram aumentados quando a soja foi cultivada em sucessão a *Urocloa ruziziensis* em comparação com a soja em sucessão ao milho safrinha e ao *Panicum maximum* cv. Tanzânia.

A aplicação de nitrogênio mineral antes da semeadura diminuiu a produtividade da soja (Figura 3). Mesmo com a mudança do ambiente de produção devido a presença de maior quantidade de palha na ILP, a aplicação de nitrogênio mineral suplementar não contribuiu para o aumento de produtividade da soja. Dados anteriormente obtidos pela Embrapa Soja em inúmeras condições demonstram que o processo de fixação biológica de nitrogênio é suficiente para suprir o N requerido para altas produtividades, dispensando a aplicação de N suplementar na forma mineral (HUNGRIA et al., 2006).

O teor de N foliar na soja foi significativamente alterado apenas pela aplicação de N mineral (Figura 4). A aplicação de N suplementar antes da semeadura da soja reduziu o teor de N foliar. Este comportamento indica que a aplicação de N na forma mineral pode ter afetado o processo de fixação biológica, reduzindo a eficiência simbiótica e a assimilação de N pela planta. A aplicação de N mineral reduziu os teores foliares para abaixo do nível considerado de suficiência para a cultura (4,5%) (TECNOLOGIAS..., 2010).

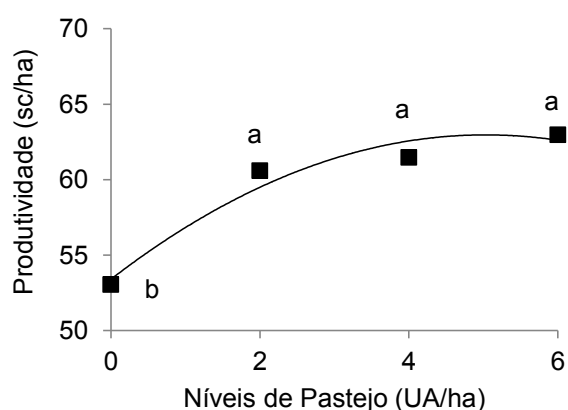


Figura 1. Produtividade da soja em função dos níveis de pastejo. Embrapa Soja, Londrina, 2013.

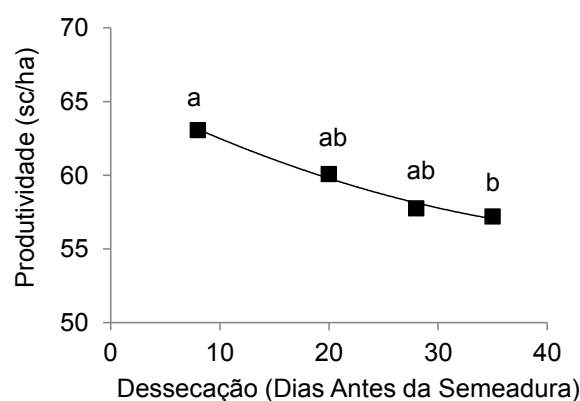


Figura 2. Produtividade da soja em função das épocas de dessecação. Embrapa Soja, Londrina, 2013.

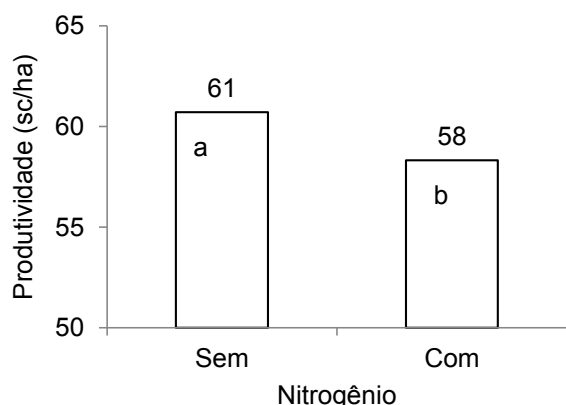


Figura 3. Produtividade da soja em função da aplicação de 30 kg ha⁻¹ de N uma semana antes da semeadura. Embrapa Soja, Londrina, 2013.

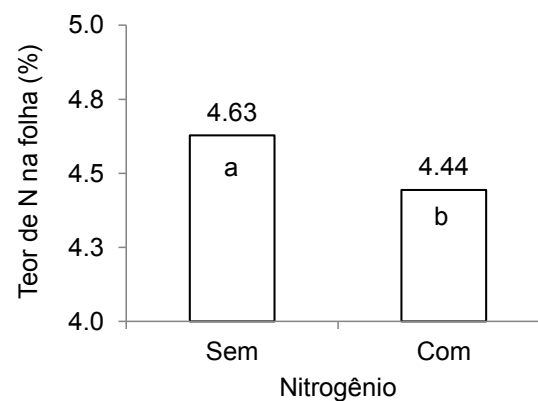


Figura 4. Teor foliar de nitrogênio em função da aplicação de 30 kg ha⁻¹ de N uma semana antes da semeadura. Embrapa Soja, Londrina, 2013.

CONCLUSÕES

- o pastejo, independente da quantidade de animais por área, aumentou a produtividade da soja cultivada em sucessão à pastagem.
- a produtividade da soja foi inversamente proporcional ao tempo de dessecação da *Urocloa ruzizensis*.
- a aplicação de nitrogênio mineral reduziu o teor foliar de N e a produtividade da cultura da soja.

REFERÊNCIAS

BALBINOT JR., A.A.; MORAES, A.; VEIGA, M. da; PELISSARI, A.; DIECKOW, J. Integração lavoura-pecuária: intensificação de uso de áreas agrícolas. **Ciência Rural**, v. 39, n.6, p.1925-1933, 2009.

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

EMBRAPA. **Manual de métodos e análise de solo**. 2 ed. Rio de Janeiro: CNPS, 1997. 212 p.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, n.2, p.36-41, 2008.

FRANCHINI, J. C.; COSTA, J. M.; DEBIASI, H.; TORRES, E. **Importância da rotação de culturas para a produção agrícola sustentável no Paraná**. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 52p. (Embrapa Soja. Documentos, 327).

FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; SACOMAN, A.; NEPOMUCENO, A. L.; FARIAS, J. R. B. **Manejo do solo para redução das perdas de produtividade pela seca**. Londrina: Embrapa Soja, 2009. 39 p. (Embrapa Soja. Documentos, 314).

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

NAIR, P.K.R.; NAIR, V.D.; KUMAR, M.; SHOWALTER, J.M. Carbon sequestration in agroforestry systems. **Advances in Agronomy**, v.108, p.237-307, 2010.

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA – REGIÃO CENTRAL DO BRASIL. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2010. 255p.

Teor de clorofila e NDVI de soja em resposta ao ataque do percevejo-marrom, *Euschistus heros*.

RODRIGUES, L.V.¹; ROGGIA, S.²; CRUSIOL, L.G.³; CAVALLARI, L.S.⁴; PEREIRA, J.P.V.⁴; FERRARI, F.¹ | ¹ Centro Universitário Filadélfia, Bolsista do PIBIC/CNPq – Brasil; ² Embrapa Soja; ³ Universidade Estadual de Londrina; ⁴ Universidade do Norte do Paraná.

Introdução

O percevejo-marrom, *Euschistus heros*, é uma das principais pragas da cultura da soja (PANIZZI et al., 2012), tanto pela intensidade dos seus danos quanto pela dificuldade de seu controle. O monitoramento da praga com amostragens periódicas é indispensável para se obter a melhor eficiência no manejo com uso racional de inseticidas. O correto posicionamento da pulverização para percevejo evita perdas pelo ataque da praga, reduz os custos de produção e a contaminação ambiental. Além disso, o uso racional de inseticidas reduz o risco de ocorrência de surto de pragas secundárias, como ácaros e lagartas. Atualmente o pano-de-batida é o método mais indicado para a amostragem de percevejos, porém, embora seja eficiente, é trabalhoso e demorado, o que limita o seu uso entre os agricultores. Assim, é necessário o desenvolvimento de métodos mais rápidos e práticos, igualmente confiáveis e compatíveis com as extensas áreas de cultivo de soja no Brasil.

Dentre as opções disponíveis atualmente o sensoriamento remoto pode ser uma ferramenta viável para o monitoramento de pragas em extensas áreas, necessitando, porém que sejam identificados sensores capazes de realizar o correto diagnóstico. O NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*) é um índice bastante difundido e apresenta relação direta com as características biofísicas da planta. O teor de clorofila das folhas pode ser analisado indiretamente por SPAD, Soil Plant Analysis Development (MINOLTA, 1989), medidor portátil para medição de clorofila usando a diferença de densidade ótica de dois comprimentos de onda. Neste contexto foram realizados experimentos com objetivo de avaliar a resposta da planta de soja a diferentes intensidades de infestação do percevejo-marrom, *Euschistus heros*, em relação ao teor de clorofila (SPAD) e ao NDVI.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Soja, em Londrina, PR. A semeadura da soja foi realizada em 06/10/2012 com a cultivar BRS 295 RR, na densidade de 18 sementes/m de linha, espaçamento entre linhas de 50cm e adubação com 250 kg/ha da fórmula NPK 00-20-20. A semente foi tratada com 250mL/100Kg de sementes do fungicida Vitavax Thiram 200 SC (20% de carboxina + 20% de tiram). A emergência ocorreu seis dias após a semeadura. Quando as plantas atingiram o estágio V3 foram instaladas gaiolas teladas para protegê-las do ataque não controlado de percevejos. Cada gaiola cobriu uma área de 1x1 m, contendo duas linhas de soja de 1 m de comprimento, a densidade de plantas foi ajustada para 15 plantas/linha, perfazendo 30 plantas/gaiola.

Foram estudadas quatro densidades de percevejos/gaiola (0, 2, 4, 8 e 16) em dois experimentos, um com 10 outro com 4 dias de infestação. No primeiro caso a infestação iniciou no estágio R1 da soja (início de florescimento) e no segundo caso em R2 (florescimento pleno). Foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso, cada tratamento teve seis repetições e cada unidade experimental foi composta por uma gaiola telada. A infestação foi realizada com insetos adultos coletados em campo. As gaiolas foram vistoriadas periodicamente para detecção e substituição de insetos mortos. As leituras de SPAD (clorofila) e NDVI foram realizadas na mesma data para ambos os experimentos, em 26/11/2012.

Para se obter o Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI) (ROUSE et al., 1973), foi utilizado o aparelho *GreenSeeker® 505 HandHeld Sensor*, é um sensor óptico não formador de imagem capaz de medir tal índice. O NDVI consiste no cálculo da diferença entre emissão e reflexão de dois comprimentos de onda do espectro eletromagnético: infravermelho próximo (0,725-1,1 µm) e vermelho (0,58-0,68µm) (ROUSE et al., 1973), e seu valor varia de -1 a 1. As leituras foram realizadas dentro de cada parcela entre as duas linhas, medindo somente a parte aérea das plantas.

O SPAD fornece leituras que se correlacionam com o teor de clorofila presente na folha. Os valores são calculados pela leitura diferencial da quantidade de luz transmitida pela folha, em duas regiões de comprimento de onda (650 nm e 940 nm), e a absorção de luz pela clorofila ocorre no primeiro comprimento de onda (Swiader & Moore, 2002). As leituras foram realizadas em seis plantas de cada parcela, sendo medido o valor SPAD do trifólio central da terceira folha expandida de cada uma das seis plantas/parcela. O teor de clorofila foi estimado pela equação 1:

$$\text{Teor de Clorofila} = \text{SPAD} \times 0,0007 - 0,0071 \quad (1)$$

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, havendo significância para tratamentos, suas médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

Os índices de SPAD variaram de acordo com a intensidade de ataque de percevejos, tanto no maior (10 dias) como no menor (4 dias) tempo de infestação. O aumento da intensidade de ataque reduziu os valores de SPAD (Tabelas 1 e 2). Maiores valores de SPAD foram observados nas plantas sem ataque de percevejos diferindo estatisticamente da maior intensidade de infestação, 16 percevejos/gaiola, para o tempo de infestação de 10 dias. Enquanto que para o tempo de infestação de 4 dias a média do valor SPAD das plantas sem ataque diferiu de todas as infestações superiores a 4 percevejos/gaiola. Níveis diferenciais de SPAD devido ao ataque de insetos sugadores também foram detectados por GOŁAWSKA et al. (2010) estudando quatro espécies de leguminosas atacadas por pulgões, em alfafa foi observada correlação de 96% entre a densidade da praga e o valor SPAD.

Os valores estimados de clorofila obedeceram a mesma tendência dos valores de SPAD, sendo observada diferença estatística significativa para os dados de ambos experimentos.

Estes resultados indicam que o ataque de percevejos pode afetar o teor de clorofila em níveis detectáveis pelo SPAD. Porém é importante considerar que no presente experimento há uma grande variabilidade dos valores de SPAD obtidos, o que observa-se pela amplitude das leituras e pelo desvio padrão da média. Assim é necessário que novos estudos sejam realizados para entender de forma mais aprofundada a resposta da planta ao ataque de percevejos em diferentes estágios de desenvolvimento da planta, por diferentes tempos de infestação e por meio de leitura realizadas com diferentes intervalos após o final da infestação artificial.

Tabela 1. Valores de SPAD, clorofila e NDVI de plantas de soja infestadas por 10 dias na fase de florescimento com diferentes densidades do percevejo-marrom, *E. heros*.

Densidade de percevejos/30 plantas ¹	SPAD - Média	SPAD - Amplitude da parcela ²	SPAD - Desvio padrão da parcela ²	SPAD - Amplitude da sub-amostra ³	SPAD - Desvio padrão da sub-amostra ³
0 percevejos	35,86 a ⁴	32,70 – 38,23	2,50	28,50 – 40,50	3,35
2 percevejos	35,42 ab	30,50 – 39,37	3,67	26,10 – 43,30	5,10
4 percevejos	34,66 ab	31,45 – 38,60	2,70	26,30 – 41,00	4,04
8 percevejos	34,40 ab	29,70 – 40,13	3,98	27,70 – 40,90	5,22
16 percevejos	33,64 b	29,83 – 39,37	3,36	25,50 – 41,40	4,64
C.V. (%) ⁵	3,01%	-	-	-	-

Densidade de percevejos/30 plantas ¹	Clorofila - Média	Clorofila - Amplitude	Clorofila - Desvio padrão	NDVI - Média	NDVI - Amplitude	NDVI - Desvio padrão
0 percevejos	0,0180 a ⁴	0,0158 – 0,0197	0,0018	0,7867 ns ⁶	0,720 – 0,818	0,0354
2 percevejos	0,0177 ab	0,0143 – 0,0205	0,0026	0,7995	0,779 – 0,810	0,0139
4 percevejos	0,0171 ab	0,0149 – 0,1990	0,0019	0,7998	0,773 – 0,827	0,0208
8 percevejos	0,0170 ab	0,0137 – 0,0210	0,0028	0,7897	0,747 – 0,819	0,0278
16 percevejos	0,0165 b	0,0138 – 0,0205	0,0024	0,8028	0,768 – 0,833	0,0223
C.V. (%) ⁵	4,22%	-	-	1,35%	-	-

¹ A infestação foi iniciada no estádio R1 da soja (16/11/2012). ² Parcela: refere-se a unidade experimental composta por uma gaiola de 1x1m contendo 30 plantas. ³ Sub-amostra: refere-se 6 leituras realizadas em cada parcela. ⁴ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ⁵ C.V. (%) – coeficiente de variação. ⁶ Não houve diferença estatística para tratamentos pelo teste t a 5% de significância.

Tabela 2. Valores de SPAD de plantas de soja infestadas por 4 dias na fase de florescimento com diferentes densidades do percevejo-marrom, *E. heros*.

Densidade de percevejos/30 plantas ¹	SPAD - Média	SPAD - Amplitude da parcela ²	SPAD - Desvio padrão da parcela ²	SPAD - Amplitude da sub-amostra ³	SPAD - Desvio padrão da sub-amostra ³
0 percevejos	35,86 a ⁴	32,70 – 38,23	2,50	28,50 – 40,50	3,35
2 percevejos	34,47 ab	28,73 – 37,10	3,30	27,20 – 40,10	4,18
4 percevejos	33,47 b	30,02 – 35,20	2,15	24,80 – 40,20	4,05
8 percevejos	33,48 b	32,15 – 36,33	1,47	25,60 – 41,00	3,57
16 percevejos	33,41 b	30,17 – 35,40	2,25	22,60 – 39,30	3,94
C.V. (%) ⁵	3,00%	-	-	-	-

Densidade de percevejos/30 plantas ¹	Clorofila - Média	Clorofila - Amplitude	Clorofila - Desvio padrão	NDVI - Média	NDVI - Amplitude	NDVI - Desvio padrão
0 percevejos	0,0180 a ⁴	0,0158 – 0,0197	0,0018	0,7867 ns ⁶	0,720 – 0,818	0,0354
2 percevejos	0,0171 ab	0,0130 – 0,0189	0,0023	0,7957	0,768 – 0,828	0,0205
4 percevejos	0,0163 b	0,0139 – 0,0175	0,0015	0,7983	0,787 – 0,809	0,0082
8 percevejos	0,0163 b	0,0154 – 0,0183	0,0010	0,7917	0,759 – 0,823	0,0217
16 percevejos	0,0163 b	0,0140 – 0,0177	0,0016	0,7955	0,757 – 0,819	0,0215
C.V. (%) ⁵	4,27	-	-	1,39	-	-

¹ A infestação foi iniciada estádio R2 da soja (22/11/2012). ² Parcela: refere-se a unidade experimental composta por uma gaiola de 1x1m contendo 30 plantas. ³ Sub-amostra: refere-se 6 leituras realizadas em cada parcela. ⁴ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância. ⁵ C.V. (%) – coeficiente de variação. ⁶ Não houve diferença estatística para tratamentos pelo teste t a 5% de significância.

Houve variação nas médias dos valores de NDVI medidos das plantas de soja sob diferentes intensidades de ataque, porém não foi detectada diferença estatística em nenhum dos tempos de infestação.

Conclusões

Existe resposta diferencial das plantas de soja devido ao ataque do percevejo-marrom, sendo que o aumento da intensidade de ataque de percevejos reduziu significativamente os valores de SPAD e o teor de clorofila. Porém existe uma elevada variabilidade dos dados medidos em campo, indicando que novos e mais aprofundados estudos devem ser realizados antes que sensores de SPAD/Clorofila possam ser indicados para o diagnóstico do ataque de percevejos em soja. Nas condições do presente estudo o NDVI não foi capaz de detectar a resposta da planta ao ataque de percevejo.

Referências

MINOLTA, C. **Manual for chlorophyll meter SPAD-502**. Osaka: Minolta Radiometric Instruments Divisions, 1989. 22p.

PANIZZI, A.R.; BUENO, A.F.; SILVA, F.A.C. Insetos que atacam vagens e grãos. In: HOFFMANN-CAMPO, C.B.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; MOSCARDI, F. (Eds.) **Soja: manejo integrado de insetos e outros artrópodes-praga**. Brasília: Embrapa, 2012. p. 335-420.

ROUSE, J. W.; HAAS, R. H.; SCHELL, J. A.; DEERING, D. W. Monitoring vegetation systems in the great plains with erts. In: EARTH RESOURCESTECHNOLOGY SATELLITE-1 SYMPOSIUM, 3, 1973, Washington, D. C. **Proceedings...** Washington, D. C.: NASA. Goddard Space Flight Center, 1973, v. 1, p. 309-317. (NASA SP-351).

SWIADER, J.M.; MOORE, A. SPAD - chlorophyll response tonitrogen fertilization and evaluation of nitrogen status in dryland and irrigated pumpkins. **Journal of Plant Nutrition**, v. 25, p.1089-1100, 2002.

GOŁAWSKA, S.; KRZYANOWSKI, R.; ŁUKASIK, I. Relationship between aphid infestation and chlorophyll content in fabaceae species. **Acta Biologica Cracoviensia, Series Botanica**, n.52, v.2, p.76-80, 2010.

Aplicações preventivas de inseticidas intensificam o ataque do percevejo-marrom *Euschistus heros* em soja

CAVALLARI, L.S.¹; ROGGIA, S.²; CAMPOS, T.A. de³; SISMEIRO, M.N.S.³; PEREIRA, J.P.V.¹; LOPES, G.H.³; PASINI, A.³ | 1 Universidade do Norte do Paraná; 2 Embrapa Soja; 3 Universidade Estadual de Londrina.

Introdução

A soja é um dos principais produtos do agronegócio brasileiro, contribuído para sustentabilidade social e econômica do país. O Brasil é atualmente o segundo maior produtor e o maior exportador mundial do grão. A sojicultura brasileira é altamente tecnicizada, porém alguns fatores ainda limitam a expressão do potencial genético da cultura, notadamente clima, propriedades e manejo do solo, genótipos e aspectos fitossanitários, como controle de plantas daninhas, doenças e pragas.

A soja é atacada por várias pragas que podem reduzir a produtividade da cultura. Das pragas que ocorrem em soja os percevejos são os que têm apresentado maior preocupação quanto aos danos causados e a dificuldade de controle. Os percevejos apresentam elevado potencial de dano, pois atacam diretamente a vagem e o grão, causando perdas diretas de rendimento e da qualidade de grão/semente. *Euschistus heros* é considerada a principal espécie atacando soja no Brasil, em relação a outras espécies de percevejo está é mais tolerante aos inseticidas utilizados para o seu controle ao ponto de ocorrerem populações resistentes a inseticidas organofosforados (SOSA-GÓMES et al., 2001, 2009; SOSA-GÓMES & SILVA, 2010).

O período crítico da soja ao ataque de percevejos inicia na formação de vagens (R3). Panizzi et al. (1979) verificaram que as maiores perdas de rendimento ocorreram com ataques entre a 3ª semana a partir da formação de legumes até uma semana antes da granação completa (R6). O ataque de percevejos (*Piezodorus guildinii* e *E. heros*) antes de R3 não produz perdas significativas de produtividade e qualidade de grãos (CORRÊA-FERREIRA, 2005). Entretanto, a presença de percevejos na lavoura já desde entes do início da fase crítica da soja (R3), associada à possibilidade de aproveitamento de pulverizações realizadas para controle de plantas daninhas e doenças, tem estimulado a realização de pulverizações antecipadas (antes de R3).

Apesar de não ser uma prática recomendada, pulverizações preventivas com inseticida são realizadas desde antes da semeadura da soja, e em diferentes momentos na fase vegetativa da cultura, visando sobretudo controlar preventivamente lagartas e percevejos da cultura. Tal procedimento pode não apresentar vantagens para o controle de percevejos, além de afetar negativamente os agentes de controle biológico, aumentar os riscos de ocorrência de surtos de pragas secundárias e conseqüentemente os gastos com inseticida e o risco de intoxicação do agricultor e contaminação do meio ambiente (CORRÊA-FERREIRA et al., 2010). Além disso, o uso não racional de inseticidas aumenta os riscos de desenvolvimento de populações de percevejos resistentes aos produtos.

Assim foi realizado um experimento para avaliar o efeito do manejo de pragas com aplicações preventivas de inseticidas para lagartas e percevejos sobre a densidade populacional de *E. heros* no início da fase crítica de dano desta praga a soja.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na fazenda experimental da Embrapa Soja, em Londrina, PR, na safra agrícola 2012/13. Os tratamentos consistiram em dois sistemas de manejo de pragas: (T1) MIP - manejo integrado de pragas e (T2) controle preventivo. No tratamento T1 não foram realizadas pulverizações com inseticida até o estágio R3 da soja, pois o nível de controle de lagartas não foi atingido. No tratamento T2 todas as aplicações de inseticida foram realizadas associadas a pulverizações com herbicida e fungicida na cultura, assim foram realizadas três pulverizações com inseticidas até o estágio R3, sendo duas com tiametoxam+lambdacialotrina (35,25g+26,50g i.a./ha), uma realizada três dias antes da semeadura e outra no florescimento da soja (estádio R2), além de uma pulverização com o inseticida flubendiamida (24g i.a./ha) no final da fase vegetativa da soja.

A semeadura da soja foi realizada em 05/10/2012 com a cultivar BRS 283, na densidade de 18 sementes/m de linha, espaçamento entre linhas de 50cm e adubação com 250 kg/ha da fórmula NPK 00-20-20. A semente foi tratada com o fungicida carboxina+tiram (50+50g i.a./100Kg de sementes).

Periodicamente foram realizadas amostragens de pragas pelo método do pano-de-batida. Os dados da avaliação realizada no início do estágio R3 da soja foram tabulados e as médias foram comparadas pelo teste estatístico Scott-Knott a 5% de significância.

Resultados e Discussão

A avaliação realizada no estágio R3 da soja, mostra que a densidade *E. heros* no tratamento com manejo preventivo de pragas foi cerca de duas vezes maior do que aquela verificada no tratamento MIP, havendo diferença estatística entre as médias dos tratamentos (Figura 1). No manejo preventivo foram realizadas três pulverizações com inseticida até o estágio R3, sendo duas com inseticida indicado para controle de percevejos (tiametoxam+lambdacialotrina) e uma com inseticida indicado para controle de lagartas (flubendiamida). No tratamento MIP não houve aplicação de inseticidas. Isso indica que a realização de aplicações preventivas não contribui para o manejo de percevejos na cultura da soja como observado também no estudo de Bueno et al. (2011). Além disso, com a aplicação preventiva aumenta-se os gastos com inseticidas e riscos de contaminação do trabalhador, meio ambiente e alimentos, bem como, aumenta a pressão de ataque de percevejos no início da fase crítica da soja ao dano da praga, dificultando o manejo desta podendo demandar um maior número de aplicações até o final do ciclo da cultura em relação ao sistema de uso racional de inseticidas, o Manejo Integrado de Pragas (MIP).

A densidade de insetos predadores foi significativamente menor no tratamento com aplicação preventiva de inseticida, sendo em média duas vezes menor no manejo preventivo em relação ao MIP, indicando que os inseticidas aplicados em T2 são prejudiciais a tais agentes de controle biológico. A densidade de insetos predadores esteve inversamente relacionada à densidade de percevejos, sendo possível que a redução da densidade destes inimigos naturais tenha contribuído para um ataque mais intenso da praga em soja no início da fase crítica da cultura aos danos de percevejos (R3). Os insetos predadores ocorrentes na parte aérea das plantas de

soja, comumente, tem hábito alimentar generalista e atacam principalmente ovos e ninfas de percevejos, bem como, outras pragas da cultura. As aplicações preventivas podem ter afetado negativamente outros grupos importantes de inimigos naturais como os parasitoides de ovos. Parasitoides e predadores representam as principais causas de morte de ovos de percevejos, somados podem ultrapassar 90% de mortalidade de ovos da praga (MEDEIROS et al., 1997).

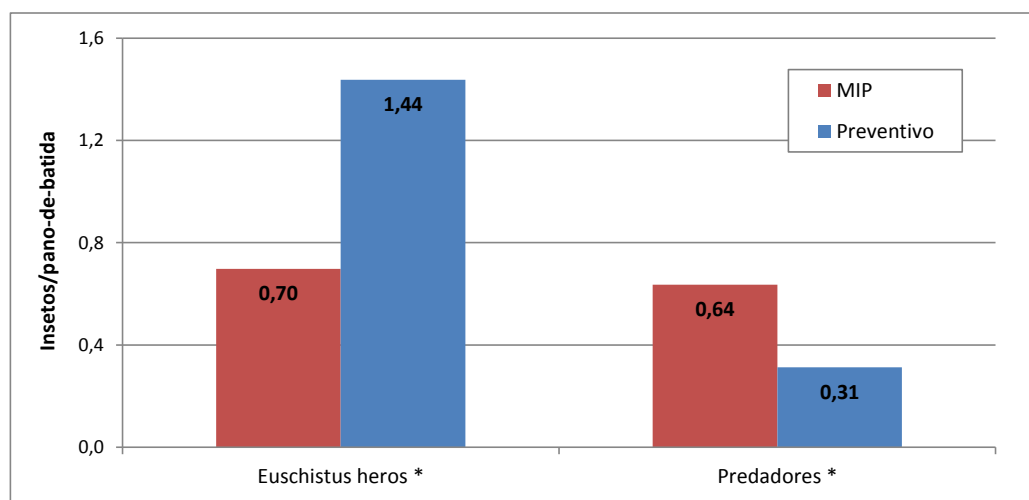


Figura 1. Efeito do manejo preventivo sobre a densidade populacional de *Euschistus heros* e insetos predadores no início do período crítico de dano da soja a percevejos, estágio R3. Safra 2012/13, Londrina, PR. Houve diferença estatística entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Conclusão

A aplicação preventiva de inseticidas para controle de percevejos e lagartas não contribuiu para o manejo eficiente do percevejo-marrom *E. heros*, aumentando a densidade populacional desta praga e reduzindo a densidade de insetos predadores no início da fase crítica da soja ao dano de percevejos, estágio R3.

Referências

- BUENO, A.F.; ROGGIA, S.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; BUENO, R.C.O.F.; FRANÇA-NETO, J.B. Efeito do controle de percevejos realizado em diferentes intensidades populacionais sob a produtividade da cultura da soja e qualidade das sementes. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 32., São Pedro. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, p.65-68, 2011.
- CORRÊA-FERREIRA B, S. Suscetibilidade da soja a percevejos na fase anterior ao desenvolvimento das vagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.11, p.1067-1072, 2005.
- CORRÊA-FERREIRA, B.S.; ALEXANDRE, T.M.; PELLIZZARO, E.C.; MOSCARDI, F.; BUENO, A.de F. **Práticas de manejo de pragas utilizadas na soja e seu impacto sobre a cultura.** Londrina: EMBRAPA SOJA, 2010. 15 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 78).
- MEDEIROS, M.A.; SCHIMIDT, F.V.G.; LOIÁCONO, M.S.; CARVALHO, V.F.; BORGES, M. Parasitismo e predação em ovos de *Euschistus heros* (Fab.) (Heteroptera: Pentatomidae) no Distrito Federal, Brasil. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.26, n.2, p.397-401, 1997.
- PANIZZI, A.R.; SMITH, J.G.; PEREIRA, L.A.G.; YAMASHITA, J. Efeito dos danos de *Piezodorus guildinii* (Westwood, 1837) no rendimento e qualidade da soja. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE PESQUISA DA SOJA, 1., 1979. Londrina. **Anais...** Londrina: Embrapa Soja, 1979. v. 2, p. 59-78.

SOSA-GOMEZ, D.R., I.C. CORSO & L. MORALES. Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and metamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (Fabr.). **Neotropical Entomology**, n.30, p.317-320, 2001.

SOSA-GOMEZ, D.R.; SILVA, J.J da. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.7, p.767-769, 2010.

SOSA-GOMEZ, D.R.; SILVA, J.J da; LOPES, I.O.N; CORSO, I.C.; ALMEIDA, A.M.R.,1 MORAES, G.C.P. de; BAUR, M.E. Insecticide Susceptibility of *Euschistus heros* (Heteroptera: Pentatomidae) in Brazil. **Journal of Economic Entomology**, n.102, v.3, p.1209-1216, 2009.

Algumas características das cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16 em diferentes regimes hídricos

BIANCO, L. F.¹; TREVIZAN, F. H.²; NICOLINO FILHO, C. J.²; OLIVEIRA, T. B. M.²; NEIVERTH, W.³; CRUSIOL, L. G. T.⁴; RIO, A.⁵; SIBALDELLI, R. N. R.⁶; CARVALHO, J. F. C.⁷; FERREIRA, L. C.⁸; NEPOMUCENO, A. L.⁹; NEUMAIER, N.⁹; FARIAS, J. R. B.⁹ ¹Universidade Norte do Paraná - Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ²Bolsista Embrapa, Laboratório de Ecofisiologia, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ³Bolsista CNPq/DTI, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁴Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁵Mestrando USP/ESALQ, Bolsista CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁶Mestrando UTFPR, Londrina, Paraná. ⁷Pós doutoranda/CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁸Pós doutorando/CNPq, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁹Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná.
e-mail: lfbianco@sercomtel.com.br

Introdução

As perdas de produtividade relacionadas à seca têm sido atualmente o principal desafio para a produção de grãos. A produção brasileira para a safra 2012/2013 é estimada em 184,04 milhões de toneladas, 10,8% (17,87 milhões de toneladas) superior aos 166,17 milhões de toneladas produzidos em 2011/12. Este crescimento se deve ao aumento da área plantada e, principalmente, à recuperação da produtividade, sobretudo, das culturas de milho e da soja, que na safra anterior foram severamente prejudicadas pelas chuvas irregulares e estiagens prolongadas, principalmente nos estados da Região Sul e parte do Centro-Oeste do país. Desta forma, a cultura da soja merece destaque, uma vez que registrou crescimento de 23,4%, isto é, 15,55 milhões de toneladas superior à produção da safra anterior, passando de 66,38 para 81,94 milhões de toneladas (CONAB, 2013).

A disponibilidade hídrica é considerada o fator climático de maior efeito sobre a produtividade agrícola (FIOREZE et al., 2011). Na cultura da soja, diversas pesquisas comprovam que o período reprodutivo é o mais sensível ao déficit hídrico. No entanto, não há consenso entre os autores quanto ao(s) estágio(s) mais crítico(s) à baixa umidade do solo. A necessidade de água na soja aumenta com o desenvolvimento da planta, atingindo o máximo no florescimento-enchimento de grãos e decresce depois deste estágio fenológico. Déficits hídricos expressivos durante tais estágios provocam alterações fisiológicas nas plantas, causando queda prematura de folhas e flores e abortamento de vagens, além de reduzir a produtividade de grãos (FIETZ e URCHEI, 2002). Dentro deste contexto, a busca de cultivares de soja mais tolerantes à seca bem como a melhor compreensão dos mecanismos de tolerância ao estresse hídrico tem sido foco constante das pesquisas atuais.

O objetivo foi avaliar a influência do estresse hídrico sobre as cultivares de soja convencionais BR 16 e Embrapa 48, consideradas sensível e tolerante ao estresse hídrico, respectivamente, em resposta a quatro disponibilidades hídricas no campo.

Material e Métodos

O experimento foi implantado no dia 05 de novembro de 2012 e conduzido nos campos experimentais da Embrapa Soja, localizada em Londrina-PR, durante a safra 2012/13. As condições de manejo e cultivo seguiram as recomendações da Embrapa Soja, com espaçamento entre linhas 0,5 m. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com

parcelas subdivididas. Nas parcelas experimentais foram distribuídas duas cultivares de soja convencionais, a BR 16 e a Embrapa 48, e nas subparcelas quatro disponibilidades hídricas e quatro blocos. Destas, dois tratamentos foram conduzidos em ambiente descoberto (presença de chuva) e os outros dois tratamentos desenvolvidos sob coberturas móveis (*rain out shelters*) programadas para fechar na presença de chuva a fim de simular condições de seca e induzir estresse hídrico nas plantas. Os tratamentos na área descoberta foram denominados descoberto irrigado (DI) e descoberto não irrigado (DNI). Em condições de seca, os tratamentos foram denominados estresse no período vegetativo (EV) e estresse no período reprodutivo (ER), de acordo com o estágio em que o estresse foi induzido. Na fase de EV, a ausência de chuva teve início no estágio V4, aos 30 dias após a semeadura (DAS), e as plantas voltaram a receber chuva a partir do estágio R2 (52 DAS). No ER, as plantas deixaram de receber chuva a partir do estágio R2 até a colheita.

Resultados de pesquisa das variáveis altura de plantas (cm) e número de nós foram obtidos a partir de coletas realizadas no dia 28 de janeiro de 2013, no estágio R5, e no período entre 05 de março e 03 abril de 2013, quando as plantas encontravam-se no estágio R8. Na primeira coleta (estádio R5), também se obteve o índice de área foliar (IAF), definido como a razão entre a área foliar e a unidade de superfície de solo ocupada por tais plantas (WATSON, 1947; GALVANI et al., 2000). Em R8, foram obtidos, também, o número e massa seca total de sementes (g), bem como o número e massa seca de vagens com sementes (g). Os dados apresentaram distribuição normal da média e atenderam aos demais pressupostos da análise de variância (ANOVA). Desta forma, os dados foram submetidos à ANOVA e às comparações múltiplas de médias realizadas pelo teste de Tukey por meio do programa computacional Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2010).

Resultados e Discussão

Não foram observadas diferenças significativas, em ambos os estádios avaliados (R5 e R8), na altura de plantas (Figuras 1A e 1B), assim como no número de nós do caule em R5 (Figura 1C) e em R8 no tratamento DI (Figura 1D). Nos demais tratamentos (EV, ER, DNI), a cultivar BR 16 apresentou maior número de nós em R8 que a cultivar Embrapa 48. Embora Desclaux et al. (2000) e Salinet (2009) tenham afirmado que o estresse hídrico pode levar ao menor número de nós, isto não foi evidenciado no presente trabalho.

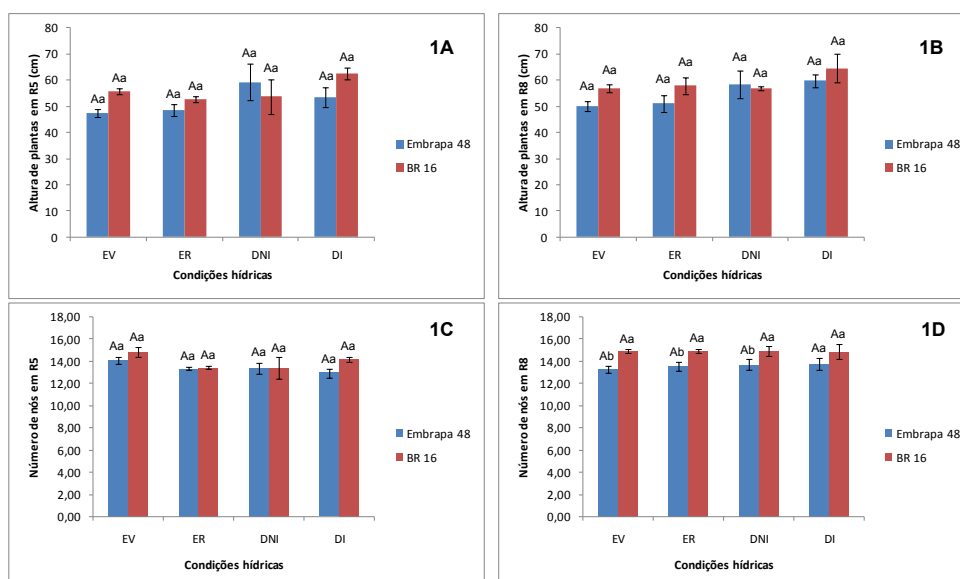


Figura 1. Altura de plantas (cm) e número de nós das cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16. R5: coleta em 28/01/13. R8: coletas no período entre 05 de março de 2013 e 03 abril de 2013. EV: estresse no período vegetativo; ER: estresse no período reprodutivo; DNI: descoberto não-irrigado; DI: descoberto irrigado. $n = 4 \pm$ erro padrão. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas entre condições hídricas (dentro de cultivar) e minúsculas entre cultivares (dentro de condição hídrica) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A cultivar Embrapa 48 apresentou em R5 menor IAF sob EV em relação ao tratamento DI (Figura 2). A redução no incremento do IAF está associada, usualmente, à pequena redução no tamanho das folhas individuais ou à menor produção de folhas em situações de déficit hídrico (SANTOS e CARLESSO, 1998). Além disso, deficiências hídricas expressivas em campo provocam alterações fisiológicas nas plantas como o fechamento estomático e o enrolamento dos folíolos devido à desidratação dos tecidos. Este comportamento de redução da transpiração pode ter como consequência a queda prematura de folhas (KUSS, 2006). Desta forma, no presente estudo, sugere-se que a cultivar Embrapa 48 possua um possível mecanismo de controle sobre a expansão da área foliar, com vistas a evitar perda de água por transpiração, quando sob estresse hídrico.

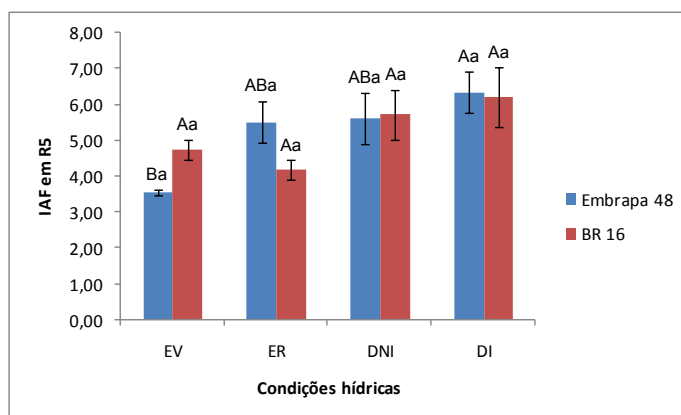


Figura 2. Índice de área foliar (IAF) das cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16. R5: coleta em 28/01/13. R8: coletas no período entre 05 de março de 2013 e 03 abril de 2013. EV: estresse no período vegetativo; ER: estresse no período reprodutivo; DNI: descoberto não-irrigado; DI: descoberto irrigado. $n = 4 \pm$ erro padrão. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas entre condições hídricas (dentro de cultivar) e minúsculas entre cultivares (dentro de condição hídrica) não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Ambas as cultivares em R8 apresentaram menor número total de sementes sob EV e ER em relação aos tratamentos DI e DNI (Figura 3A). Tal fato pode ter sido resultado do abortamento de flores e de vagens que pode ocorrer em função de seca acentuada durante a fase final de floração e formação das vagens (EMBRAPA SOJA, 2013). Assim, o estresse hídrico imposto durante o período de floração é considerado o principal fator de aumento do abortamento. Estudos indicaram que o déficit de água na pré-antese afeta negativamente a fecundação dos óvulos, ocasionando maior abortamento de flores (BRANCHI et al., 2006).

Se observarmos a massa seca total de sementes (g) em R8 (Figura 3B), e comparando as disponibilidades hídricas, os maiores valores encontrados para a cultivar Embrapa 48 ocorreram no DI, enquanto na cultivar BR 16 foi obtido nas plantas submetidas ao tratamento DNI. Dentro do tratamento DNI, a cultivar BR 16 indicou maiores valores do que a Embrapa 48 (Figura 3B). Deve ser ressaltado que a safra 2012/2013 caracterizou-se por períodos de precipitação intensa, com picos de 87,7 e 57 mm no primeiro e terceiro decêndios de novembro de 2012, respectivamente; 102,3 mm no terceiro decêndio de dezembro de 2012; 71,4 mm no segundo decêndio de janeiro de 2013, período da coleta de amostras em R5; 117,1 mm no segundo decêndio de fevereiro de 2013 e 124,6 mm no segundo decêndio de março de 2013, já no período de colheita em R8 (05/03/13-03/04/13). Assim, tais períodos de precipitação intensa podem ter sido responsáveis pela ausência de diferenças estatísticas significantes entre alguns resultados do presente estudo sob as condições DI e DNI.

Já para o número de vagens com sementes (Figura 3C) e massa seca de vagens com sementes (g) (Figura 3D) em R8, a cultivar Embrapa 48 obteve os maiores valores na condição DI, enquanto na cultivar BR 16 os maiores valores foram detectados na condição DNI em relação

às demais condições hídricas. Além disso, a cultivar Embrapa 48 apresentou maior número de vagens com sementes que a cultivar BR 16 na condição DI (Figura 3C), enquanto o inverso se observou para massa seca de vagens com sementes na condição DNI (Figura 3D). Deve ser ressaltado que a cultivar Embrapa 48 sob EV e ER indicou menor número de vagens com sementes que as plantas submetidas aos tratamentos DNI e DI e menor massa seca de vagens com sementes do que as plantas sob a condição DI, enquanto a cultivar BR 16 sob EV e ER indicou menor número de vagens com sementes e massa seca de vagens com sementes do que as plantas sob a condição DNI. Esta diminuição pode ter sido em função do estresse hídrico poder levar à redução no peso do grão durante o período de enchimento de grãos da soja (DESCLAUX et al., 2000). Tal fato se deve ao decréscimo do suprimento de fotoassimilados pela planta e/ou inibição do metabolismo do grão (SALINAS et al., 1996). Pode ocorrer também redução no rendimento pela menor atividade fotossintética da folha e menor remobilização de C e N para o grão (SOUZA et al., 1997).

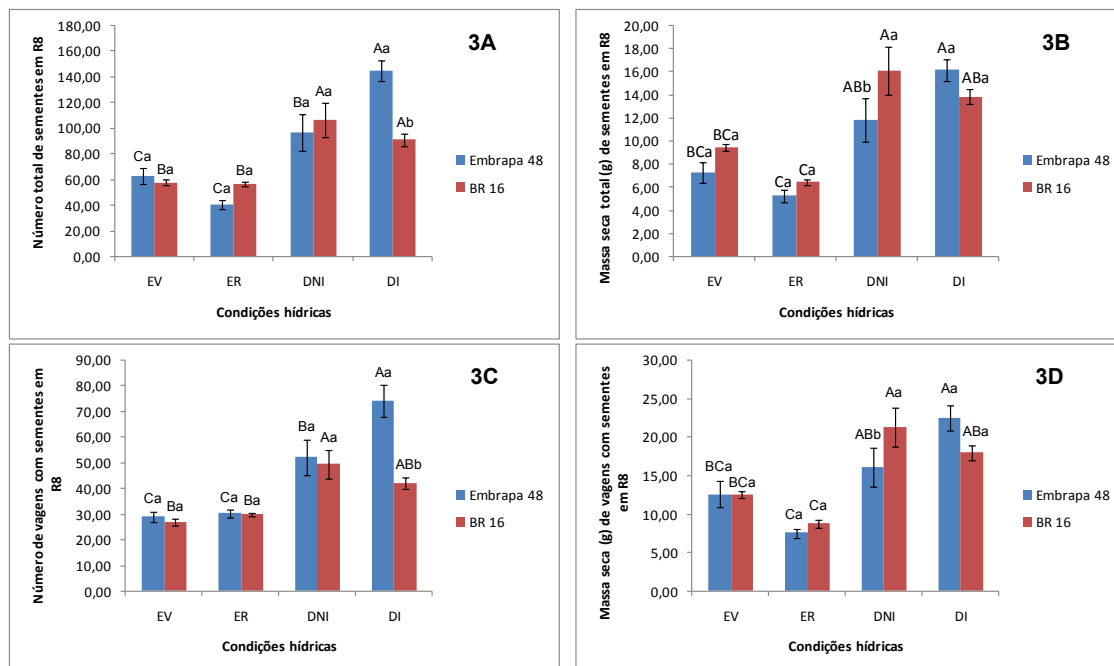


Figura 3. Número total de sementes, massa seca total de sementes (g), número de vagens com sementes e massa seca de vagens com sementes (g) das cultivares de soja Embrapa 48 e BR 16. R8: coletas no período entre 05 de março de 2013 e 03 abril de 2013. EV: estresse no período vegetativo; ER: estresse no período reprodutivo; DNI: descoberto não-irrigado; DI: descoberto irrigado. $n=4 \pm$ erro padrão. Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas entre condições hídricas (dentro de cultivar) e minúsculas entre cultivares (dentro de condição hídrica) não diferem entre si teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Conclusões

- De maneira geral, não houve influência das diferentes condições hídricas sobre a altura, o número de nós e o índice de área foliar em ambas as cultivares avaliadas, embora a cultivar Embrapa 48 tenha apresentado menor número de nós em R8 que a cultivar BR 16 sob as condições EV, ER e DNI;
- O estresse hídrico, tanto no período vegetativo quanto no reprodutivo, resultou de maneira geral em menor número e massa seca total de sementes, bem como menor número e massa seca de vagens com sementes em R8 em ambas as cultivares avaliadas.

Referências

- BRANCHI, I. H.; ROSA, A. S.; BLOCHTEIN, B. Estresse hídrico e taxa de abortos em flores de soja no Rio Grande do Sul. In: XVIII Salão de Iniciação Científica - Ciências Agrárias, 2006, Porto Alegre, BR. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2006. p.142.
- CONAB. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sétimo levantamento, abril 2013.** Companhia Nacional de Abastecimento. Brasília: Conab, 2013. 28 p.
- DESCLAUX, D.; HUYNH, T.; ROUMET, P. Identification of soybean plant characteristics that indicate the timing of drought stress. **Crop Science**, Madison, v.40, n.3, p.716-722, 2000.
- EMBRAPA SOJA. **Sistemas de produção, nº1. Tecnologias de Produção de Soja. Região Central do Brasil 2004.** Disponível em: www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/retencao.htm. Acesso: 23 de abril de 2013.
- FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema de análise de variância.** Versão 5.3. UFLA, Lavras, 2010.
- FIETZ, C. R.; URCHEI, M. A. Deficiência hídrica da cultura da soja na região de Dourados, MS. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.6, n.2, p.262-265, 2002.
- FIGUEIREDO, S. L.; PIVETTA, L. G.; FANO, A.; MACHADO, F. R.; GUIMARÃES, V. F. Comportamento de genótipos de soja submetidos a déficit hídrico intenso em casa de vegetação. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 58, n.3, p. 342-349, 2011.
- GALVANI, E.; ESCOBEDO, J. F.; CUNHA, A. R.; KLOSOWSKI, E. S. Estimativa do índice de área foliar e da produtividade de pepino em meio protegido- cultivos de inverno e de verão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.4, n.1, p.8-13, 2000.
- KUSS, R.C.R. **Populações de plantas e estratégias de irrigação na cultura da soja.** 2006. 80p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- SALINAS, A. R.; ZELENER, N.; CRAVIOTTO, R. M.; BISARO, V. Respuestas fisiológicas que caracterizan el comportamiento de diferentes cultivares de soja a la deficiencia hídrica en el suelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.5, p.331-338, 1996.
- SALINET, L. H. **Avaliação fisiológica e agrônômica de soja geneticamente modificada para maior tolerância à seca.** 2009. 75p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2009.
- SANTOS, R.F.; CARLESSO, R. Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.2, n.3, p.287-294, 1998.
- SOUZA, P. I.; EGLI, D. B.; BRUENING, W. Water stress during seed filling and leaf senescence in soybean. **Agronomy Journal**, Madison, v.89, n.5, p.807-812, 1997.
- WATSON, D. J. Comparative physiological studies on the growth of field crops. II - The effect of varying nutrient supply on net assimilation rate and leaf area. **Annals of Botany**. London, v.11, n. 44, p. 375-407, 1947.

Identificação do número de inserções via *Southern blot* em linhagens de soja geneticamente modificadas

Lima, LFS^{1,2}; Freitas, RA^{1,3}; Marin, SRR¹; Nepomuceno, AL¹.¹Embrapa Soja, Londrina; ²Centro Universitário Filadélfia/ Bolsista Embrapa*; ³Univ. Est. do Norte do Paraná/ Bolsista CNPq Brasil*;
*E-mail: lfernandodelima@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Atualmente, o melhoramento de plantas pode recorrer às técnicas de engenharia genética para acelerar o processo do melhoramento e transpor barreiras de incompatibilidade sexual através da hibridização somática ou da introdução de genes específicos em células vegetais, por métodos de transformação diretos ou indiretos (FALEIRO e DE ANDRADE, 2011). O método direto de transformação via biobalística é baseado na aceleração de micropartículas revestidas com o DNA exógeno, e apesar de estar sendo gradualmente substituído pela transferência indireta, ainda é uma alternativa utilizada na obtenção de culturas geneticamente modificadas (GM), principalmente devido ao fato de ser uma metodologia genótipo independente (ALTPETER et al., 2005). O emprego desta técnica pode resultar em integrações complexas com eventos apresentando múltiplas cópias do transgene, ou mesmo integração de cópia única, dependendo da concentração de DNA utilizada no processo (LOWE et al, 2009).

A integração de uma cópia única, intacta do cassete de expressão do transgene é desejável e benéfica, pois reduz a possibilidade dos eventos GMs apresentarem uma menor expressão, instabilidade ou mesmo silenciamento do transgene ou de genes endógenos, fenômeno em geral associado à eventos com múltiplas inserções. Uma única cópia integrada ao genoma também facilita a caracterização molecular e a transferência de traços transgênicos para gerações seguintes, além da aprovação de linhas comerciais, onde a inserção de uma única cópia do transgene é geralmente necessária (CHAWLA et al 2006;. MENG et al 2006;. SCHUBERT et al. 2004). Desta forma, plantas com uma ou até duas cópias do transgene são preferidas para uma expressão estável e de alto nível de um gene exógeno, uma vez que, a complexidade da integração do transgene no genoma destinatário pode ser um determinante importante na expressão do transgene e no desempenho em campo das lavouras transgênicas.

O número de cópias inseridas de um transgene pode ser estimado por meio de análises de *Southern Blot*, metodologia que permite a detecção de fragmentos específicos em amostras complexas. Os resultados desta técnica são de grande confiabilidade e uma prova molecular da integração de genes exógenos no genoma vegetal, auxiliando a seleção de eventos com menor número de inserções.

Sendo assim, é essencial identificar os eventos GMs que contêm o transgene, e determinar o número de cópias integradas ao seu genoma. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes eventos de soja geneticamente modificados obtidos via biobalística, comparando-os quanto ao número de inserções, através da técnica de *Southern blot*.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Embrapa Soja. Inicialmente, nove eventos de plantas de soja GMs, obtidos pelo método de transformação via biobalística, foram avaliados para a presença do transgene. O DNA genômico de folhas foi obtido empregando o protocolo Doyle-Doyle (1987), e quantificado por espectrofotometria (260nm/280nm) em NanoDrop. Uma análise de PCR convencional utilizando um conjunto de *primers* específicos para a região codante do transgene com produto de amplificação de 649pb foi realizada para seleção dos eventos positivos. A reação de PCR foi realizada em volume final de 25µL composta de 5µM de cada primer, 0,4mM de dNTP's, 2 mM cloreto de magnésio, 1U de Taq DNA polimerase e aproximadamente 60 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador modelo Veriti Applied Biosystems e a ciclagem utilizada foi composta por desnaturação inicial de 95°C por 5 min, seguida de 35 ciclos de 95°C por 30 seg, 55°C por 30 seg e 72°C por 30 seg e 72°C por 7 min. Os produtos das reações de amplificação foram submetidos a uma eletroforese em gel de agarose a 1,2% e visualizados em transluminador UV.

Sete eventos contendo o transgene foram selecionados e o número de inserções foi estimado através da técnica de *Southern Blot*. Aproximadamente 10µg de DNA total foram digeridos por 16h, a 37° C, com a enzima *HindIII*, que realiza corte único no plasmídeo, linearizando-o. Os fragmentos foram separados em gel de agarose a 0,8%, com tampão TAE 1X por um período de 3h. Após eletroforese, o gel foi incubado por 10 min em solução de depurinação, seguido de incubação por 30 min em solução de desnaturação, e mais 30 min em solução de neutralização (REED e MANN, 1985). Após as lavagens o DNA foi transferido por capilaridade durante 20h em solução SSC 10X, para uma membrana de nitrocelulose carregada positivamente. Após a transferência a membrana foi exposta por 5 min a luz ultravioleta para fixação do DNA.

Para a construção da sonda, uma reação de PCR convencional conforme descrito acima foi realizada, e o produto de PCR foi purificado utilizando o kit Wizard SV Gel and PCR Clean UP (Promega). A marcação da sonda foi realizada utilizando o kit *DECAprime* (Ambion) e [32P] d-CTP. Após a marcação, a sonda foi purificada utilizando o kit Wizard SV Gel and PCR Clean UP (Promega). A reação de hibridização foi conduzida a 42°C, por um período de 18h, em solução de hibridização Hyb (Ambion), contendo aproximadamente 25µL de sonda. Após o período de incubação, a membrana foi lavada duas vezes durante 10 min, a 42°C com cada uma das soluções SSC 2X, SSC 1X e SSC 0,1X, para a retirada do DNA não hibridizado e do excesso de sonda. Finalmente, a membrana foi colocada para exposição em filme radiográfico Kodak *OXMat*. O filme foi revelado com solução reveladora (Kodak) e fixado com solução fixadora (Kodak).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O termo inserto se refere à presença física de um cassete de expressão no genoma, assim, uma planta diplóide homozigota com duas cópias tem na verdade quatro insertos, que podem estar no mesmo locus ou em loci diferentes; e uma planta hemizigota com duas cópias tem dois insertos, no mesmo locus ou em cromossomos distintos. A presença do transgene de interesse foi confirmada em sete eventos de soja geneticamente modificados (figura 1). Através da análise de *Southern blot* foi possível estimar a quantidade de inserções do transgene para os eventos positivos (figura 2). O número de bandas observadas variou de uma a seis ou mais, representando as inserções. Sendo assim, os eventos 1Ab27 e 1Ab3058 apresentaram apenas uma cópia, o evento 1Ab58 três cópias, os eventos 1Ab59 e 1Ab1333 apresentaram quatro cópias, enquanto os eventos 1AB1378 e 1Ab3069 apresentaram aparentemente seis bandas que pode representar várias cópias, pois devido a intensidade de algumas bandas fica difícil inferir com certeza o número exato, pois cada banda com alta intensidade pode representar mais de

uma inserção. O resultado de múltiplas inserções é esperado considerando que os eventos foram obtidos pela técnica de biobalística que pode proporcionar a inserção de múltiplas cópias no genoma.

Os eventos 1Ab1378 e 1Ab3069 que apresentaram alto número de inserções do transgene, provavelmente são eventos mais complexos, podendo estas plantas possuir inserções em diferentes loci, o que possibilita rearranjos muito complexos que podem levar a perda dos mesmos ou ao silenciamento. Além disso, cópias excessivas do transgene inserido podem comprometer o desenvolvimento e metabolismo da planta, pelo efeito posicional das inserções que podem comprometer genes do metabolismo primário (KIM *et al.*, 2004), além de outros possíveis desarranjos nos cromossomos.

A presença de poucas cópias é importante para a expressão estável e de alto nível do transgene, e em estudos de expressão gênica facilita a interpretação da real interação entre as moléculas, uma vez que muitas cópias podem levar à desarranjos cromossômicos, silenciamento e outros efeitos. Desta forma, os eventos com apenas uma inserção são fortes candidatos a evento "elite". Os eventos com alto número de inserções, no entanto, podem ser considerados promissores para estudos comparativos de expressão e possivelmente silenciamento gênico.

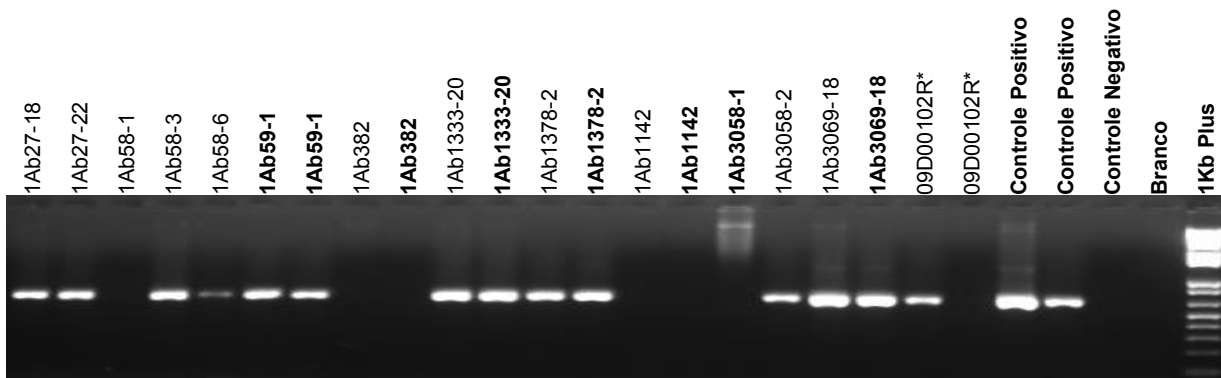


Figura 1 - PCR convencional realizado com *primers* específicos para a região codante do transgene em plantas de soja transformadas via biobalística para seleção de eventos positivos.

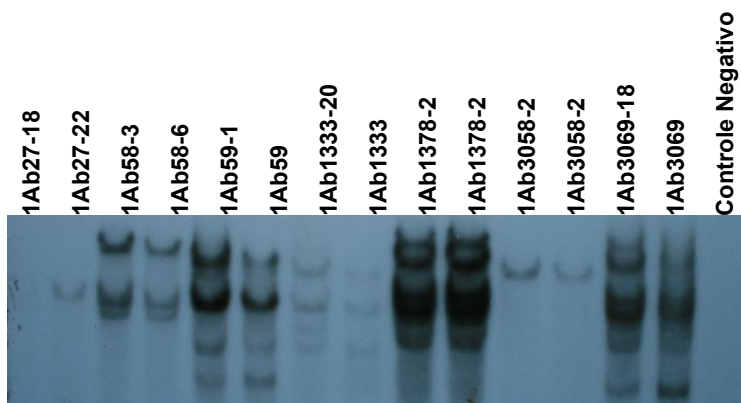


Figura 2 – SouthernBlot das plantas de soja geneticamente modificadas.

CONCLUSÃO

O número de cópias do transgene inseridas no genoma é um critério importante para determinar a qualidade de eventos transgênicos. A análise de *Southern blot* permitiu selecionar dois eventos que apresentaram apenas uma inserção: 1Ab27 e 1Ab3058, como candidatos quanto ao número de inserções, e dois eventos, 1Ab1378 e 1Ab3069, promissores para o estudo comparativo da expressão e silenciamento gênico. Sendo assim, em uma próxima etapa, estudos de expressão gênica relativa serão realizados para avaliação do efeito do número e posição das inserções e posterior seleção de um evento "elite".

REFERÊNCIAS

- ALTPETER, F.; BAISAKH, N.; BEACHY, R.; BOCK, R.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P.; DANIELL, H.; DATTA, K. et al. Panicle bombardment and the genetic enhancement of crops; myths and realities. **Molecular Breeding**, v.15, p. 305-327, 2005.
- CHAWLA, R.; ARIZA-NIETO, M.; WILSON, A.J.; MOORE, S. K.; SRIVASTAVA, V. Transgene expression produced by biolistic-mediated, site-specific gene integration is consistently inherited by the subsequent generations. **Plant Biotechnology Journal**, v.4, p. 209–218, 2006.
- DOYLE, J. J. & DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bull**, v.19, p.11-15, 1987.
- FALEIRO, F. G.; DE ANDRADE, S. R. M.; Biotecnologia: estado da arte e aplicações na agropecuária, **Embrapa Cerrados**, Planaltina-DF, cap. 15, 2011.
- KIM, S.; KANG, J.Y.; CHO, D. I.; PARK, J. H.; KIM, S.Y. ABF2, an ABRE-binding bZIP factor, is an essential component of glucose signaling and its over expression affects multiple stress tolerance. **The Plant Journal**, v.40, p.75-87, 2004.
- LOWE, B. A.; SHIVA PRAKASH N.; WAY M.; MANN M. T.; SPENCER T. M.; BODDUPALLI R.S. Enhanced single copy integration events in corn via particle bombardment using low quantities of DNA. **Transgenic Research**. Dec;18(6), p.831-840, 2009.
- MENG, L.; ZIV, M.; LEMAUX, P. G. Nature of stress and transgene locus influences transgene expression stability in barley. **Plant Mol Biol**, v.62, p.15–28, 2006.
- REED, K.C.; MANN, D.A. Rapid transfer of DNA from agarose gels to nylon membranes. **Nucleic Acids Research**, v.25, p. 7207-7221, 1985.
- SCHUBERT, D.; LECHTENBERG, B.; FORSBACH, A.; GILS, M.; BAHADUR, S.; SCHMIDT, R. Silencing in Arabidopsis T-DNA transformants: the predominant role of a gene-specific RNA sensing mechanism versus position effects. **Plant Cell**, v.16, p.2561–2572, 2004.

Método de extração de DNA de folhas de soja adaptado para larga escala

Maia, M.S.¹; Brumer, B.B.¹; Novaes, R.M.L.²; Silva, D.C.G.²; Kuwahara, M.K.²; Dalcin, M.B.¹; Marcelino-Guimaraes, F.C.²; Abdelnoor, R.V.².

Universidade Estadual do Norte do Paraná/ Bolsista EMBRAPA-SOJA¹, EMBRAPA-SOJA²

Introdução

A extração de DNA de alta qualidade a partir de plantas é ainda um problema importante no campo da biologia molecular (Cankar, 2006). Seu isolamento efetivo é um passo crucial para técnicas de análises diretas de DNA, no entanto, são muitos os problemas descritos por autores para o seu isolamento e purificação (Mazza, 2000). Esses problemas têm sido atribuídos ao elevado teor de proteínas, polissacarídeos, compostos fenólicos e compostos secundários que são extraídos juntamente com o DNA e afetam a sua qualidade, ocasionando dificuldades na sua restrição, amplificação e clonagem e também, interferência na atividade de enzimas e inibição da PCR. Esses compostos ligam-se ao DNA após a lise das células e muitas vezes não podem ser removidos por procedimentos convencionais de extração (Maliyakal, 1992).

A maior parte dos protocolos de extração de DNA de plantas disponível deriva dos métodos descritos por Dellaporta *et. al.* (1983) e Doyle e Doyle (1987, 1990). Esses métodos são demorados e comumente adaptados para tubos de PCR, o que dificulta a extração de DNA de para um grande número de amostras. Muitos laboratórios fazem análises genético-moleculares em larga escala, necessitando de protocolos de extração rápidos, de baixo custo, e com DNA de qualidade e em quantidades suficientes para que se atenda o objetivo da análise. Encontram-se disponíveis no mercado kits comerciais para extração de DNA de plantas que atendem aos requisitos citados acima, os quais, embora tenham bom desempenho, apresentam custos elevados, o que limita sua aquisição e utilização por vários laboratórios. O Laboratório de Genética Molecular e Seleção Assistida (LGMSA) da Embrapa Soja Londrina-PR realiza prestação de serviços que atendem tanto para o programa de melhoramento da própria empresa, quanto para empresas particulares, gerando grandes demandas de análises. O laboratório já conta com um protocolo de extração de larga escala para folhas, no entanto, este não possui etapas de purificação o que restringe a sua utilização para algumas análises que exigem DNA de melhor qualidade. Com isso o presente trabalho tem por objetivo desenvolver um protocolo de extração de DNA de soja de qualidade e quantidade suficientes, baixo custo e adaptado para larga escala.

Materiais e Métodos

Anteriormente ao desenvolvimento do presente trabalho, realizou-se um levantamento de protocolos de extração de DNA de plantas disponíveis em artigos científicos, revistas especializadas e na forma de *kits* comerciais. Foram pré-selecionados alguns protocolos que se mostraram promissores para obtenção de DNA de qualidade, custo baixo e potencial para adequação à larga escala. Após testes iniciais, verificou-se que um deles melhor atendia aos

critérios citados acima, o protocolo descrito por Kotchoni e Gachomo (2009) denominado “KG”. Modificações foram feitas no protocolo original, visando à sua otimização, como a adição de etapas de purificação. Desenvolveu-se a primeira versão do KG modificado (KGM versão 1; tabela 1) que atendeu parcialmente às demandas do LGMSA. No entanto, o método ainda apresentava algumas restrições, como produção de pouca quantidade de DNA e não adaptação a utilização em larga escala e por isso optou-se pelo desenvolvimento de um novo protocolo de extração de DNA baseado no KGM versão 1.

Tabela 1. Protocolo de extração de DNA para tecidos de folha de soja, adaptado do método Kotchoni e Gachomo (2009), denominado KGM versão 1. Embrapa Soja, 2013.

Etapas	Procedimentos
1.	Coleta de um disco foliar e acondicionamento em recipiente de capacidade de 2 mL;
2.	Colocar junto com a amostra uma esfera de teflon (polietileno) de ~ 6 mm de \varnothing ;
3.	Macerar no GenoGrinder por 30 segundos a 1750 rotações/min;
4.	Adicionar 400 μ L do componente A acrescido de 2 μ L do componente B;
5.	Vortexizar suavemente e dar um spin;
6.	Incubar a 65°C com 210 RPM por 30 min;
7.	Retirar da incubação e adicionar 260 μ L do componente C; vortexizar suavemente e incubar a 4°C por 15 min;
8.	Centrifugar a 4000 RPM, 4°C por 15 min;
9.	Transferir 400 μ L do sobrenadante para um tubo de 1,5 mL; adicionar 400 μ L do componente D; vortexizar suavemente e incubar a -20°C por 15 min;
10.	Centrifugar a 4000 RPM, 4°C por 15 min;
11.	Descartar o sobrenadante suavemente de modo que o DNA precipitado (pellet) continue aderido ao fundo do tubo; depois adicionar 500 μ L de componente E;
12.	Centrifugar a 4000 RPM, 4°C por 15 min;
13.	Descartar o sobrenadante suavemente e secar o pellet em centrífuga aquecida a 60°C por 15min
14.	Diluir o DNA em 50 μ L do componente F
15.	Ressuspender o DNA em B.O.D. a 35°C por 30 min
16.	Quantificar

O desenvolvimento do protocolo KGM versão 2 e 3 foi realizado no LGMSA no período de outubro de 2012 até abril de 2013. Foram realizadas uma série de testes e modificações da versão 1, as quais serão detalhadas a seguir. Os testes foram feitos a partir de tecidos de folhas de soja frescas, coletadas com alicate furador para obtenção de discos foliares de cerca de cinco mm de diâmetro. Para verificar a eficiência do método de extração, avaliou-se a quantidade e a qualidade do DNA, além de sua performance em ensaios de genotipagem na reação em cadeia da polimerase em Tempo Real (RT-PCR). A quantidade de DNA foi estimada por espectrofotometria no NanoDrop ND-1000 e por visualização da intensidade de bandas em gel de agarose, de acordo com protocolos otimizados pelo laboratório Biotecnologia Vegetal. A qualidade do DNA foi avaliada de acordo com análises da densidade óptica (OD) em espectrofotometria no equipamento NanoDrop. A relação entre a absorbância do DNA (260 nm) e de proteína (280nm) ou de polissacarídeos (230nm) foi usada para avaliação dessa qualidade do DNA. Considera-se de baixa qualidade do DNA quando o índice 260/280 é menor que 1,6 e ótimo quando maior que 1,8. Para o índice 260/230 considera-se de baixa qualidade quando menor que 1,6 e ótima quando maior que 1,9 (NanoDrop, 2007). Para analisar a eficiência da amplificação do DNA extraído em ensaios de genotipagem, foram avaliados os valores de *CycleThreshold* (CT) em corridas de Quantificação Absoluta utilizando-se *primers* de genotipagem no equipamento RealTime 7900HT. Os CTs equivalem à quantidade de ciclos que a amplificação da amostra leva para ser detectada no processo de termociclagem no RT-PCR.

Foram utilizados alguns parâmetros para serem testados na tentativa de eliminar problemas decorrentes do protocolo de extração e se alcançar o objetivo proposto acima. O trabalho foi dividido em duas etapas: a primeira buscou o desenvolvimento do protocolo de extração para tubos de 2mL, em que se testou variações nos equipamentos da etapa de incubação (etapa 6), tipos de folhas, quantidades de discos foliares para a extração de DNA e quantidades dos componentes utilizados no protocolo de extração. A segunda etapa visou o desenvolvimento de um protocolo de extração para placas de 96 poços profundos (DeepWell) utilizando como base os resultados obtidos na primeira etapa, permitir assim a realização do protocolo de extração em larga escala. Como a extração em DeepWell poderá ser feita com 96 amostras de folhas de uma só vez com auxílio de pipeta multicanal a quantidade de amostras extraídas em um mesmo intervalo de tempo tende a aumentar, possibilitando extrações em larga escala. Nesse segundo momento, foram testadas variações nos formatos e modelos dos blocos, nas quantidades de sobrenadante coletado, nos métodos para secagem do DNA precipitado (pellet) e no tempo de centrifugação na etapa 8. Os detalhamentos de cada teste estão mostrados na Tabela 3 e nos resultados.

Resultados

Primeiramente foram testados dois equipamentos na etapa de incubação (etapa seis do KGM versão1): Banho Maria e Thermomixer. Para a incubação em ambos os equipamentos, as quantidades de DNA extraído foram equivalentes e em relação a valores de CT o Thermomixer se mostrou superior (Tabela 2). Como essa superioridade não foi representativa, decidiu-se utilizar o Banho Maria na etapa 6 devido a uma facilidade no manuseio do equipamento e sua maior capacidade de incubação de amostras.

Tabela 2: Comparação dos resultados obtidos para os testes realizados visando a adaptação do protocolo KGM versão 1 para extração de DNA em baixa escala (primeira etapa) e larga escala (segunda etapa). Os parâmetros e variações testadas foram analisados de acordo com sua quantidade, qualidade e valores de *Cycle Threshold* (CT)

	Parâmetros	Variação	Quantidade*	Qualidade		CT	
			ng/uL	260/280	260/30	Sonda 1	Sonda 2
primeira etapa	Incubação	Banho Maria	29,2			30,67	36,5
		Thermomixer	26,9			26,28	27,08
	Tipo de folha	Congelada	199	1,94	1,42		
		Senescente	117,4	1,84	1,11		
	Quantidade de discos	1	18,2			33,1	35,65
		2	28,1			28,5	31,8
		4	301,2	2	2,4	27	28,8
		6	533,36	1,97	2,25	28,5	30,7
	Quantidades dos componentes C e D	8	609,8	1,95	2,15	31,9	39,5
		400uL de C e 500 de D	559,3	2	2,3	28,4	31,9
300uL de C e 400uL de D		583,9	1,9	2,1	32,05	38,35	
1,0 ml		194,9	1,3	1,1			
Tipos de blocos	2,0 ml	570,3	1,9	1,76			
	2,2 ml	381,9	1,75	1,45			
segunda etapa	Quantidade de sobrenadante coletado	340uL	90,16	1,95	0,94		
		240uL	134,33	1,96	1,2	29,4	30,4
	Secagem do pellet	Temperatura Ambiente	153,23	1,96	1,25	29,4	30,4
		Vortemp	71,26	1,95	0,87		

*Quantidade estimada por espectrofotometria no NanoDrop

*As variações destacadas geraram os melhores resultados e foram incluídos no KGM versão 2 e 3

Para analisar a eficiência quanto a extração em diferentes tipos de material, foram utilizados tecidos de folhas congeladas e em fase de senescência. Ambos os tipos de tecidos apresentaram uma média de concentração de DNA superior a 100 ng/ μ L com índice 260/280 maior que 1,8, ou seja, um valor ótimo (NanoDrop, 2007). Já o índice 260/230 ficou abaixo do valor de 1,6, o qual é o padrão estabelecido como de baixa qualidade. Isso mostrou que a extração está em qualidade boa para o índice que indica presença/ausência de proteínas, portanto já suficiente para algumas análises laboratoriais, mas ainda pode ser melhorado para o índice 260/230. De acordo com esses resultados, o protocolo de extração foi eficiente para obtenção de DNA tanto de amostras de folhas congeladas ou senescentes, o que flexibiliza o momento da coleta.

Em seguida, com o objetivo de aumentar a quantidade de DNA extraído, avaliou-se a capacidade de saturação do tampão de extração (componente A+B; tabela 1) com diferentes quantidades de discos foliares. Para isso, foram testados em uma mesma quantidade de tampão, o uso de um, dois, quatro, seis e oito discos foliares. Foi verificado que a quantidade de DNA aumentou gradativamente com aumento na quantidade de tecido foliar, mantendo os índices 260/230 e 260/280 apresentaram boa relação (Tabela 2). A extração de seis ou oito discos foliares se mostrou semelhantes em relação à quantidade e qualidade do DNA, no entanto a coleta de seis discos é mais rápida e menos dispendiosa. Com isso recomenda-se utilizar seis discos foliares para extração KGM em tubos de 2 mL. Assim, originou-se o KGM versão 2.

Na tentativa de melhorar o índice 260/230, que indica contaminação por polissacarídeos, a qual vinha mostrando-se abaixo do padrão ótimo, testou-se o aumento de certos componentes que compõe o protocolo de extração. O componente C, que precipita carboidratos, foi aumentado para 400 μ L enquanto o componente D foi aumentado para 500 μ L. O protocolo para extração utilizado foi o KGM versão 2 e para critério de comparação foi testado também o mesmo protocolo de extração sem aumentos de componentes. A utilização de 400 μ L de componente C e 500 μ L de componente D não apresentou melhorias na qualidade do DNA (Tabela 2), portanto não é necessário, já que seria gasto uma maior quantidade de reagentes encarecendo a extração. O protocolo KGM versão 2 foi comparado com os protocolos tradicionais *Doyle e Doyle* e *DNEasy* e apresentando quantidades maiores de DNA, qualidade 260/280 equivalente e qualidade 260/230 melhores (tabela 3). Como esse protocolo tem a vantagem de ter um custo bem mais baixo (cerca de R\$ 1,00 por amostra) em relação aos kits comerciais e utilizar reagentes de menor toxicidade que o método *Doyle e Doyle*, mostrou elevado potencial para ser incorporado à rotina do laboratório para extrações em tubos quando a demanda não for excessiva.

Tabela 3. Comparação entre médias da quantificação de DNA em NanoDrop e seu respectivo índices entre os protocolos DNEasy, Doyle e Doyle e KeGM

Extrações	ng/ μ L		260/280		260/230	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Extraídas com DNEasy 1	76,89	63%	1,84	3%	1,58	16%
Extraídas com DNEasy 2	84,25	26%	1,87	2%	1,71	13%
Extraídas com DNEasy 3	111,19	58%	1,8	1%	1,8	13%
Extração CTAB 1	167,64	53%	2	2%	1,32	13%
Extração CTAB 2	212,97	27%	1,96	1%	1,34	7%
Extração KeG Modificado versão 2	503,2		1,94		2,2	

* DP= Desvio Padrão

Com os resultados conclusivos para extração em tubos de 2 mL para uma baixa escala, a segunda etapa visou à otimização da extração em placas de 96 poços fundos (visando a utilização em larga escala). Primeiramente testamos diferentes modelos de placas de 96 poços fundos: de capacidade 1 mL, 2 mL e 2,2 mL. Para cada placa foi realizada a extração segundo o protocolo KGM versão 2. A placa de 96 poços fundos de 2 mL apresentou os melhores resultados, para a quantidade e qualidade de DNA. No entanto, foram realizadas modificações na etapa da retirada do sobrenadante, pois este não foi coletado totalmente límpido o que resultou em um índice 260/230 em qualidade inferior à obtida na extração de seis discos foliares da primeira etapa (Tabela 3).

Na tentativa de resolver esse problema foram testados dois parâmetros: aumento do tempo da centrifugação na etapa 8; e coleta de diferentes quantidades de sobrenadante. Esses testes foram feitos em placas de 96 poços fundos de 2 mL com auxílio de pipeta multicanal. A extração das amostras seguiu o protocolo KGM versão 2. O aumento na etapa de centrifugação foi de 15 min para 20 min. Visualmente ficou evidente uma maior compactação da fase sólida o que evitou que esta se misturasse com o sobrenadante. Esse resultado facilitou a coleta de um sobrenadante totalmente límpido mostrando-se satisfatório para a resolução do problema.

Já para o segundo parâmetro, o protocolo de extração KGM versão 2 foi utilizado com aumento nos componentes A, B, C e D e coleta de 340 µL de sobrenadante em comparação com uma extração utilizando o mesmo protocolo no entanto sem aumento dos componentes e coleta de 240 µL de sobrenadante. O aumento de componentes foi novamente proposto devido à dificuldade da visualização do limite entre sobrenadante e descarte, o que gerou dificuldades do manuseio com pipeta multicanal. Esse aumento de componentes não gerou resultados satisfatórios, pois acarretou redução na quantidade e qualidade do DNA, quando comparado com os dados obtidos no protocolo sem alteração (Tabela 2). Portanto não é necessário o aumento de componentes.

A secagem do DNA precipitado também foi testada com duas variações: a secagem em Vortemp a 60°C por 15 min e em temperatura ambiente por 30 min. A secagem do DNA precipitado foi melhor à temperatura ambiente em relação à quantidade e ao índice 260/230 do DNA extraído, mesmo demandando maior tempo (Tabela 2). Portanto deve-se secar o DNA precipitado em temperatura ambiente por 30 min.

A maioria dos protocolos existentes não separa facilmente o DNA de polissacarídeos devido à similaridade estrutural desses polímeros (DANTASA, 2010) explicando a maior dificuldade de se chegar ao padrão ótimo do índice 260/230. Para a extração em blocos, o índice 260/230 está abaixo do padrão ótimo do NanoDrop. No entanto, está semelhante aos protocolos de extração Doyle e Doyle e o DNEasy (Tabela 2) podendo já ser utilizado para algumas análises do LGMSA. A aplicação do protocolo de extração desenvolvido para larga escala será importante, pois satisfaz duas necessidades do laboratório LGMSA: a extração de um DNA puro para um grande número de amostras.

Conclusão

A partir das adaptações realizadas, foi possível a obtenção de um protocolo para extração de DNA de folhas de soja, o qual resultou na obtenção de amostras de DNA em quantidade e qualidade suficientes, além das vantagens de custo reduzido e menor toxicidade em relação aos métodos atualmente disponíveis;

Referências

- CANKAR K.; STEBIH D.; DREOT.; ZEL J.; GRUDEN K. Critical points of DNA quantification by real-time PCR – effects of DNA extraction method and sample matrix on quantification of genetically modified organisms. **BMC Biotechnology**, EUA, p.1-15, 2006. DANTAS, A.C.M. Extração e análise de DNA vegetal, Parte1. Santa Catarina: Universidade Federal de Santa Catarina-Centro de Ciências Agrárias, 2010. 18 p. Relatório técnico.
- DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant DNA minipreparation: version II. In: KORBAN, S.S. **Plant Molecular Biology Reporter**. 1. ed. Nova York, 1983. v.1, p.19-21.
- DOYLE, J.J.T.; DOYLE, J.L. **Isolation of plant DNA from fresh tissue**. v.12. p.13-15, 1987
- FRONZA, V. **Genética da reação da soja a *Fusarium solani f.sp.glycines***. 2003. 166f. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba
- KOTCHONI, S.O.; GACHOMO, E.W. A rapid and hazardous reagent free protocol for genomic DNA extraction suitable for genetic studies in plants. **Molecular Biology Reports**, v.14. p.1633–1636. 2008.
- MAZZA M.C.M; BITTENCOURT J.V.M. **Extração de DNA de tecido vegetal de *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae)**, Colombo, n. 41, p.12-17, 2000.
- NANODROPTechnologies, INC. **ND-1000 Spectrophotometer V3.5 User's Manual**. Wilmington, USA, 2007. 61p.

Aspectos Biológicos de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda* sob Diferentes Temperaturas na Cultura da Soja.

SOUZA, M.A.^{1,5}; SALVADOR, M.C.^{4,5}; GOIS, M. S.^{2,5}; OLIVEIRA, T.B.^{3,5}; LUSKI, P.G.G.^{1,5}; UEDA, T.E.^{4,5}; VIEIRA, S.S.^{4,5}; GRAÇA, J.P.⁵; OLIVEIRA, M.C.N. de⁵; VENTURA, M.U.⁴; HOFFMANN-CAMPO, C.B.⁵.

¹Centro Universitário Filadelfia - UniFil, souza.ma@yahoo.com.br; ²Universidade do Norte do Paraná; ³ Universidade Federal de Lavras; ⁴Universidade Estadual de Londrina; ⁵ Embrapa Soja.

Introdução

O Brasil é responsável por grande parte da produção mundial de grãos (CONAB, 2013), sendo a soja considerada a principal cultura de exportação brasileira (ALICEWEB, 2010). Isto coloca o país como o segundo produtor e exportador de farelo e grãos de soja, tendo um crescimento expressivo em percentuais nos últimos 35 anos (USDA, 2010). Nas diferentes plantas cultivadas, um importante fator de redução na produtividade são os insetos-praga. Na cultura da soja, *Anticarsia gemmatalis* Hübner 1818 (Lepidoptera: Erebidae), comumente denominada “lagarta-da-soja”, é uma das principais pragas desfolhadoras, podendo causar desfolhamento de até 100% (HOFFMANN-CAMPO et al., 2000, SILVA 2000). Outras espécies de pragas passaram a ocorrer em altas infestações na soja, como o complexo de lagartas do gênero *Spodoptera* (BUENO et al., 2010). As espécies do gênero *Spodoptera* estão distribuídas em diversas partes do mundo e das 30 espécies descritas, cerca de 50% delas são consideradas pragas de culturas de importância econômica (POGUE, 2002 *apud* BARROS et.al., 2010). Entre elas, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) é uma espécie polífaga e sua ocorrência vem aumentando nos últimos anos devido principalmente as condições climáticas favoráveis, uso excessivo e inadequado de inseticidas, e, principalmente, a sucessão de culturas que aumentam a disponibilidade anual de alimento, o que favorece o desenvolvimento do inseto (SOARES & VIEIRA, 1998; SANTOS et al., 2004).

A maioria dos insetos são pecilotérmicos, cujo desenvolvimento geralmente segue uma curva sigmóide, ocorrendo uma relação linear positiva entre o desenvolvimento do inseto e a temperatura, onde a sobrevivência e a fecundidade são afetadas de forma negativa por temperaturas limítrofes (BOWLER & TERBLANCHE, 2008). Alterações na temperatura média e na frequência de eventos extremos podem interferir na duração do ciclo de desenvolvimento, no número de gerações, na densidade populacional, na extensão da exploração da planta, na distribuição local e geográfica das pragas, assim como de seus inimigos naturais (PORTER et al., 1991; BALE et al., 2002; HOFFMANN et al., 2008). Dessa forma, considerando a temperatura como importante fator de regulação do ciclo do inseto, e as possíveis consequências da mudança na temperatura global, este trabalho teve como objetivo avaliar o impacto de diferentes temperaturas sobre aspectos biológicos de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.

Material e Métodos

Lagartas de *A. gemmatalis* de final do 2º instar e de *S. frugiperda* de 3º instar, provenientes do laboratório de criação massal de insetos da Embrapa Soja, criadas desde a eclosão em folhas de soja BRS 359 RR, nas respectivas temperaturas, foram individualizadas, em copos

parafinados com tampas plásticas. As plantas oferecidas aos insetos foram semeadas em casa de vegetação com fotoperíodo de 14 horas, temperatura de 28 °C e umidade relativa de 65 %, em vasos com capacidade de cinco litros, na quantidade de 10 sementes por vaso, deixando-se após o desbaste, cinco plantas por vaso. Para garantir plantas em estágio V5, em todo o desenvolvimento da lagarta, foram realizados semeaduras de forma escalonada. Os insetos foram criados em câmara de crescimento tipo B.O.D., sob diferentes temperaturas (25°C, 28°C, 31°C e 34°C), sendo estas reduzidas em 4°C durante o período noturno para simular a oscilação diária, com umidade ($70 \pm 10\%$) e fotofase (14h) controladas. As lagartas foram avaliadas diariamente, observando-se a mortalidade e o tempo de desenvolvimento de cada estágio. Por ocasião da individualização, foi avaliado o peso inicial e o peso de pupa.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com 60 repetições. As variáveis respostas consideradas neste trabalho foram: mortalidade de lagartas (%), peso inicial de lagartas (mg), peso de pupa (mg), tempo de desenvolvimento (dias) e razão sexual. A mortalidade foi comparada pelo teste de qui-quadrado (χ^2), conforme Banzatto & Kronka (1992), ao nível de 5% de probabilidade. As demais variáveis (peso inicial e de pupa, tempo de desenvolvimento) foram analisadas considerando-se duas etapas. Na primeira, realizaram-se os testes estatísticos para verificar se todos os pressupostos requeridos para a análise de variância (ANOVA) foram atendidos. Em seguida, foram feitas as análises de variância com testes de médias de Tukey e Kramer para tratamentos, ao nível de 5% de probabilidade. A razão sexual foi calculada dividindo-se o número de fêmeas pelo total de indivíduos.

Resultados e discussão

A biologia de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* foi influenciada pelos diferentes tratamentos estudados. O tempo de desenvolvimento dos insetos foi inversamente proporcional ao aumento da temperatura (Tabela 1). Silva (2010), analisando o efeito de diferentes temperaturas sobre *A. gemmatalis*, verificou que as temperaturas mais altas proporcionaram um ciclo de desenvolvimento mais curto aos insetos. Na fase larval BUSATO et al. (2005), ao estudarem as exigências térmicas e número de gerações de *S. frugiperda* em milho e arroz, observaram diferenças significativas entre as temperaturas avaliadas, havendo redução da duração do ciclo do inseto com o aumento térmico. Na temperatura de 34°C (temperatura limítrofe), os insetos apresentaram o menor peso inicial, atingiram a fase de pupa e emergiram, no entanto, esses apresentaram maior número de adultos deformados que, conseqüentemente, produziram uma menor quantidade de ovos, sendo esses em sua maioria inférteis. Este fato pode ser atribuído a um menor número de cópulas. MILANO et al. (2008) ao estudar a influência da temperatura na frequência de cópula de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*, observaram que o número de cópulas foi afetado negativamente pela temperatura, sendo reduzido nos extremos térmicos de 15°C e 35°C. Em *A. gemmatalis* o peso de pupa não sofreu influência das temperaturas, contudo ao analisar os pesos das pupas de *S. frugiperda* podem-se observar pesos maiores nas temperaturas de 25°C e 28°C. Todos os tratamentos apresentaram um maior número de fêmeas.

Em ambas as espécies estudadas não se observou diferença significativa entre os instares e temperaturas (Tabela 2), porém foi observado uma maior mortalidade dos insetos criados a 31°C, entretanto, as posturas obtidas dessa população foram férteis.

Conclusão

O aumento de temperatura reduziu o tempo de desenvolvimento de ambas às espécies estudadas, sugerindo que alterações na temperatura global, podem influenciar as populações de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda*.

Tabela 1. Duração em dias (média ± EP) dos instares de lagartas de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* criadas em folhas de soja, submetidas a diferentes temperaturas

<i>Anticarsia gemmatalis</i>				
Tratamento	Peso inicial (mg)	Peso de pupa (mg)	Tempo total de desenvolvimento (dias)	Razão Sexual
25°C	3,24 ± 0,07 b	199,19 ± 4,56 a	26,70 ± 0,13 a	0,55
28°C	4,10 ± 0,09 a	197,73 ± 4,87 a	22,91 ± 0,12 b	0,58
31°C	2,90 ± 0,11 c	197,30 ± 5,38 a	22,42 ± 0,19 c	0,55
34° C	2,13 ± 0,05 d	200,76 ± 5,17 a	19,54 ± 0,13 d	0,54
Valor de F	105,06***	0,28*	454,12***	–
<i>Spodoptera frugiperda</i>				
25°C	1,39 ± 0,04 ab	192,50 ± 3,01 a	30,47 ± 0,19 a	0,52
28°C	1,23 ± 0,04 b	187,58 ± 3,60 a	28,14 ± 0,20 b	0,54
31°C	1,52 ± 0,04 a	166,23 ± 3,80 b	26,00 ± 0,21 c	0,57
34° C	1,31 ± 0,05 b	165,99 ± 3,07 b	23,04 ± 0,20 d	0,56
Valor de F	8,10***	17,17*	245,84***	–

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.
*P<0,05; **P<0,01; *** P< 0,001

Tabela 2. Porcentagem de mortalidade de *A. gemmatalis* e *S. frugiperda* criadas em folhas de soja, submetidas a diferentes temperaturas

<i>Anticarsia gemmatalis</i>						
Tratamento	Ínstar					Total
	2°	3°	4°	5°	6°	
25°C	0,00	3,33	3,33	5,00	3,33	15,00
28°C	0,00	1,67	5,00	3,33	1,67	7,00
31°C	3,33	5,00	6,67	6,67	3,33	25,00
34° C	1,67	3,33	5,00	3,33	0,00	13,33
χ^2	4,26 ^{ns}	4,13 ^{ns}	5,85 ^{ns}	6,48 ^{ns}	4,18 ^{ns}	4,09 ^{ns}
<i>Spodoptera frugiperda</i>						
25°C	0,00	3,33	5,00	6,67	1,67	16,67
28°C	0,00	5,00	6,67	5,00	3,33	20,00
31°C	1,67	6,67	5,00	8,33	1,67	23,33
34° C	1,67	3,33	5,00	5,00	1,67	16,67
χ^2	2,55 ^{ns}	6,48 ^{ns}	3,04 ^{ns}	8,68 ^{ns}	1,74 ^{ns}	1,18 ^{ns}

ns- não significativo - χ^2 (p>0,05).

Referências

ALICEWEB. MINISTÉRIO DE DESENVOLVIMENTO. Disponível em: <www.aliceweb.developpement.gov.br>. Acesso em: 23 de abril de 2013.

BARROS, E. M.; TORRES J.B.; BUENO, A. F. Oviposição, Desenvolvimento e Reprodução de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Diferentes Hospedeiros de Importância Econômica. **Neotropical Entomology**, v39, n. 6, p.996-100, 2010.

- BALE, J. S.; MASTERS, G. J.; HODKINSON, I. D.; AWMACK, C.; BEZEMER, T. M.; BROWN, V. K.; BUTTERFIELD, J.; BUSE, A.; COULSON, J. C.; FARRAR, J.; GOOD, J. E. G.; HARRINGTON, R.; HARTLEY, S.; JONES, T. H.; LINDROTH, R. L.; PRESS, M. C.; SYMRNILOUDIS, I.; WATT, A.; WHITTAKER, J. B. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. **Global Change Biology**, v. 8, n. 1, p. 1-16, 2002.
- BANZATTO, D.A.; KRONKA S.N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal, Funep. 1992. 247p.
- BOWLER, K.; TERBLANCHE, J. S. Insect thermal tolerance: what is the role of ontogeny, ageing and senescence? **Biological Reviews**, v.83, n.3, p.339-355, 2008.
- BUENO, A. F.; BATISTELA, M.J.; MOSCARDI, F. Níveis de desfolha tolerados na cultura da soja sem a ocorrência de prejuízos à produtividade. (Circular técnica. Embrapa 2010).
- BUSATO G. R.; GRÜTZMACHER A. D.; GARCIA, M.S; GIOLO, F. P.; ZOTTI, M. J.EBANDEIRA, J. M., Exigências térmicas e estimativa do número de gerações dos biótipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.40, n.4, p.329-335, 2005.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Central de informações agropecuárias**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_03_07_10_39_19_levantamento_safras_graos_6.pdf> Acesso em: 23 de abril de 2013.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; CORRÊA-FERREIRA, B.S.; OLIVEIRA, L.J.; SOSA-GOMEZ, D.R.; PANIZZI, A.R.; CORSO, I.C.; GAZZONI, D.L. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado**. Londrina: Embrapa Soja, 2000. (Circular Técnica).
- HOFFMANN, A. A.; WEEKS, A. R.; NASH, M. A.; MANGANO, G. P.; UMINA, P. A. The changing status of invertebrate pests and the future of pest management in the Australian grains industry. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, v. 48, n. 12, p.1481-1493, 2008.
- MILANO P., BERTI FILHO E., PARRA J. R.P. CÔNSOLI F. L. Influência da Temperatura na Frequência de Cópula de *Anticarsia gemmatalis* Hübner e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera:Noctuidae) **Neotropical Entomology** v.37, n.5, p.528-535, 2008.
- PORTER, J.H.; PARRY, M.L.; CARTER, T.R. The potential effects of climatic change on agricultural insect pests. **Agricultural and Forest Meteorology**. v.57, n.1-3, p.221-240, 1991.
- SANTOS, L. M.; REDAELLI, L. R.; DIEFENBACH, L. M. G.; EFRON, C. F. S. Fertilidade e longevidade de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em genótipos de milho. **Ciência Rural**, v.34, n.2, p.345-350, 2004.
- SILVA, M.T.B. Manejo de insetos nas culturas de milho e soja. In: GUEDES, J.M., COSTA, I.D. & CASTIGLIONI, E. (eds.). **Bases e técnicas do manejo integrado de pragas**. Santa Maria, UFSM/ CCR/ DFS: Pallotti, p. 169-200, 2000, 234p.
- SILVA, D.M. Efeito de Altas Temperaturas Sobre Aspectos Biológicos de *Anticarsia gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e no Potencial de Infecção por *Bacillus thuringiensis* Berliner. 2010. 67f. Dissertação (Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná. 2010.
- SOARES, J.J.; VIEIRA, R.M. *Spodoptera frugiperda* ameaça à cotonicultura brasileira. Campina Grande: Embrapa Algodão, 1998. (Embrapa Algodão. **Comunicado Técnico**, 96).
- USDA. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdQuery.aspx>> Acesso em: 14 de outubro de 2010.

Indução de metabólitos secundários em plantas de soja tratadas com diferentes concentrações de Metil-Jasmonato

GOIS, M. S.^{1,5}; OLIVEIRA, T.B.^{2,5}; SOUZA, M.A.^{3,5}; LUSKI, P.G.G.^{3,5}; SALVADOR, M.C.^{4,5}; UEDA, T.E.^{4,5}; GRAÇA, J.P.⁵; OLIVEIRA, M.C.N. de⁵; HOFFMANN-CAMPO, C.B.⁵.

¹Universidade Norte Paraná, mayarasgois@gmail.com; ²Universidade Federal de Lavras; ³Centro Universitário Filadélfia; ⁴Universidade Estadual de Londrina; ⁵ Embrapa Soja.

Introdução

O Brasil é o segundo maior produtor de soja do mundo (*Glycine max* (L.) Merrill) ficando atrás apenas dos EUA (CONAB, 2012). Devido à importância da cultura no país, diversas pesquisas que visam maior eficiência no manejo para atingir melhores índices de produtividade vêm sendo realizadas. O uso excessivo de agrotóxicos pode ocasionar danos ao ambiente, levando ao desequilíbrio ambiental e a seleção de populações de pragas e doenças resistentes. Em função destes fatores, a procura por medidas de controle viáveis vem crescendo, respondendo assim, aos anseios da sociedade pela preservação ambiental e por alimentos sem contaminação. Uma alternativa com potencial a ser aplicada é a indução de resistência – método usado para reduzir a severidade de doenças causadas por fitopatógenos. Trata-se do fenômeno pelo qual as plantas, após exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa latentes ativados sendo capaz de responder contra o ataque de patógenos (CONRATH, 2011). Outra forma de indução é observada através da aplicação dos fitormônios: jasmonatos, etileno e ácido salicílico (VAN LOON, et al., 2006). O ácido jasmônico e o seu éster metil jasmonato (MeJA) encontram-se largamente distribuídos em tecidos vegetais, destacando-se como compostos sinalizadores de respostas de defesa sistêmica das plantas por alterar fundamentalmente a biossíntese de compostos fenólicos. No entanto, os modos de ação geralmente envolvem rotas multivariadas, que são específicas para cada vegetal. Pesquisas que avaliam os possíveis mecanismos do metil jasmonato mostraram o aumento do conteúdo de fenilpropanoides pela elicitação da atividade da fenil amônia liase (PAL) em até seis vezes (SIRCAR; MITRA, 2008). Os compostos fenólicos são antifúngicos, sendo acumulados no local da infecção, reduzindo ou restringindo o crescimento do patógeno. A eficiência de elicitores é passível de ser avaliada através da determinação do conteúdo de fenilpropanoides, da atividade fotossintética, de enzimas chaves da rota biossintética, análises anatômicas e de crescimento das plantas. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi testar diferentes concentrações de MeJA que desencadeie melhor indução de compostos secundários em plantas de soja.

Material e Métodos

As sementes foram obtidas no banco de germoplasma da Embrapa-Soja, sendo utilizada no trabalho a cultivar BRS MG 772 resistente a ferrugem asiática da soja. Foram semeadas 10 sementes em vasos plástico de 5 litros e após a emergência realizou-se raleio deixando apenas 5 plantas por vaso. Estas plantas foram mantidas em casa de vegetação com fotoperíodo de 14 horas, temperatura de 28 °C e umidade relativa de 65 % até estágio V5 (FEHR et al., 1971). Neste estágio as plantas foram submetidas aos seguintes tratamentos via pulverização: Água (controle); Etanol (surfactante); MeJA 56,25 µM; MeJA 112,5 µM; MeJA 225 µM e MeJA 450 µM.

As plantas tratadas com MeJA foram mantidas em outra casa de vegetação sob as mesmas condições de temperatura e umidade descritas anteriormente, para evitar a indução nas plantas controle (Água e Etanol), pois o MeJA é conhecido como um fitormônio volátil. Após a aplicação dos tratamentos, as folhas foram coletadas em intervalos de 24, 48, 96, 120, 144 e 168 horas, acondicionadas em nitrogênio líquido, e logo em seguida armazenadas em freezer (-20°C) até a extração e análise dos flavonoides. Para extração e quantificação dos compostos, as folhas foram pesadas, moídas e extraídas com metanol 90% na proporção de 1:10 (m:v) e levadas ao banho de ultrassom por 20 min. As amostras foram então centrifugadas a 6000 rpm (9880 g) a 2°C por 5 min, e com o auxílio de uma pipeta Pasteur o sobrenadante foi transferido para outro tubo e depois secas a vácuo. As amostras foram ressolubilizadas com 1,5 mL de metanol 80% e filtradas em membrana Millipore® 0,45 µm e analisadas em HPLC (High Performance Liquid Chromatography) – Shimadzu – modelo Prominence. As concentrações das agliconas (daidzeína, gliciteína e genisteína), assim como das formas glicosídica (daidzina, glicitina, genistina) e malonil glicosídica (malonil daidzina, malonil glicitina, malonil genistina), rutina e ácido salicílico foram identificadas por meio da comparação de espectro e tempo de retenção dos padrões com os valores obtidos em cada amostra analisada.

Resultados e Discussão

A aplicação do indutor MeJA desencadeou a produção de compostos secundários em plantas de soja. A concentração de daidzina se mostrou variável em relação aos diferentes tratamentos (Figura 1A), porém em geral teve sua concentração mais elevada sempre nas plantas tratadas com MeJA, na concentração de 450 µM nos períodos de 120 e 144 horas. A isoflavona genistina foi identificada a partir das 144 horas (Figura 1B) nas concentrações de 225 e 450 µM, no entanto, em 168 horas esta substância foi identificada em todos os tratamentos, com uma redução de sua concentração em relação às plantas tratadas com Água e Etanol. O MeJA é um fitormônio conhecido por induzir a cascata do ácido octadecanóide que leva a expressão de genes relacionados à resistência a pragas e doenças (THOMMA et al., 2000), e na produção de compostos secundários de defesa (WALKER et al., 2002), porém, nesse estudo, não se observou diferença em relação aos controles (Água e Etanol).

A concentração de ácido salicílico apresentou um aumento gradativo principalmente em 144 horas (Figura 2A), nas concentrações de 225 e 450 µM. Já em 168 horas foi observada uma menor concentração de ácido salicílico quando comparado com as plantas tratadas com Água e Etanol, no entanto, entre as concentrações de MeJA, a de 450 µM mostrou a maior indução deste composto. A capacidade em desencadear a produção de fenóis e flavonoides foi observado em plantas de *Panax ginseng* após a aplicação de MeJa (ALI et al., 2007). Já em relação a rutina, a mesma mostrou ser constitutiva em todos os tratamentos (Figura 2B), sendo observado um aumento da sua concentração em 120 horas quando aplicado 225 µM de MeJA, seguido de 144 horas com 112,5 µM MeJA.

A concentração de malonil genistina aumentou em 96 e 120 horas (Figura 3A), para as plantas aonde aplicou-se 450 µM, e detectada apenas em 168 horas nesta concentração. A aglicona gliciteína mostrou maior concentração em 96 horas (Figura 3B), nas plantas com 450 µM de MeJA, este mesmo resultado se manteve em 120 e 168 horas, assim como as plantas tratadas com 56,25 µM em 168 horas. Segundo Junlan e Yue (2011), a concentração de 450 µM foi a concentração apropriada para induzir a síntese de isoflavonas em soja, entretanto em nossos testes, essas concentrações foram variáveis e não seguiram o padrão esperado.

Desta forma, o experimento está sendo repetido utilizando-se concentrações maiores.

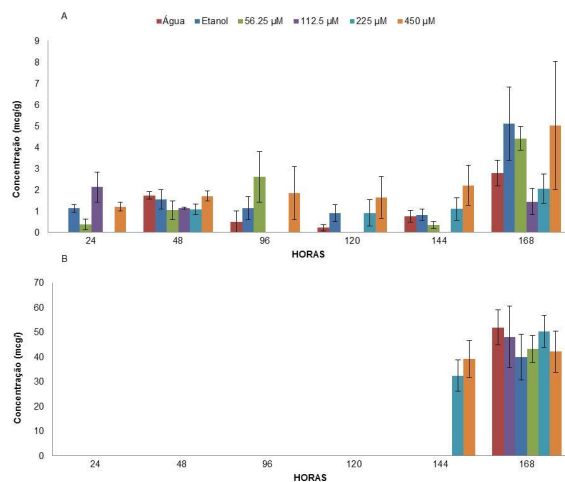


Figura 1. Concentração de daidzina (A) e genistina (B) em plantas tratadas com diferentes concentrações de MeJA. Média de cinco repetições e erro padrão.

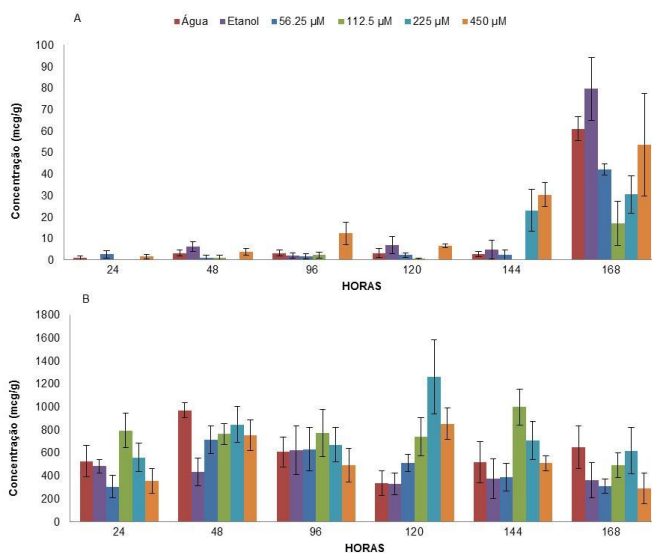


Figura 2. Concentração de ácido salicílico (A) e Rutina (B) em plantas tratadas com diferentes concentrações de MeJA. Média de cinco repetições e erro padrão.

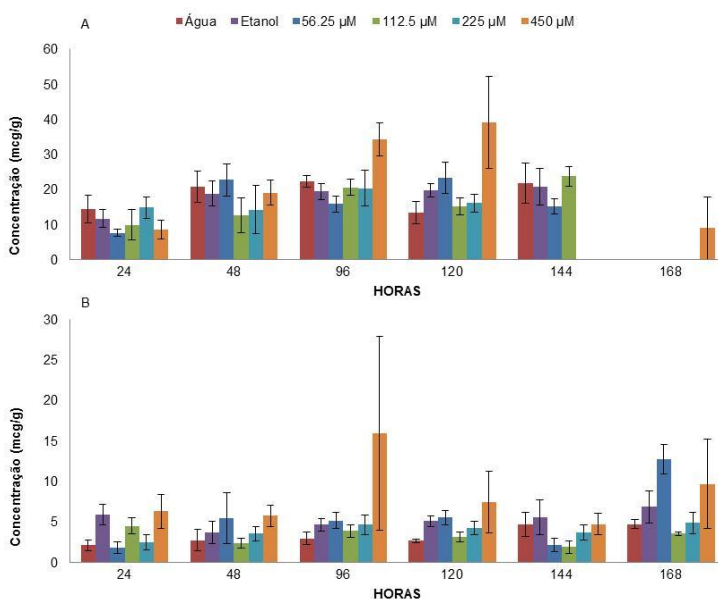


Figura 3. Concentrações de malonil-genistina (A) e gliciteína (B) em plantas tratadas com diferentes concentrações de MeJA. Média de cinco repetições e erro padrão.

Conclusão

Dentre as concentrações testadas de MeJA, a de 450 μM foi a que apresentou indução de metabólitos secundários em plantas de soja.

Referências

ALI, M. B.; HAHN, E. J.; PAEK, K. Y. Methyl jasmonate and salicylic acid induced oxidative stress and accumulation of phenolics in panax ginseng bioreactor root suspension cultures. **Molecules**, v.12, p. 607-621. 2007.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira**. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/12_06_12_16_15_32_boletim_portugues_junho_2012.pdf >. Acesso em: 25 abr. 2013.

CONRATH, U. Molecular aspects of defence priming. **Trends Plant Sci**, v.16, p.524–531, 2011.

FEHR, W.R.; CAVINESS C. E.; BURMOOD D.T.; PENNINGTON J. S. Stage of development descriptions for soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. **Crop Science**, Madison, v.11, n.6, p.929-931, 1971.

JUNLAN, M.; YUE, Z. Effect of exogenous methyl jasmonate on pathway of isoflavone synthesis in Soybean. **Journal of Northeast Agricultural University**. v. 42(5), p.14-18, 2011.

SIRCAR, D.; MITRA, A. Evidence for p-hydroxybenzoate formation involving enzymatic phenylpropanoid side-chain cleavage in hairy roots of *Daucus carota*. **Journal of Plant Physiology**, v.165, p.407-414, 2008.

THOMMA, B.P.H.J.; EGGERMONT, K.; Broekaert, W.F.; CAMMUE, B.P.A.. Disease development of several fungi on *Arabidopsis* can be reduced by treatment with methyl jasmonate. **Plant Physiology Biochemistry**, v.38, p.421-427, 2000.

VAN LOON, L. C., REP, M.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annu Rev Phytopathol**, v.44, p.135–162. 2006.

WALKER, T.S., BAIS H.P., VIVANCO, J.M. Jasmonic acid-induced hypericin production in cell suspension cultures of *Hypericum perforatum* L. **Phytochemistry**, v.60, p.289-293, 2002.

Avaliação da suscetibilidade de linhagens de soja ao vírus causador de necrose da haste

SILVA, M. R.¹; SILVA, A. R.²; ALMEIDA, A. M. R.³

¹Universidade Norte do Paraná – Unopar; ²Universidade Estadual de Londrina - UEL; ³Embrapa Soja, alvaro.almeida@embrapa.br

Introdução

A produção de soja (*Glycine Max*) no Brasil tem obtido grande importância na economia do país, tornando-se uma das culturas mais importantes e pesquisadas nos dias atuais. A fitopatologia, área que estuda as doenças de plantas, tem buscado solucionar ou minimizar os efeitos causados por patógenos à cultura de soja. São muitas as doenças que assolam a cultura de soja em nosso país, entre elas as viroses.

Para o manejo dessas doenças, buscam-se soluções para diminuir a ação dos patógenos sobre plantas suscetíveis, com a seleção de plantas resistentes ou tolerantes a determinadas viroses.

A necrose da haste é causada pelo vírus denominado *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV) (Brunt e Kentem, 1973). Condições que favoreçam o desenvolvimento da população do inseto vetor, a mosca branca (*Bemisia tabaci*), favorecem o aparecimento da doença (Iwaki et al., 1982; Costa et al., 1983). Além da soja, outras plantas hospedeiras do vírus são *Desmodium sp.* e *Arachys pintoii*.

O objetivo deste trabalho foi verificar a tolerância de linhagens de soja do programa de melhoramento da embrapa ao vírus causador da necrose da haste.

Material e Métodos

A metodologia utilizada para a realização do teste de resistência da soja foi a inoculação mecânica do vírus nas folhas de plantas saudáveis. Foram cultivadas plantas de soja em casa de vegetação, sendo a inoculação realizada no estágio fenológico V₂, onde o primeiro trifólio está totalmente desenvolvido. O inóculo foi preparado utilizando folhas de plantas previamente contaminadas que apresentavam os sintomas da doença, utilizando-se para isso a cultivar CD 206. As folhas foram trituradas com tampão fosfato de sódio 0,01M, pH 7,0 e a inoculação mecânica foi realizada através do esfregaço de carvão moído. A avaliação das plantas foi realizada em torno de 15 a 20 dias após a inoculação, verificando-se o aparecimento de sintomas. Foram avaliadas 40 sementes de cada linhagem. Quando se verificou que um número igual ou menor que 25% de plantas apresentavam sintomas, a linhagem foi considerada linhagem tolerante ao vírus; acima disso, foi considerada suscetível.

Resultados e Discussão

Os sintomas observados nas plantas suscetíveis foram caracterizados pela formação de mosqueado (“mottling”), com formação de bolhas no limbo foliar ou necrose (Almeida, et al., 2003).

Na Tabela 1, pode-se observar os resultados da avaliação de 86 linhagens de soja.

Tabela 1 - Resultados de reação das linhagens de soja ao vírus necrose da haste (CPMMV).

LINHAGEM	TÍTULO	REAÇÃO	CULTIVAR	LINHAGEM	TÍTULO	REAÇÃO	CULTIVAR
49	Final RR	T		148	Final Conv	T	
50	Final RR	S		149	Final Conv	T	
51	Final RR	T	BRS 378RR	150	Final Conv	T	
52	Final RR	T		188	P3 Conv	T	
53	Final RR	T		189	P3 Conv	T	
54	Final RR	T		190	P3 Conv	T	
55	Final RR	T		191	P3 Conv	T	
56	Final RR	T		192	P3 Conv	T	
57	Final RR	T	BRS 379RR	193	P3 Conv	T	
58	Final RR	S		194	P3 Conv	T	
59	Final RR	T		195	P3 Conv	T	
60	Final RR	T		196	P3 Conv	T	
61	Final RR	T		197	P3 Conv	T	
62	Final RR	T		198	P3 Conv	T	
63	Final RR	T		199	P3 Conv	T	
64	Final RR	T		200	P3 Conv	T	
65	Final RR	T		201	P3 Conv	T	
66	Final RR	T		202	P3 Conv	T	
67	Final RR	T		203	P3 Conv	T	
68	Final RR	T		204	P3 Conv	S	
69	Final RR	T		205	P3 Conv	T	
70	Final RR	T		206	P3 Conv	S	
71	Final RR	T		207	P3 Conv	T	
72	Final RR	T		208	P3 Conv	T	
73	Final RR	S		209	P3 Conv	T	
74	Final RR	T		210	P3 Conv	S	
75	Final RR	T		211	P3 Conv	T	
76	Final RR	T		212	P3 Conv	T	
77	Final RR	T		213	P3 Conv	T	
78	Final RR	T		214	P3 Conv	T	
79	Final RR	T		215	P3 Conv	T	
134	Final Conv	T		216	P3 Conv	T	
135	Final Conv	T		217	P3 Conv	T	
136	Final Conv	T		218	P3 Conv	T	
137	Final Conv	T		219	P3 Conv	T	
138	Final Conv	T		220	P3 Conv	S	
139	Final Conv	T		221	P3 Conv	T	
140	Final Conv	T		222	P3 Conv	S	
141	Final Conv	T		223	P3 Conv	T	
142	Final Conv	T		224	P3 Conv	T	
143	Final Conv	T		225	P3 Conv	T	BRS 376
144	Final Conv	T		BRS 133	TEST. -	T	
145	Final Conv	T		BRSMT	TEST. -	T	
146	Final Conv	T		PINTADO	TEST. -	T	
147	Final Conv	T		CD 206	TEST. +	S	

T = tolerante S = Suscetível Final RR = Avaliação final das características da linhagem transgênicas resistentes ao herbicidas glifosato. Final Conv = Avaliação final das características da linhagem convencional. TEST.- = Testemunha negativa para sintomas do vírus necrose da haste. TEST. + = Testemunha positiva para sintomas do vírus necrose da haste.

Apenas 8 linhagens apresentaram mais de 25% de plantas infectadas, sendo consideradas suscetíveis. As demais foram consideradas tolerantes ao vírus. É importante destacar que no período de cultivo ocorreu uma alta incidência de mosca branca em casa de vegetação, mesmo assim a maior parte das linhagens foi considerada tolerante.

Entre as linhagens avaliadas, três foram selecionadas como cultivar, por apresentarem características agrônomicas desejáveis, como produtividade e tolerância a diversas doenças entre outras, que não são abordadas neste trabalho. Duas cultivares BRS 378RR e BRS 379RR são geneticamente modificadas, com a inserção do gene que lhe confere resistência ao herbicida glifosato. A cultivar BRS 376 é de soja convencional.

Conclusões

Das 86 linhagens testadas, 8 foram suscetíveis à necrose da haste, causada pelo vírus *Cowpea mild mottle virus* (CPMMV).

Referências

ALMEIDA, A.M.R.; PIUGA, F. F.; KITAJIMA, E. W.; GASPAR, J. O.; VALENTIN, N.; BENATO, L. C.; MARIN, S.R.R.; BINNECK, E.; OLIVEIRA, T. G.; BELINTANI, P.; GUERZONI, R. A.; NUNES JR, J.; HOFFMANN, L.; NORA, P. S.; NEPOMUCENO, A. L.; MEYER, M. C.; ALMEIDA, L. A. **Necrose da haste da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2003. 44p. (Documentos, 221).

BRUNT, A.A., KENTEN, R.H. Cowpea mild mottle, a newly recognized virus infecting cowpea (*Vigna unguiculata*) in Ghana. **Annals of Applied Biology**, v.74, p. 67-74, 1973.

COSTA, A.S., GASPAR, J.O., VEGA, J. Mosaico angular do feijoeiro Jalo causado por um carlavírus transmitido pela mosca branca *Bemisia tabaci*. **Fitopatologia Brasileira**, v.8, p.325-337, 1983.

IWAKI, M., THONGMEEARKOM, P., PROMMIN, M., HONDA, Y., HIBI, T. Whitefly transmission and some properties of Cowpea mild mottle virus on soybean in Thailand. **Plant Disease**, v. 66, p.365-368, 1982.

Comparação de Configurações para Leitura de Potássio em ICP-OES

FERREIRA, M.I.L.^{1*}; GERMANO, M.G.²; OLIVEIRA JUNIOR, A.³

¹ Universidade Estadual de Londrina-UEL, meilynideriha@hotmail.com; ² Analista A, Embrapa Soja; ³ Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina – PR.

Introdução

Uma das ferramentas mais utilizadas na avaliação do estado nutricional das plantas é a análise química do tecido vegetal. A soma dos teores de C, O e H na matéria seca do tecido vegetal é geralmente superior a 90%, sendo que os outros 10% são constituídos por macro (N, Ca, Mg, K, P, S, em g kg⁻¹) e micro nutrientes (B, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, e Zn, em mg kg⁻¹) (SILVA, 2009). O potássio (K) é absorvido em grande quantidade pelas raízes, desempenhando importante função no estado energético da água na planta, na translocação e armazenamento de assimilados e na manutenção da água nos tecidos vegetais. A quantidade de K⁺ na solução do solo necessária para o crescimento das plantas depende da espécie e do seu estado de crescimento. Os teores podem variar de 1 a 50 mg L⁻¹ ou mais, em solos fertilizados, e dependem das características químicas e mineralógicas do solo (FERNANDES, 2006).

A determinação da concentração de K em amostras de tecido vegetal por meio da técnica de espectrometria de emissão atômica por plasma acoplado indutivamente (ICP-OES) tem como princípio a análise dos metais dissolvidos na solução (extrato ácido) (GINÉ-ROSIAS, 1998). Durante a transição dos átomos do estado excitado para o estado fundamental, cada elemento químico emite um sinal de comprimento de onda definido. A quantidade de luz emitida é proporcional à concentração desse elemento na solução. A presença de elevadas concentrações de um determinado analito em material vegetal, como é o caso do K, causa elevado sinal de fundo comumente denominado como ruído, o que potencializa a ocorrência de interferências espectrais e pode reduzir drasticamente a vida útil da tocha de quartzo (OLIVEIRA et al., 2012).

Para minimizar esse efeito, alguns equipamentos permitem a leitura do analito em duas vistas (axial e radial). A vista axial é a mais sensível e por isso é indicada para os analitos presentes em menor concentração. A vista radial, por sua vez, serve como opção para os analitos presentes em concentrações mais elevadas, a exemplo do K. O inconveniente da utilização da vista radial é o aumento no tempo de leitura das amostras, tendo em vista que o equipamento não permite adquirir o sinal das duas vistas simultaneamente. A utilização da vista radial leva ao incremento médio de 5 segundos por amostra, e se considerarmos que o tempo total para leitura de cada amostra é de 60 segundos, a utilização da leitura de K na vista axial poderá levar a economia de uma amostra a cada 20 analisadas. Extrapolando para 10000 amostras por ano, a redução de custos com a quantificação dos elementos no ICP-OES seria de 500 amostras.

Portanto, o objetivo do trabalho foi comparar diferentes configurações do ICP-OES na determinação da concentração de K, em amostras de tecido vegetal, buscando reduzir o tempo de leitura das amostras e, conseqüentemente, o custo operacional do equipamento.

Material e Métodos

Foram comparadas 996 leituras de K em amostras que incluem a parte aérea, grãos e folhas de soja, além de folhas de trigo e de girassol. As amostras foram analisadas no Laboratório de Análise de Solo e de Tecido Vegetal da Embrapa Soja.

As comparações foram feitas considerando como configuração padrão no ICP-OES, a quantificação da concentração de K no comprimento de onda (λ) de 766,49nm, utilizando a vista radial (766,49Rd), ao passo que as configurações opcionais avaliadas foram: i) vista axial e $\lambda=766,49\text{nm}$ (766,49Ax) e ii) vista axial e $\lambda=404,72\text{nm}$ (404,72Ax). As demais configurações do equipamento foram mantidas inalteradas.

Digestão de amostras

As amostras foram digeridas em Forno de Micro-ondas Marca CEM, Modelo *Mars Xpress*, utilizando-se 6 mL de solução aquosa de ácido nítrico (HNO_3) 1:1, e 1 mL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 130 Volumes. Foram utilizados 0,25 g de tecido vegetal, e o volume foi aferido para 30 mL (diluição de 120x). As condições de digestão em micro-ondas foram: 10 minutos de rampa (aquecimento); manutenção da temperatura em 170°C (15 minutos), com potência de 1600 w, e resfriamento por 20 minutos, até temperatura ambiente.

Determinações analíticas

O equipamento analítico utilizado foi o espectrômetro de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), marca Perkin Elmer, modelo *Optima 8300DV* (Dual View). Este equipamento realiza as leituras das amostras simultaneamente para todos os analitos, e permite ambas as configurações para detecção do sinal (axial e radial).

Análise estatística

O teste estatístico utilizado foi proposto por Leite e Oliveira (2002). Este procedimento é empregado para comparar duas variáveis dependentes quantitativas, combinando três testes: i) o teste $F(H_0)$ para verificar simultaneamente se os estimadores do modelo de regressão linear b_0 e b_1 são iguais a 0 e 1, respectivamente; ii) o teste t para o erro médio ($t_{\text{erro médio}}$), que avalia se existe algum viés (bias) entre as variáveis e está relacionado a acurácia e/ou precisão do método proposto em relação ao método padrão; e iii) análise do coeficiente de correlação linear (r_{yij}) em comparação ao erro médio [$(r_{yij}) \geq |1-\text{erro médio}|$]. Com base nessas estatísticas, é proposta uma regra de decisão para o teste de hipótese de identidade entre dois grupos de dados quantitativos. Os métodos são considerados idênticos quando os resultados para os três testes forem:

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

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

Resultados e Discussão

Observou-se elevada correlação entre as concentrações de K nas configurações avaliadas (Figura 1). Entretanto, pelo teste proposto por Leite e Oliveira (2002), verificou-se que não há igualdade nas concentrações de K determinadas com as configurações **766,49Ax** e **404,72Ax** em relação à configuração padrão do ICP-OES (**766,49Rd**). Em ambas os casos, a identidade não foi verificada pelo não atendimento das pressuposições do teste t para o erro médio, que foi significativo, e que demonstra a existência de um possível erro sistemático, bem como, uma alta variabilidade na detecção do sinal com a vista axial.

A Tabela 1 apresenta a estatística descritiva para quatro faixas de concentração de K (<10; 10-20; 20-30 e >30 g kg⁻¹), definidas em função das leituras realizadas nas condições padrão. De forma geral, observou-se maior variabilidade nas determinações com a vista axial, caracterizadas em alguns casos pelo maior coeficiente de variação, ou ainda, pela maior amplitude na concentração de K.

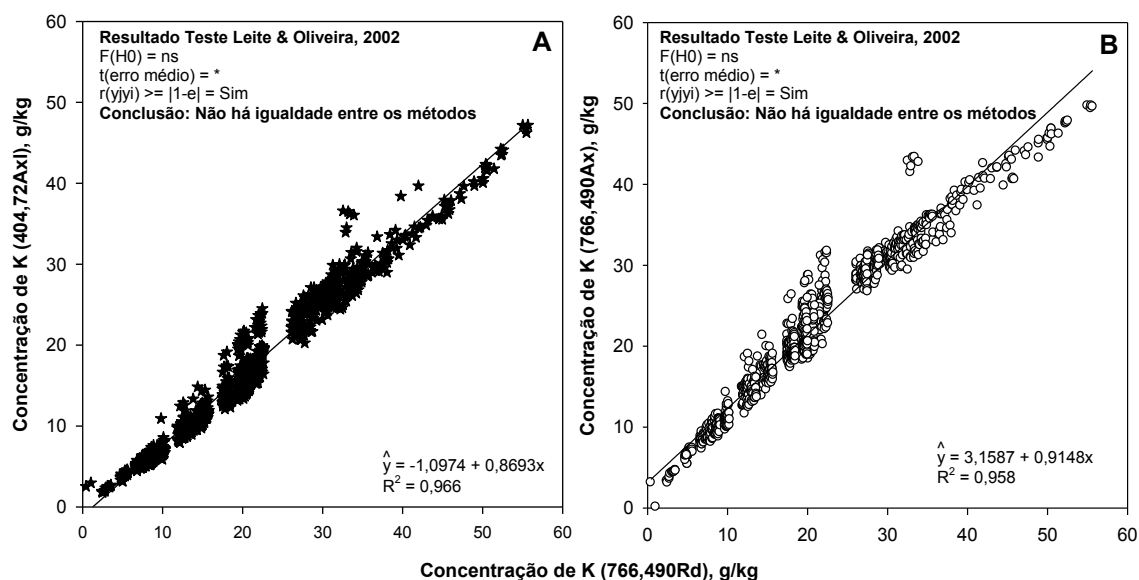


Figura 1. Modelos de regressão linear ajustados para a concentração de K testados na vista axial (404,72 e 766,49 nm) e a concentração nas condições padrão (radial a 766,49 nm).

Tabela 1. Estatística descritiva agrupando a concentração de K em quatro faixas de concentração

	K 766,490Rd	K 404,72Ax <10 g kg ⁻¹	K 766,49Ax	K 766,49Rd	K 404,72Ax 10-20 g kg ⁻¹	K 766,49Ax
N. obs	154	154	154	327	327	327
Média	7,3	5,3	8,6	16,0	12,4	17,8
Mínimo	0,4	1,8	0,1	10,0	6,4	10,0
Máximo	10,0	10,9	14,3	20,0	21,3	28,0
Amplitude	9,6	9,1	14,2	10,0	14,9	18,0
Desvio Padrão	2,106	1,483	2,241	2,951	2,944	3,417
CV%	28,84	27,98	26,05	18,44	23,74	19,19
	20-30 g kg ⁻¹			>30 g kg ⁻¹		
N. obs	285	285	285	203	203	203
Média	23,6	19,8	25,8	36,7	30,5	35,8
Mínimo	20,0	13,4	18,4	30,0	23,7	29,3
Máximo	30,0	27,1	32,7	55,7	47,2	49,7
Amplitude	10,0	13,7	14,3	25,6	23,5	20,4
Desvio Padrão	3,272	3,759	3,680	6,503	5,365	5,038
CV%	13,86	18,98	14,26	17,71	17,59	14,07

Para melhor avaliar o desempenho e diagnosticar a existência de possíveis erros sistemáticos, foi calculada a variação da concentração de K determinada na vista Axial (**766,49Ax** e **404,72Ax**) em comparação com a configuração padrão do ICP-OES (**766,49Rd**) (Figuras 2 e 3). Observou-se que, para a leitura na configuração **766,49Ax**, a concentração de K foi consistentemente superior à determinada nas condições padrão, especialmente para concentração de K inferior a 30 g kg⁻¹

(Figura 2 A,B,C). Em amostras com elevada concentração de K, as leituras foram subestimadas (Figura 2D). Para as leituras na condição **404,72Ax**, as concentrações foram sistematicamente inferiores à observada na leitura padrão, independente da faixa de concentração de K, subestimando os resultados (Figura 3).

Em ambos os casos, independente do comprimento de onda, ocorreu variabilidade quando se comparou a leitura padrão com a axial. Nesse sentido, vários fatores podem estar envolvidos, entre eles a interferência de outros analitos e as interferências espectrais, além do *blooming*. O efeito *blomming* ocorre quando um pixel supera em muito sua capacidade, ou seja, torna-se saturado, e a carga “transborda” em pixels adjacentes. É um fenômeno encontrado frequentemente em detectores do tipo CCD (*Charge Coupled Device*). Se o *blooming* ocorre em análise de amostras por ICP-OES, o resultado será um impacto negativo sobre os dados, superestimando linhas de emissão fracas e causando interferência de sinal. Isto pode ocorrer na leitura de amostras com elevadas concentrações de analito, como é o caso do K em extratos de tecido vegetal.

Conclusão

Não houve identidade estatística entre os métodos. Os métodos alternativos parecem promissores para estudos futuros que visem à diminuição do tempo de leitura e consumo de argônio, mas necessitam de otimização, aliada ao ajuste de métodos e modificações na configuração do equipamento.

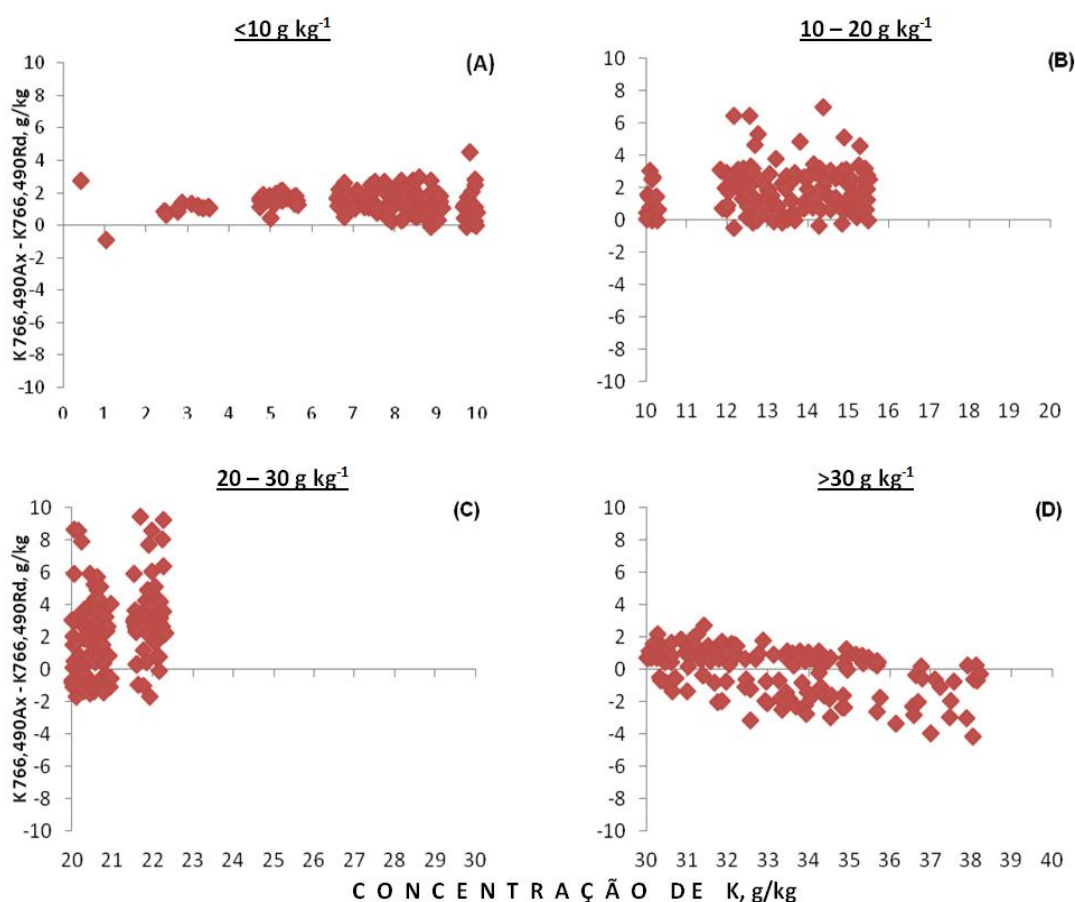


Figura 2. Diferença entre a concentração de K determinada na vista Axial, no comprimento de onda 766,49 nm e a concentração de K na configuração padrão do ICP (Vista Radial e 766,49 nm). Dados agrupados em quatro faixas de concentração (<math><10</math>; $10-20$; $20-30$ e >30 g/kg de K)

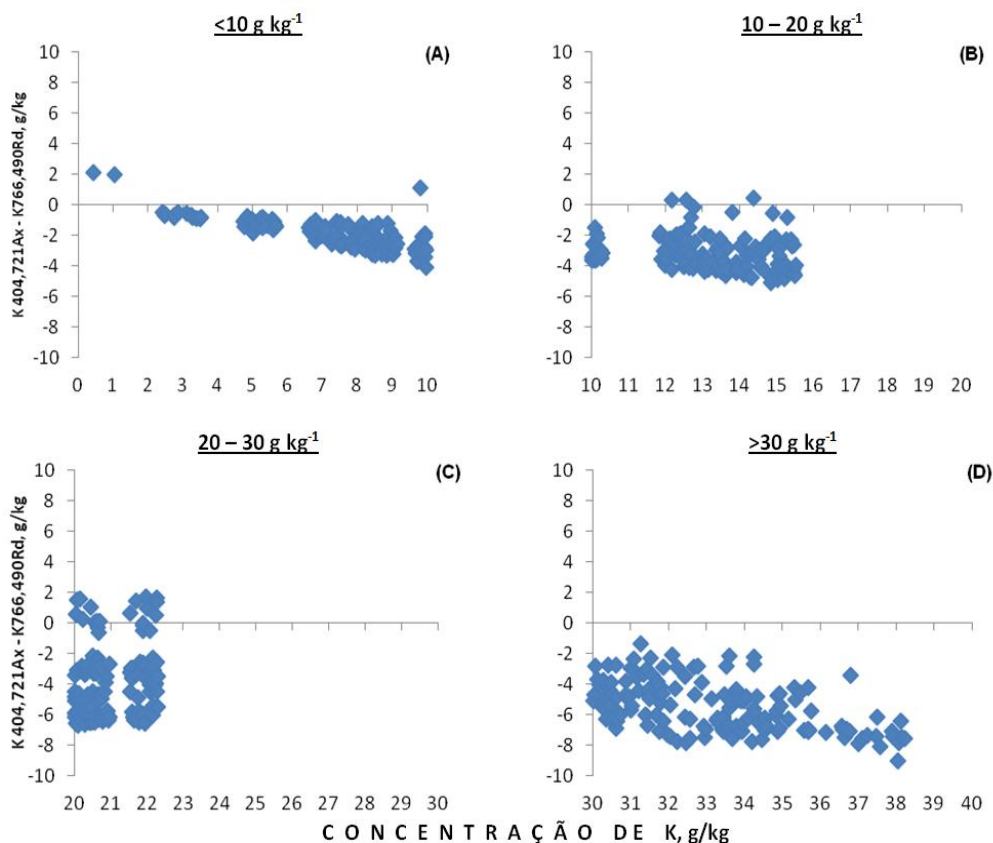


Figura 3. Diferença entre a concentração de K determinada na vista Axial, no comprimento de onda 404,72 nm e a concentração de K na configuração padrão do ICP (Vista Radial e 766,49 nm). Dados agrupados em quatro faixas de concentração (<10; 10-20; 20-30 e >30 g/kg de K)

Referências

- SILVA, F. C. da. **Análise química do tecido vegetal**. In: Manual de Análises Químicas de Solo, Plantas e Fertilizantes. 2 ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. P. 193-304.
- FERNANDES, M. S. **Nutrição Mineral de Plantas**. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciências do Solo, 2006. P. 281-289
- GINÉ-ROSIAS, Maria Fernanda. **Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-AES)**. Piracicaba: CENA, 1998, 148P:il. (Série Didática, v.3)
- OLIVEIRA, Adriana A.; NÓBREGA, Joaquim A.; PEREIRA-FILHO, Edénir R.; TREVIZAN, Lilian C. **Avaliação de ICP-OES com configuração axial ou radial para determinação de iodo em sal de cozinha**. Quím. Nova. Vol. 35, n° 7. São Paulo: 2012.
- LEITE, H. G.; OLIVEIRA, F.H.T. **Statistical Procedure to Test the Identity of Analytical Methods**. Communications in Soil Science and Plant Analysis. V. 33, n° 7-8. NewYork: 2002

Resistência induzida em genótipos de soja infestados por *Bemisia tabaci* biótipo B

LUSKI, P.G.G.^{1,5}; VIEIRA, S. S.^{2,5}; GRAÇA, J.P.⁵; GOIS, M. S.^{3,5}; UEDA, T.E.^{4,5}; SOUZA, M.A.^{1,5}; SALVADOR, M.C.^{4,5}; OLIVEIRA, M. C. N. de⁵; HOFFMANN-CAMPO, C.B.⁵.

¹Centro Universitário Filadélfia- UNIFIL, pamela.luski@hotmail.com; ²Instituto Agronômico de Campinas,

³Universidade Norte Paraná; ⁴Universidade Estadual Londrina; ⁵Embrapa Soja.

Introdução

As ninfas e adultos de *B. tabaci* biótipo B sugam a seiva do floema das plantas hospedeiras, podendo causar danos diretos e indiretos às mesmas (INBAR; GERLING, 2008). Quando esse inseto ocorre em altas populações, seu ataque resulta em enfraquecimento da planta, devido à extração de grandes quantidades de seiva. Com isso, ocorre o aumento do teor de etileno na folha e a consequente desfolha precoce, afetando o desenvolvimento e rendimento das plantas (VIEIRA et al., 2011). Além disso, durante a sucção da seiva, os insetos excretam uma substância açucarada, conhecida como *honeydew*, que favorece a formação do crescimento de fungos deixando a folha enegrecida, sintoma conhecido como fumagina (OLIVEIRA et al., 2001), que afeta negativamente os processos fisiológicos da planta.

Os mecanismos de defesa da planta abrangem uma série de características morfológicas e também um complexo de substâncias químicas, que podem torná-la repelente, tóxica ou, de algum modo, inadequada para os insetos-praga (PIUBELLI, 2004). Na soja, as substâncias de defesa mais prováveis são os flavonoides, derivados da via dos fenilpropanoides, que, em geral, são mais abundantes nos genótipos resistentes às pragas (HOFFMANN-CAMPO, 1995). Desta forma, compreender as rotas bioquímicas nas plantas, através da identificação de compostos químicos que promovam a resistência da planta pode ajudar a acelerar a seleção e o melhoramento de novas cultivares, com característica de resistência. Essas cultivares podem reduzir a incidência da praga, resultando em menor perda na produção. Assim, o presente estudo objetivou identificar e quantificar as substâncias químicas encontradas em genótipos de soja infestados e não infestados por *B. tabaci* e que possam estar relacionadas à defesa da planta.

Material e Métodos

Os genótipos de soja 'IAC 17', 'IAC 19' e 'IAC 24', que apresentam algum tipo de resistência a insetos; 'Barreiras', 'Doko' e 'Vencedora', que no campo apresentaram menor incidência de fumagina (VIEIRA et al., 2011, VALLE et al., 2012); e 'IAC Holambra Stewart', considerada padrão de suscetibilidade à mosca-branca (VIEIRA et al., 2011) foram cultivadas em vasos plásticos com capacidade para 10 litros. Duas plantas foram mantidas por vaso em casa de vegetação em condições controladas ($\pm 28^{\circ}\text{C}$ temperatura, 80% umidade relativa e 14 horas fotoperíodo). O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com arranjo fatorial de sete genótipos x seis estádios fenológicos x duas intensidades de infestação da praga x cinco repetições. Os estádios fenológicos avaliados foram V_3 , V_4 , V_5 , V_6 , V_7 , V_8 , segundo Fehr; Caviness (1977). As intensidades de infestação consistiram de plantas de soja dos genótipos citados infestadas por

B. tabaci biótipo B, e outro grupo de plantas não-infestado (controle). Para infestação, as plantas foram levadas para a criação da mosca-branca que é realizada em uma casa de vegetação de vidro, EM condições controladas de temperatura $30 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa 80%, e fotoperíodo de 14 horas. Nessas condições, as plantas forma mantidas por 24 horas para que ocorresse a oviposição, posteriormente transferidas para outra casa de vegetação. As plantas não-infestadas foram colocadas em ambiente separado, para evitar a infestação, sendo condições ambientais semelhantes.

Folhas dos diferentes genótipos, dos tratamentos infestados e não-infestados, foram coletadas em cada um dos seis estádios de desenvolvimento da planta. Para a realização das análises, foi coletado o último trifólio completamente expandido de cada planta. Para extração e quantificação das isoflavonas, as folhas foram moídas, pesadas e maceradas com etanol 80% HCl (0,001 mmol), na proporção de 1:10 (m:v) e mantidas em banho de ultrassom, por 20 min. As amostras foram centrifugadas a $9.880g$ a 4°C por 12 min, secas em vácuo, e ressolubilizadas com metanol 80% (1,2 mL) e filtradas em membrana Millipore® 0,45 μm . As amostras foram analisadas em HPLC (High Performance Liquid Chromatography,– Shimadzu – modelo Prominence). As concentrações de rutina, genistina, malonil genistina e da aglicona genisteína, foram calculadas através da comparação de espectro obtido no UV (260 nm) e o tempo de retenção (min.) de cada amostra, com o dos respectivos padrões de cada composto.

Resultados e Discussão

Nas análises cromatográficas dos extratos das folhas dos genótipos estudados foram identificados o flavonol rutina e as isoflavonas genistina, malonil genistina e genisteína, havendo interação significativa entre todos os fatores analisados (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da ANOVA para concentrações de flavonoides em sete genótipos de soja (Barreiras, Doko, Vencedora, IAC Holambra, IAC 17, IAC 19 e IAC 24), com dois tratamentos (plantas infestadas e não-infestadas) em seis estádios fenológicos ($V_3, V_4, V_5, V_6, V_7, V_8$).

Fonte Variação	GL	Valor de F			
		Rutina	Genistina	Genisteína	Malonil genistina
Genótipo	6	80,91**	80,2**	52,33**	94,33**
Infestação	1	34,15**	15,67**	7,6**	62,9**
Estádio Fenológico	5	16,58**	125,45**	148,93**	77,51**
Genótipo x Infestação	6	10,17**	2,85**	3,93**	12,05**
Genótipo x Estádio	30	2,77**	6,85**	10,94**	34,23**
Infestação x Estádio	5	11,45**	6,67**	10,76**	22,47**
Geno x Infe x Esta	30	1,47*	3,63**	2,16**	7,68**
Resíduo	419	-	-	-	-

Em todos os genótipos, rutina e genistina foram os compostos observados em maior concentração (Tabela 2). Malonil genistina e a aglicona genisteína foram identificadas em menores concentrações e, no caso da malonil genistina, esse composto não foi identificado nos genótipos 'IAC 19', 'IAC Holambra Stewart' e 'Barreiras'. A maior concentração de malonil genistina foi observada em 'Vencedora'.

Tabela 2. Concentrações das substâncias (ng/mg) identificadas em folhas de plantas de sete genótipos de soja. (Valores médios gerais das plantas infestadas e não-infestadas).

Genótipo	Genistina		Rutina		Malonil Genistina		Genisteína					
	Valor	Desvio	Valor	Desvio	Valor	Desvio	Valor	Desvio				
IAC 17	27,79	± 3,7	a	165,3	± 30,9	b	1,82	± 0,7	b	2	± 0,4	ab
Vencedora	30,63	± 3,6	a	161,3	± 13,8	b	10,7	± 2	d	1,8	± 0,4	ab
IAC 24	33,59	± 4	ab	55,63	± 5,52	a	0,75	± 0,4	ab	1,9	± 0,4	ab
IAC 19	35,78	± 3	ab	304,5	± 30,4	c	0	± 0	a	1,6	± 0,4	ab
IAC Holambra	43,68	± 6,4	b	5,83	± 2,57	a	0	± 0	a	2,4	± 0,3	b
Doko	59,33	± 6	c	149,1	± 12,8	b	3,54	± 1,2	c	1	± 0,3	a
Barreiras	105,7	± 9,3	d	492,8	± 40,2	d	0	± 0	a	6,8	± 1,1	c
CV (%)	73,73			49,49			129,93			83,89		

*Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

De modo geral, as plantas dos genótipos 'IAC 19' e 'Barreiras', infestados por *B. tabaci*, apresentaram as maiores concentrações de rutina (Tabela 3). Em V_3 e V_4 não houve diferença nas concentrações desta substância nos diferentes genótipos, quando infestados. A partir do estágio V_5 , 'IAC 19' e 'Barreiras' tiveram a maior concentração de rutina, sendo o aumento dessa substância em 'IAC 19' gradativo, no decorrer das avaliações nos diferentes estádios fenológicos. Para o genótipo 'Barreiras', a maior concentração desse flavonol foi observada no estágio V_6 , com redução em V_7 e V_8 . Na última avaliação, em V_8 , IAC 19' foi o genótipo com maior concentração de rutina, sendo este o único em que a concentração desta substância diferiu dos estádios V_3 , V_4 e V_5 dentro e entre as cultivares.

Nas plantas não-infestadas, o genótipo 'Barreiras' apresentou as maiores concentrações de rutina em todos os estádios fenológicos, atingindo o valor mais alto em V_7 . A partir de V_5 , observou-se também o aumento da concentração de rutina em 'IAC 19'. Esse composto não foi detectado no genótipo padrão de suscetibilidade, 'IAC Holambra Stewart', na maioria dos estádios fenológicos, exceto em V_3 , nas plantas não-infestadas; neste, a concentração diferiu da encontrada nos demais genótipos na mesma avaliação.

A concentração de genistina apresentou diferença entre os genótipos infestados por *B. tabaci* (Tabela 4) a partir do estágio V_5 , sendo as maiores concentrações observadas nos estádios V_6 , V_7 e V_8 . A partir de V_5 , a maior concentração de genistina foi observada na cultivar Barreiras que apresentou aumento até estágio V_8 . Em V_5 , 'IAC 19' teve concentrações semelhantes com as encontradas em 'Barreiras', diferindo das demais. Nas plantas não-infestadas, foi identificada genistina em 'IAC Holambra Stewart' em todos os estádios, exceto na primeira avaliação, em V_3 , no entanto, não houve diferença entre genótipos.

O flavonol rutina, encontrada em alta concentração em 'IAC 19', pode ser a substância química responsável pelo efeito de antibiose desse genótipo às ninfas de *B. tabaci*. A substância já é reconhecida por desempenhar papel importante na defesa da planta de soja contra desfolhadores (HOFFMANN-CAMPO et al., 2001; 2006), sendo um dos compostos identificados em extratos de folhas de PI 227687, PI 274454 e em outros genótipos resistentes a insetos (PIUBELLI et al., 2005). Embora em menor concentração, o isoflavonoide genistina também foi observado na maioria dos extratos foliares dos genótipos estudados por Piubelli et al. (2005) e utilizados pelos programas de melhoramento como fator de resistência a insetos desfolhadores.

Deve ser destacado o fato de que as concentrações de rutina no genótipo 'IAC 19' aumentaram no decorrer das avaliações, sendo que na última avaliação em V_8 a concentração foi 18 vezes maior que na primeira avaliação em V_3 . Embora rutina tenha sido constitutivamente identificada em genótipos com reconhecida resistência a desfolhadores, os dados obtidos indicam indução

Tabela 3. Concentrações de rutina (ng/mg) em folhas de plantas de sete genótipos de soja, infestadas e não-infestadas por *Bemisia tabaci* biótipo B, em seis estádios fenológicos, cultivados em casa de vegetação. Infestação média de 10 ninfas/folículo.

Genótipo	Infestado					
	V3	V4	V5	V6	V7	V8
Barreiras	150,09* a A	193,4* a A	214,9* ab A	593,8 c C	484,8* c BC	335,61* bc AB
Vencedora	39,12 a A	36,86* a A	131,9 ab A	251,4 ab A	103 a A	111,16 ab A
Doko IAC	26,7 a A	17,17* a A	113,8* ab A	178,8 ab A	177 ab A	167,15 ab A
Holambra	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
IAC 19	32,54 a A	46,33 a A	280,3* b AB	389,5 bc BC	412,8 bc BC	596,68* c C
IAC 17	10,21 a A	10,71 a A	132,1 ab A	555,9* c B	100 a A	234,34 ab A
IAC 24	11,89 a A	12,55 a A	34,5 ab A	54,96 a A	33,97 a A	47,76 a A
Genótipo	Não-infestado					
	V3	V4	V5	V6	V7	V8
Barreiras	488,86 A b	617,8 b ABC	822,2 c BC	568,1 b AB	824,9 d C	619,05 c ABC
Vencedora	77,024 a A	239,3 a A	266,6 b A	191,2 a A	280 bc A	208,23 ab A
Doko IAC	70 a A	204,6 a AB	359,5 b B	147,4 a AB	191,1 abc AB	136,43 ab AB
Holambra	70 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A	0 a A
IAC 19	138,4 a A	203,6 a A	644 c B	254,7 a A	381,8 c A	273,79 b A
IAC 17	57,37 a A	105,7 a A	303,4 b A	221,1 a A	148,8 abc A	103,87 ab A
IAC 24	31,94 a A	63,83 a A	141,1 ab A	51,6 a A	86,55 ab A	96,93 ab A
CV (%)	73,73					

Médias seguidas por letras iguais (minúsculas na coluna e maiúsculas na linha) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

* Diferença significativa entre o genótipo infestado e não-infestado em cada estágio fenológico.

Tabela 4. Concentrações de genistina (ng/mg) em folhas de plantas de sete genótipos de soja, infestadas e não-infestadas por *Bemisia tabaci* biótipo B, em seis estádios fenológicos. Infestação média de 10 ninfas/folículo.

Genótipo	Infestado					
	V3	V4	V5	V6	V7	V8
Barreiras	10,68 a A*	18,42 a A	90,04 b B*	107,97 c B*	113,69 bc B	202,01 d C *
Vencedora	11,83 AB	3,36 a A	58,72 ab C	7,9 a A	31,05 a ABC *	53,08 abc BC
Doko IAC	10,71 a A	0 a A	55,13 ab B	63,02 b B	124,78 c C	89,24 c BC
Holambra	0 a A	8,14 AB	46,4 ab BC	16,86 a AB *	110,71 bc D	81 bc CD
IAC 19	7,16 a A	6,89 a A	50,31 ab B	42,12 ab AB	52,63 a B	48,55 abc AB
IAC 17	0 a A	1,38 AB	26,49 a AB	35,37 ab AB	43,19 a B *	37,33 ab AB
IAC 24	0 a A	1,28 a A	37,02 a AB *	13,51 a A*	74,07 ab B	33,74 a AB
Genótipo	Não-infestado					
	V3	V4	V5	V6	V7	V8
Barreiras	44,51 a A	46,58 a A	155,21 c B	215,52 d C	142,29 c B	121,1 c B
Vencedora	0 a A	9,48 AB	43,34 ab BC	28,07 ab AB	75,17 ab C	45,59 a BC
Doko IAC	0 a A	10,77 a A	80,84 b B	75,73 c B	105,94 bc B	95,84 bc B
Holambra	0 a A	16,06 a A	18,27 a A	69,83 bc B	82,03 ab B	74,88 ab B
IAC 19	9,93 a A	9,58 a A	64,74 b B	48,8 abc AB	50,57 a AB	38,08 a AB
IAC 17	2,39 a A	4,96 a A	48,92 ab BC	13,01 a AB	78,83 ab C	41,61 a ABC
IAC 24	2,04 a A	5,8 a A	67,7 b B	58,72 bc B	68,52 ab B	40,64 a AB
CV (%)	49,49					

Médias seguidas por letras iguais (minúsculas na coluna e maiúsculas na linha) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

* Diferença significativa entre o genótipo infestado e não-infestado em cada estágio fenológico.

pelo ataque do inseto (elictor), possivelmente em função da sucção contínua de seiva pelas ninfas de *B.tabaci*. A rutina é responsável pelo prolongamento do ciclo de *A. gemmatalis* (GAZZONI et al., 1997; HOFFMANN-CAMPO et al., 2006) e alta mortalidade em populações da lagarta suscetíveis e resistentes ao baculovírus (PIUBELLI et al., 2006). O efeito negativo de rutina e genistina sobre *A. gemmatalis* foi demonstrado por Salvador (2008); lagartas dessa espécie alimentadas com dieta ou genótipos contendo esses compostos mostraram uma desorganização dos componentes celulares do intestino médio.

Conclusão

Com base nos resultados obtidos, sugere-se que rutina e genistina podem ser as substâncias que em conjunto com outros fatores podem estar relacionados à resistência do tipo antibiose em 'IAC 19'.

Referências

- FEHR, W.R.; CAVINESS, C.E. **Stages of soybean development**. Ames, Iowa State University: Cooperative Extension Service, 1977. 12p. Special Report, 80.
- GAZZONI, D. L.; HULSMAYER A.; HOFFMANN-CAMPO, C.B. Efeito de diferentes doses de rutina e quercitina na biologia de *Anticarsia gemmatalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, p. 673- 681,1997.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B. **Role of the flavonoids in the natural resistance of soybean to *Heliothis virescens* (F) and *Trichoplusia ni* (Hübner)**. 1995. 165 p. PHD. Dissertation, The University of Reading, Reading, UK.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; HARBORNE, J.B.; MCCAFFERRY, A.R. Pre-ingestive and post-ingestive effects of soya bean extracts and rutin on *Trichoplusia ni* growth. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, Holanda, v. 98, n. 2, p. 181-194, 2001.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B.; RAMOSNETO, J.A.; OLIVEIRA, M.C.N.de; OLIVEIRA, L.J. Detrimental effect of rutin on a main soybean defoliator pest, *Anticarsia gemmatalis*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 1453-1459, 2006.
- INBAR, M.; GERLING, D. Plant-mediated interactions between whiteflies, herbivores, and natural enemies. **Annual Review of Entomology**, v, 53, p. 431-438, 2008.
- OLIVEIRA, M.R.V.; HENNEBERRY, T.J.; ANDERSON, P. History, current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. **Crop Protection**, v. 20, p. 709-723, 2001.
- PIUBELLI, G.C. **Bioatividade de genótipos de soja resistentes a *A. gemmatalis* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) e interações de suas substâncias químicas com inimigos naturais**. 2004. 152p. Tese Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná.
- PIUBELLI, G.C.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; MIYAKUBO, S. H.; OLIVEIRA, M.C.N. Are chemical compounds important for soybean resistance to *Anticarsia gemmatalis*? **Journal Chemical Ecology**. v. 31, p. 1515-1531, 2005.
- PIUBELLI, G.C.; HOFFMANN-CAMPO, C.B.; MOSCARDI, F.; MIYAKUBO, S. H.; OLIVEIRA, M.C.N. de Baculovirus-resistant *Anticarsia gemmatalis* responds differently to dietary rutin. **Entomology Experimentalis Applicata** v. 119, p. 53-60, 2006.

VALLE, G.E.; LOURENÇÃO, A.L.; PINHEIRO, J.B. Adult attractiveness and oviposition preference of *Bemisia tabaci* biotype B in soybean with different trichome density. **Journal Pest Science**, v.85, n4, p.431-442, 2012.

VIEIRA, S.S.; BUENO, A.F.; BOFF, M.I.C.; BUENO, R.C.O.F.; HOFFMANN-CAMPO, C.B. Resistance of soybean genotypes to biotype B of the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae), **Neotropical Entomology**, v.40, n.1, p. 117-122, 2011.

Suscetibilidade de *Euschistus heros* a tiametoxam, lambda-cialotrina e acefato em mesorregiões do Paraná, Brasil

HUSCH, P. E.¹; SOSA-GÓMEZ, D. R.² ¹Bolsista Doutorado CNPq do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil. patihusch@gmail.com ²Embrapa Soja, Londrina, PR, Brasil. drsg@cnpso.embrapa.br

Introdução

Euschistus heros (Fabricius, 1794) (Heteroptera: Pentatomidae) é, atualmente, a espécie mais abundante dentro do complexo de percevejos sugadores, predominante do Norte do Paraná até o Brasil Central e nos últimos anos se expandiu até o Rio Grande do Sul (Corrêa-Ferreira & Panizzi, 1999; Sosa-Gómez & Silva, 2010). Além disso, *E. heros* é o alvo principal das aplicações de inseticidas para o controle dos percevejos, que até o ano 2004 era feito somente com o uso de organofosforados (OF) e endosulfam (Sosa-Gómez & Silva, 2010).

Desde o início da década de 90 tem se observado falhas no controle do percevejo marrom com inseticidas, como endosulfam e OFs (Sosa-Gómez et al. 2001). Ineficiências de controle foram constatadas em populações da região de Pedrinhas Paulista, São Paulo. E mais recente, no Estado do Paraná, falhas no controle com OFs, dentre eles metamidofós, tem levado os produtores a aumentar as doses de 2 a 2,4 vezes o recomendado (Sosa-Gómez & Silva, 2010).

Atualmente, poucos são os inseticidas registrados no Ministério de Agricultura, para o controle de percevejos. Em 2004, foram introduzidas as primeiras misturas de neonicotinoides (imidacloprido) e piretroides (beta-ciflutrina) (Tecnologias de Produção de Soja, 2004), e no ano seguinte, uma nova mistura de tiametoxam mais lambda-cialotrina foi recomendada para esta finalidade (Tecnologias de Produção de Soja, 2005). Essas misturas e acefato, são atualmente as mais utilizadas, potencializando o risco de seleção de populações resistentes de percevejos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a suscetibilidade de diferentes populações do percevejo *E. heros*, encontradas no Estado do Paraná, aos produtos tiametoxam mais lambda-cialotrina (Engeo Pleno®) e acefato (Cefanol®) em laboratório, visto que para os programas de controle, a escolha dos inseticidas e o tempo de utilização são ferramentas importantes para a avaliação da suscetibilidade a inseticidas.

Material e Métodos

As populações de *E. heros* foram obtidas em campo, de diferentes municípios do estado do Paraná e transportadas no mesmo dia da coleta para o Laboratório de Criação de Percevejos do Centro Nacional de Pesquisa de Soja (Embrapa Soja). As coordenadas geográficas referentes a cada local de coleta foram gravadas com o uso do GPS usando o sistema Datum WGS84 (Garmin Etrex, Chicago, IL, USA) (Tabela 1). A população suscetível de referência usada como padrão para as comparações, livre da aplicação de inseticidas é proveniente da criação de percevejos da Embrapa Soja.

Os inseticidas utilizados nos bioensaios foram formulações dos produtos comerciais Engeo Pleno® (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.), que possui em sua composição a mistura dos ingredientes ativos (i.a.) tiametoxam (141g/l) e lambda-cialotrina (106 g i.a./l), e o segundo produto comercial testado, o Cefanol® (UPL Brasil S.A.), que tem em sua composição o acefato (750 g i.a./kg).

Tabela 1. Informações de coleta das populações de *Euschistus heros*.

Municípios	Coordenadas Geográficas	Data de coleta
Criação Embrapa Soja, Londrina, PR	ND*	ND*
Todas Glebas, Arapoti, PR	ND*	12/2012
Gleba S, Santo Antônio da Platina, PR	S 23°15'51,2" W 50°07'38,4" S 23°16'19,8" W 50°06'51,3"	12/2012
Gleba F, Santo Antônio da Platina, PR	S 23°14'25,6" W 49°59'48,5" S 23°14'26,4" W 49°59'21,0"	12/2012
Gleba ATE, Arapoti, PR	S 24°10'50,3" W 49°55'56,62"	12/2012
Londrina, Distrito da Warta, PR	S 23°12'15,7" W 51°10'56,8" S 23°11'29,6" W 51°10'31,5"	08/03/2013
Cambé, PR	S 23°08'29,9" W 51°16'01,0"	14/03/2013
Bela Vista do Paraíso, PR	S 22°54'12,8" W 51°14'44,9"	08/04/2013
Sertaneja, PR	S 22°56'45,8" W 50°56'30,9"	16/04/2013

* Dados não disponíveis.

Os bioensaios consistiam na aplicação tópica de 2 µl de solução de cada produto testado no pronoto dos adultos de *E. heros*. As aplicações foram realizadas com o auxílio do microaplicador (Burkard Manufacturing Co. Ltd. Rickmansworth, Hertfordshire, WD31PJ, England).

Como parâmetro de avaliação utilizou-se uma única dose para cada produto, proveniente de estudos anteriores realizados na Embrapa Soja, com populações provenientes dos mesmos locais, de acordo com os valores estimados de CL_{99} . Para cada percevejo adulto testado com Engeo Pleno® foram aplicados 2 µl contendo 0,0846 µg (i.a.) de tiametoxam e 0,0636 µg (i.a.) de lambda-cialotrina, e nos bioensaios com Cefanol® foram aplicados 2 µl contendo 7,1 µg (i.a.) de acefato.

Ao final de cada bioensaio, os percevejos foram mantidos em frascos esterilizados contendo vagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) como alimento, em câmara com condições controladas ($26,5^{\circ} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de umidade relativa e fotoperíodo de 14h). A mortalidade foi avaliada após 48 horas, os dados foram corrigidos utilizando a fórmula de Henderson e Tilton (1955) e as médias comparadas pelo teste de Dunn (Dunn, 1955). Os insetos foram considerados mortos, quando estes não apresentavam qualquer movimento depois de serem estimulados com um estilete. Os dados foram analisados com o auxílio do programa SigmaPlot 11.0 (www.systat.com) aplicando o teste não-paramétrico de variância de Kruskal-Wallis (1952), como alternativa, devido os resultados analisados não apresentarem homogeneidade de variância nos grupos.

Resultados e Discussão

Diferenças de suscetibilidade foram detectadas entre as diferentes populações do percevejo marrom, para ambos os produtos avaliados. Em relação ao acefato, a população de Sertaneja (40,2 %) foi menos suscetível que a população de referência do laboratório (99,1 %), porém percevejos de Londrina, Distrito da Warta (99,1 %) foram tão suscetíveis quanto a população de laboratório (Tabela 2). Em monitoramentos realizados nos anos de 2000 e 2009 foi verificada menor suscetibilidade de *E. heros* a organofosforados nos municípios de Pedrinhas Paulista, SP, Alvorada do Sul, PR, Nova Santa Rosa, PR e Toledo, PR, comparativamente com a população de laboratório (Sosa-Gómez et al. 2001; Sosa-Gómez & Silva, 2010).

Tabela 2. Suscetibilidade de *Euschistus heros* ao acefato (Cefanol®), avaliado através das médias de mortalidade segundo Henderson e Tilton.

Locais	N	Mortalidade (%)	
Criação Embrapa Soja, Londrina, PR	120	99,1 ± 0,9	a
Londrina, Distrito da Warta, PR	360	99,1 ± 0,5	a
Bela Vista do Paraíso, PR	800	65,1 ± 3,4	ab
Sertaneja, PR	420	40,2 ± 4,0	b
CV	3,8		

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Dunn ($p < 0,05$). O teste de Kruskal-Wallis foi usado quando não foram preenchidas as premissas para realizar a análise de variância.

Os bioensaios realizados com tiametoxam mais lambda-cialotrina demonstram uma diferença estatística significativa, entre as populações da Gleba ATE de Arapoti, com apenas 25% de mortalidade, em relação à população suscetível de referência (Criação Embrapa Soja), com mortalidade de 77,7% e da população de Bela Vista do Paraíso, com 70,3% de mortalidade. As demais populações não diferiram significativamente entre si, ficando classificado na ordem crescente de mortalidade: Várias Glebas (25 %), Sertaneja (34,5 %), Londrina (37,8 %), Gleba F (63,5 %), Cambé (70,0 %) e Gleba S (70,0 %) (Tabela 3).

Os reduzidos valores de mortalidade indicam que provavelmente esta ocorrendo evolução da resistência destas populações de *E. heros* à mistura de tiametoxan (neonicotinoide) e lambda-cialotrina (piretroide), uma vez que os valores de mortalidade observados em 2011, de maneira geral foram superiores aos observados neste trabalho (Sosa-Gómez et al., 2011). Os percevejos coletados nas regiões de Arapoti e Santo Antônio da Platina eram provenientes de áreas com exposição frequente aos referidos produtos.

Considerando, a falta de opções para a alternância de inseticidas com modos de ação diferentes, o uso das misturas de neonicotinoides e piretroides e das formulações com acefato deve ser muito criterioso para evitar a rápida evolução de fenótipos resistentes, em especial, respeitando os níveis de ação, efetuando a aplicação de inseticidas exclusivamente nas áreas onde os níveis de ação são atingidos e não utilizar esses produtos para controle de outras pragas para quais existem outras opções de inseticidas a serem utilizados (modos de ação diferentes), como para controle de lagartas, por exemplo.

Tabela 3. Suscetibilidade de *Euschistus heros* ao tiametoxam+lambda-cialotrina (Engeco Pleno®), avaliado através das médias de mortalidade segundo Henderson e Tilton.

Locais	N	Mortalidade (%)	
Criação Embrapa Soja, Londrina, PR	120	77,7 ± 5,9	a
Bela Vista do Paraíso, PR	800	70,3 ± 2,4	a
Gleba S, Santo Antônio da Platina, PR	30	70,0 ± 11,6	ab
Cambé, PR	360	63,5 ± 6,1	ab
Gleba F, Santo Antônio da Platina, PR	60	63,5 ± 9,7	ab
Londrina, Distrito da Warta, PR	360	37,8 ± 4,6	ab
Sertaneja, PR	420	34,5 ± 6,4	ab
Várias Glebas, Arapoti, PR	30	25,0 ± 14,4	ab
Gleba ATE, Arapoti, PR	60	25,0 ± 2,2	b
CV	4,1		

* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Dunn ($p < 0,05$). O teste de Kruskal-Wallis foi usado quando não foram preenchidas as premissas para realizar a análise de variância.

Conclusões

As populações do percevejo marrom de Sertaneja, PR foram menos suscetíveis ao acefato e as de Arapoti, PR (Várias Glebas e ATE) a mistura de neonicotinoides e pitretroides.

Referências

- CORRÊA-FERREIRA, B.S.; PANIZZI, A.R. **Percevejos da soja e seu manejo**. Londrina: Embrapa Soja, 1999. 45p.
- DUNN, O.J. Multiple comparisons using rank sums. **Technometrics**, v.6, n.3, p.241-52, 1964.
- HENDERSON, C.F.; TILTON, E. W. Tests with acaricides against the brown wheat mite, **Journal of Economic Entomology**, v.48, p.157-161, 1955.
- KRUSKAL, W. H., WALLIS, W. A. Use of ranks in one-criterion variance analysis. **Journal of the American Statistical Association**, v.47, n.260, p.583-621, dec. 1952.
- SOSA-GÓMEZ, D.R.; CORSO, I.C.; MORALES, L. Insecticide resistance to endosulfan, monocrotophos and methamidophos in the neotropical brown stink bug, *Euschistus heros* (F.). **Neotropical Entomology**, v.30, p.317-320, 2001.
- SOSA-GÓMEZ, D. R.; SILVA, J. J. Neotropical brown stink bug (*Euschistus heros*) resistance to methamidophos in Paraná, Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n.7, p.767-769, jul. 2010.
- SOSA-GÓMEZ, D.R.; TAKACHI, M.T.; ALMEIDA, A.M.R. Variabilidade de resposta de subpopulações de *Euschistus heros* (F.) a mistura de tiametoxam e lambda cialotrina. In: Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil, 32., São Pedro, São Paulo, **Resumos expandidos**. Londrina: Embrapa, 2011. p. 80-81.
- TECNOLOGIAS de produção de soja: Paraná 2006. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 208p. (Embrapa Soja. Sistemas de produção, 8).
- TECNOLOGIAS de produção de soja: região central do Brasil 2005. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 239p. (Embrapa Soja. Sistemas de produção, 6).

Uso de pseudorrepetição no estudo do controle biológico de percevejos em lavouras de soja orgânica.

SANTOS, J. A. dos¹; OLIVEIRA, M.C.N. de², CORRÊA-FERREIRA, B.S³, PERES, W.A.A⁴.

¹Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP) - campus Cornélio Procopio; ² Embrapa Soja, Londrina, PR; ³Pesquisadora Embrapa Soja aposentada; ⁴MAPA/ jaqueline_j.a.s@hotmail.com.

Introdução

Com a preocupação causada pelo aquecimento global e suas consequências para a população mundial, houve a necessidade da adoção de práticas sustentáveis e mudanças no estilo de vida populacional. Ambos os fatores levaram ao aumento de alternativas sustentáveis, entre elas, a busca por alimentos mais saudáveis fez com que a produção e a comercialização de alimentos orgânicos aumentassem consideravelmente nas últimas décadas (HIRAKURI et al, 2011; CAMPANHOLA & VALARINI, 2001).

Na agricultura também houve a necessidade da adoção de técnicas de manejo conservacionista para atender a demanda comercial e com esse aumento parte dos agricultores viram na produção orgânica uma alternativa para aumentar os lucros, uma vez que os alimentos orgânicos têm maior valor no mercado comercial (HIRAKURI et al, 2011). Na cultura da soja (*Glycine max. (L.) Merrill*) algumas práticas sustentáveis vem sendo utilizadas, uma delas é o controle biológico de pragas. Um dos insetos-pragas mais comuns na cultura da soja são os percevejos sugadores (Hemiptera: Pentatomidae) destacando-se *Euschistus heros* (Fabricius) e *Piezodorus guildinii* (Westwood), esses percevejos causam sérios danos às lavouras, por atacarem diretamente os grãos, provocam grandes perdas no rendimento e qualidade da produção (CORRÊA-FERREIRA et al, 2003).

Para o controle desses insetos-pragas, a liberação de parasitoides vem sendo testada. Segundo Peres (2004), foram identificadas parasitando ovos, ninfas de último instar e percevejos adultos, cerca de 23 espécies de parasitoides, dos quais dentre os parasitoides de ovos destacam-se *Telenomus podisi* Ashmead e *Trissolcus basal* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae). Entre os parasitoides de adultos estão o díptero *Trichopoda nitens* (Blanchard) [= *Trichopoda giacomelli* (Blanchard) = *Eutrichopodopsis nitens* Blanchard] (Diptera: Tachinidae) e o microhimenóptero *Hexacladia smithii* Ashmead (Encyrtidae).

A utilização de parasitoides no manejo de percevejos é benéfica para a agricultura orgânica, uma vez que utiliza inimigos naturais como forma de controle, beneficiando o sistema de cultivo, e preservando outros artrópodes benéficos; não necessitando da aplicação de agrotóxicos, gera um sistema de cultivo ambientalmente adequado. Para avaliar se os diferentes métodos de controle dos percevejos são eficientes é importante que os resultados sejam submetidos a métodos e testes estatísticos. Alguns autores enfatizam que esses métodos devem caminhar junto com as metodologias agrônomicas e biológicas desde o planejamento experimental. Nessa fase são indicadas a forma como os dados são amostrados e coletados, a definição do tamanho das amostras, o número de repetições, os métodos estatísticos e os delineamentos que serão aplicados, além do local experimental, os tratamentos utilizados e até como é feita a avaliação e afirmação dos resultados sobre os interesses do pesquisador (PIMENTEL GOMES, 1990; ANDRADE & OGLIARI, 2007). Na pesquisa científica a análise estatística é de grande importância, pois é a partir de seus resultados que as hipóteses podem ser aceitas ou rejeitadas, e ainda observados fatores e resultados inesperados que motivam a

realização de novas pesquisas e experimentos que conseqüentemente podem levar a novas descobertas científicas. No caso desta pesquisa, por ser um experimento instalado em lavoura de agricultor, foi utilizada uma amostragem com restrição na casualização, ou seja, utilizando dentro de áreas que podem ser contíguas ou não as pseudorrepetições.

Segundo Hurlbert (1984) a pseudorrepetição é uma prática rejeitada principalmente pelos revisores de periódicos científicos e que vem sendo amplamente discutida em trabalhos da área de ecologia e solos. Esse autor alertou a comunidade científica sobre um tipo de erro que ocorre em muitas análises, principalmente nas ecológicas, e ele denominou como pseudorrepetição.

Nas pesquisas agrícolas e biológicas o uso de delineamento com casualização é comum, no entanto, em algumas situações o uso de pseudorrepetições é a única forma de comparar a tecnologia gerada em empresas de pesquisa com a área do produtor, uma vez que para o produtor o uso de um delineamento experimental casualizado é inviável. Esse tipo de condução experimental não é independente e peca quando se deseja qualidade nos resultados de pesquisa, uma das premissas requisitadas pela estatística experimental. O rigor neste tipo de análise deve ser ainda maior quanto à observância da normalidade, independência dos resíduos e a homogeneidade de variâncias dos tratamentos das áreas amostradas (FERREIRA et al., 2012).

Deve-se ressaltar que antes de avaliar a validade dos experimentos com pseudorrepetições é importante observar se o planejamento experimental está correto e se os procedimentos estatísticos foram adequados. (FERREIRA et al., 2012).

O objetivo do presente trabalho é apresentar os resultados de uma pesquisa realizada com pseudorrepetições e a conveniência ou não do seu uso na avaliação do controle biológico de percevejos da soja.

MATERIAL E METODOS

a) Descrição do experimento:

O experimento foi realizado em lavoura de produção orgânica com área de aproximadamente de oito hectares, localizada no município de Jataizinho – PR (latitude 23° 22'S, longitude 50° 51'O), na safra 2000/2001. A cultivar utilizada foi BR 36, cuja semeadura foi realizada na segunda quinzena de novembro. Na área foram instaladas três parcelas de aproximadamente um hectare com os seguintes tratamentos: área de liberação de parasitoides de ovos *T. basalis* e *T. podisi* (CBO), área de liberação de parasitoides de ovos *T. basalis* e *T. podisi* e de parasitoides de adultos *T. nitens* e *H. smithii* (CBT) e área sem liberação de parasitoides (TEST). As áreas que receberam liberação de parasitoides (CBO e CBT) encontravam-se distanciadas cerca de 100 m entre si e 200 m da área testemunha (TEST). Para a multiplicação dos parasitoides, foram utilizados como hospedeiros os percevejos *N. viridula* e *E. heros*. Os dados utilizados neste trabalho fazem parte da tese de PERES (2004) e somente detalhes parciais serão aqui mencionados. Os percevejos foram criados em gaiolas teladas, mantidas em sala de criação sob condições controladas de temperatura, umidade, fotofase e alimento disponível. Diariamente as posturas dos percevejos foram coletadas e armazenadas.

Os parasitoides utilizados para a multiplicação foram alimentados com mel e copulados, mas sem experiência de oviposição, mantidas sob condições controladas de temperatura, umidade e fotofase, em câmara incubadora tipo BOD. Após o parasitismo os ovos dos percevejos foram colados em cartelas de papelão e mantidos em câmara incubadora tipo BOD, sob condições controladas, até serem levadas a campo.

Quando a soja encontrava-se no período de florescimento (R1/R2), as cartelas contendo os ovos parasitados foram envolvidas com tela de nylon, levadas ao campo e amarradas no terço médio das plantas de soja da bordadura das áreas. Os parasitoides de adultos foram liberados a campo fracionadamente, conforme ocorreu a emergência em laboratório. Quando a soja cultivada nas áreas onde foi realizada a liberação de parasitoides (CBO e CBT), e na área testemunha (TEST), encontrava-se em fase de maturação completa (R8), foram colhidas, aleatoriamente, 50 plantas de cada área estudada e, no laboratório, quantificado o número de grãos, número de sementes boas, médias e ruins, o peso de grãos(g) e peso de 100 grãos (g).

b) Descrição da metodologia estatística:

O método de análise considerado foi de um delineamento inteiramente casualizado com restrição na casualização, com três tratamentos (CBO, CBT, TEST) e 50 pseudorrepetições.

O modelo para esse delineamento é o que segue:

$$Y_j = \mu + \text{Trat}_i + \varepsilon_j$$

em que,

Y_j é o efeito da variável resposta;

μ é a constante geral.

Trat_i é o efeito do tratamento i .

ε_j é o efeito do erro experimental do tratamento i relativa a repetição j $N \approx (0, \sigma^2)$.

Foi realizada análise exploratória pelo programa SAS - Statistical Analysis System (SAS INSTITUTE, 2001) e observado se os dados atendiam aos pré-requisitos para análise de variância (ANOVA). Para verificar se os resíduos apresentavam normalidade foi realizado o teste de Shapiro & Wilk (1965), a não-aditividade foi observada pela aplicação do teste de Tukey (1949) e a homogeneidade de variância dos tratamentos pelo teste de Burr & Foster (1972), todos os testes foram aplicados ao nível de $(p \leq 0,05)$. Também foram verificados os valores de assimetria (g_1) e curtose (g_2) e as médias comparadas por meio do teste de Tukey $(p \leq 0,05)$. Uma vez que esta pesquisa não seguiu os princípios da experimentação como a casualização, a repetição e o controle local e sim apenas subamostragens ao acaso dentro de cada área em que foram atribuídos os tratamentos, o rigor nas análises foi ainda maior. Esse rigor foi utilizado porque as estimativas obtidas quando se usam subamostras ou pseudorrepetições apresentam baixa precisão (HURLBERT, 1984). Com esse mesmo diagnóstico exploratório foi possível identificar a presença de *outliers* que mascaram a resposta dos efeitos dos tratamentos.

As variáveis mensuradas foram: o número de grãos, o peso de grãos (g/ha), peso de 100 grãos (g), o número de sementes boas (forma e cor normal e sem picada de percevejos), o número de sementes médias (presença de manchas e deformações) e o número de sementes ruins (totalmente danificada ou deformada).

Resultados e Discussão

No número de grãos os valores dos coeficientes de assimetria e curtose com os dados originais foram superiores a zero, indicando ausência de normalidade e rejeitou-se a hipótese de nulidade pela estatística $W=0,875$ e grande variabilidade nos dados. O peso de 100 grãos e peso de grãos com os dados originais apresentaram valor do coeficiente de curtose maior do

que zero e a assimetria dentro dos padrões aceitáveis para o peso 100 grãos e maior que zero para peso de grãos. Nas três variáveis o modelo foi aditivo e as variâncias homogêneas para os tratamentos antes e após a retirada de outliers (Tabela 1).

Tabela 1. Estatísticas descritivas para as variáveis número de grãos (NGR), peso de 100 grãos (P100G) e peso de grãos em gramas. Safra 2000/2001.

Teste estatísticos ¹	NGR		P100G (g)		Peso de Grãos (g)	
	Dados Originais	Sem outliers	Dados Originais	Sem outliers	Dados Originais	Sem outliers
g_1 = Coeficiente de Assimetria	1,87	0,78	-0,60	-0,04	1,66	0,78
g_2 = Coeficiente de Curtose	7,09	0,82	2,56	0,15	4,84	0,83
CV = Coeficiente de Variação (%)	37,13	31,85	9,43	7,73	39,07	33,35
Shapiro-Wilk	W =0,875 Pr < W = 0,00	W =0,953 Pr < W = 0,00	W =0,952 Pr < W = 0,00	W =0,987 Pr < W = 0,38	W=0,884 Pr < W = 0,00	W=0,951 Pr < W = 0,00
Não-aditividade de Tukey	F = 0,05 Pr (F) < 0,82	F = 0,03 Pr (F) < 0,85	F = 2,31 Pr (F) < 0,13	F = 0,03 Pr (F) < 0,85	F = 0,02 Pr (F) < 0,66	F = 0,19 Pr (F) < 0,66
Burr-Foster Valor Crítico $Q_{(tab;0,001)} = 0,429$	$Q_{calc} = 0,355$	$Q_{calc} = 0,334$	$Q_{calc} = 0,396$	$Q_{calc} = 0,362$	$Q_{calc} = 0,339$	$Q_{calc} = 0,334$

¹As estatísticas W, F e Q devem ser não significativas para obtenção de: distribuição normal, aditividade do modelo, uniformidade de variâncias de tratamentos e independência dos erros. g_1 = Coeficiente de assimetria; g_2 = Coeficiente de curtose.

Nas variáveis número de sementes boas, médias e ruins os valores dos coeficientes g_1 e g_2 com os dados originais variaram de 0,71 a 1,88 e 0,60 a 5,96, respectivamente. Estas variáveis apresentaram grande variabilidade, ausência de normalidade, homogeneidade de variâncias dos tratamentos e aditividade do modelo apenas para o peso de sementes médias (Tabela 2). Foram detectados alguns valores discrepantes e após a retirada dos mesmos houve redução do CV(%), g_1 , g_2 , houve normalidade apenas para o número de sementes médias. O modelo foi aditivo para as três variáveis sendo observada uniformidade das variâncias dos tratamentos. Em geral no estudo com insetos é raro estas variáveis apresentarem normalidade dos erros e nesse caso deve-se ter o bom senso para aceitar ou não estes resultados. A variabilidade é um fator que interfere muito mais do que a ausência de normalidade e é importante ressaltar que em dados entomológicos é comum encontrá-la, estes, no entanto, não devem ser motivo de questionamento se as pressuposições da ANOVA foram atendidas (Tabela 2).

Na área da testemunha houve maior número de grãos, com valor superior aos demais tratamentos. A suposição era que deveria ser menor em função da infestação das diferentes espécies de percevejos. Esse fato pode ser explicado em função deste produtor ter naturalmente uma área mais equilibrada por já adotar a tecnologia do MIP em anos anteriores.. Observa-se que mesmo na área sem liberação (testemunha) a incidência natural do parasitismo em ovos foi elevada e a curva populacional de percevejos, com exceção de alguns períodos, foi semelhante nas duas áreas (Fig. 1). Entretanto, esta maior infestação dos percevejos ainda num período crítico para a soja refletiu na qualidade dos grãos, podendo-se observar que as respostas para o número de sementes médias e ruins também aumentaram indicando valores significativos pelo teste de média diferindo dos dois tratamentos biológicos (Tabela 3). Maior compreensão desses resultados são avaliados na dinâmica populacional dos percevejos em lavoura de soja orgânica com e sem o efeito do parasitismo de hospedeiros na safra 2000/2001 (Fig. 1).

Tabela 2. Estatística descritiva para as variáveis número de sementes boas, número de sementes médias e número de sementes ruins , safra 2000/2001.

Testes estatísticos ¹	Número de Sementes Boas		Número de Sementes Médias		Número de Sementes Ruins	
	Dados originais	Dados sem outliers	Dados originais	Dados sem outliers	Dados originais	Dados sem outliers
g ₁ = Coeficiente de Assimetria	1,88	0,88	0,94	0,43	0,71	0,36
g ₂ = Coeficiente de Curtose	5,96	0,44	1,47	0,31	0,60	-0,17
CV = Coeficiente de Variação (%)	51,06	41,79	47,79	42,52	50,74	46,84
Shapiro-Wilk	W = 0,863 Pr < W = 0,00	W = 0,942 Pr < W = 0,00	W = 0,949 Pr < W = 0,00	W = 0,985 Pr < W = 0,14	W = 0,966 Pr < W = 0,00	W = 0,981 Pr < W = 0,05
Não-aditividade Tukey	F = 8,50 Pr (F) < 0,00	F = 3,01 Pr (F) < 0,08	F = 0,17 Pr (F) < 0,68	F = 0,01 Pr (F) < 0,94	F = 4,14 Pr (F) < 0,04	F = 2,74 Pr (F) < 0,10
Burr & Foster						
Valor crítico	Q _{calc} = 0,388	Q _{calc} = 0,346	Q _{calc} = 0,351	Q _{calc} = 0,350	Q _{calc} = 0,372	Q _{calc} = 0,369
	Q _{(tab;0,001) = 0,420}					

¹As estatísticas W, F e Q devem ser não significativas para obtenção de: distribuição normal, aditividade do modelo, uniformidade de variâncias de tratamentos e independência dos erros, g₁= Coeficiente de assimetria; g₂ = Coeficiente de curtose.

Tabela 3. Médias das variáveis número de grãos (NGR), peso de 100 grãos (P100G) e Peso de Grãos em gramas, número de sementes boas, número de sementes médias e número de sementes ruins , provenientes de áreas de cultivo orgânico de soja, com ou sem liberação de parasitoides em Jataizinho, PR, na safra 2000/2001.

Tratamento	NGR	P100G (g)	Peso de Grãos (g)	Número de Sementes Boas	Número de Sementes Médias	Número de Sementes Ruins
CBO	74,67* b	18,16 a	12,42 ab	41,27 a	23,69 b	7,04 b
CBT	67,63 b	18,46 a	10,78 b	34,16 a	23,68 b	8,56 b
TEST	89,40 a	17,85 a	13,80 a	41,71 a	32,75 a	11,57 a

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey - CBO: Área com liberação de parasitoides de ovos (*Trissolcus basalís* e *Telenomus podisi*), CBT: Área com liberação de parasitoides de ovos e adultos (*T. basalís*, *T. podisi*, *Hexacladia smithii* e *Trichopoda nitens*), TEST: Área testemunha (sem liberação de parasitoides)

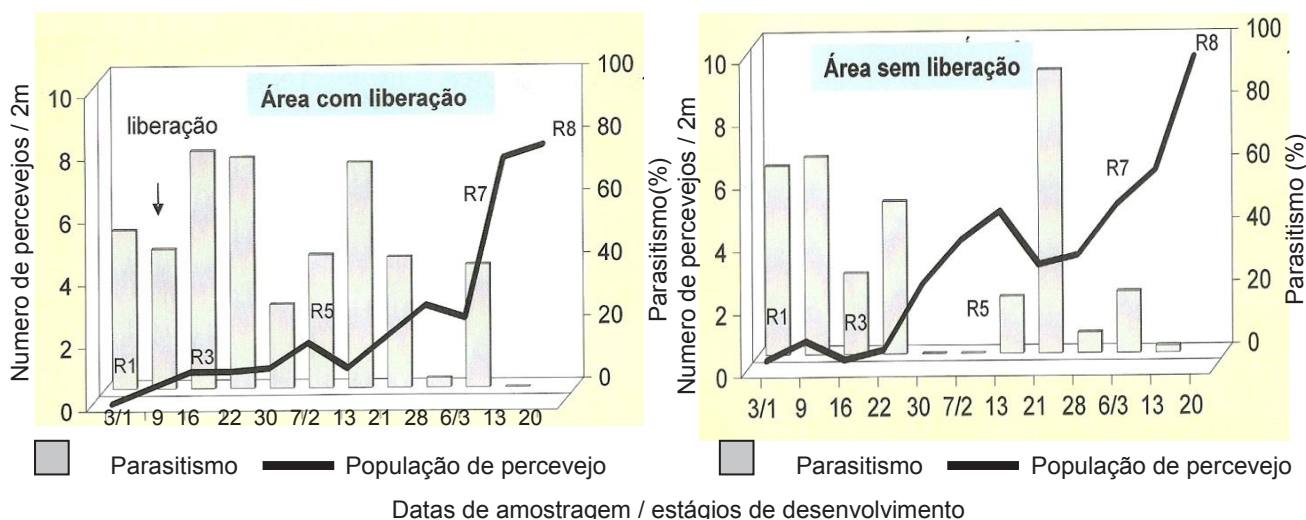


Fig. 1. Crescimento populacional de percevejos em lavouras de soja orgânica com e sem liberação de parasitoides, em Jataizinho, PR. (Fonte: Corrêa-Ferreira, B.S., 2003).

Conclusões

É possível analisar dados de pesquisa com pseudorrepetições usando o mesmo rigor das análises de dados obtidos com outros delineamentos experimentais.

As variáveis em que os coeficientes de assimetria e curtose são maiores que zero apresentam ausência de normalidade.

A presença de *outliers* invalidam as estimativas dos efeitos de tratamentos.

Houve eficiência do parasitismo em lavouras com soja orgânica.

Referências

ANDRADE, D.F.; OGLIARI, P.J. **Estatística para as ciências agrárias e biológicas como noções de experimentação**. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 432p.

BANZATTO, D.A.; KRONKA, S.N. **Experimentação Agrícola**. Jaboticabal, SP, FUNEP, 1989. 247p.

BURR, I.W.; FOSTER, L.A. **A test for equality of variances**. Mimeo series n^o 282. University of Purdue, West Lafayette, 1972. 26p.

CAMPANHOLA, C; VALARINI, P.J. A Agricultura orgânica e seu potencial para o pequeno agricultor. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**. Brasília, setembro/dezembro 2001. v.18, n.3, p.69-101.

COCHRAN, W.G.; COX, G. **Experimental Designs**. 2 ed. John Wiley. New York, 1957. 11p.

CORRÊA-FERREIRA, B.S. (Org.). **Soja Orgânica. Alternativas para o manejo dos insetos-pragas**. Embrapa Soja, Londrina 2003. 83 p. il. Autores: Antonio Garcia; Flávio Moscardi; Beatriz Spalding Corrêa-Ferreira; Wilsimar Adriana A. Peres; Antonio Ricardo Panizzi; Lenita Jacob Oliveira; Clara Beatriz Hoffmann-Campo; Daniel Ricardo Sosa-Gomez; Décio Luiz Gazzoni.

FERREIRA, D.F.; FILHO, A.C.; LÚCIO, A.D.; Procedimentos estatísticos em planejamentos experimentais com restrição na casualização. **Boletim Informativo Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**. Setembro-Dezembro 2012. p.16-19, v.37.

HIRAKURI, M.H.; OLIVEIRA, A.B. de; TAVARES, L.C.V.; SEIXAS, C.D.S.; PASTORE, A. **Avaliação econômica do cultivo orgânico de soja no Estado do Paraná para a safra 2010/2011**. Londrina: Embrapa Soja, 2011.9p.il. (Embrapa Soja.Circular técnica, 85).

HURLBERT, S.H. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. **Ecological Society of America**. San Diego, California, 1984. p 187-211, v.54(2).

OLIVEIRA, M.C.N. de, CORRÊA-FERREIRA, B.S. Diagnóstico exploratório na análise de dados entomológicos: efeito do diflubenzurom no consumo alimentar de *Anticarsia gemmatalis* (Hübner). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**. Dezembro, 1998. p. 627-637, v. 27(4).

PERES, W.A.A. **Aspectos bioecológicos e táticas de manejo de percevejos *Nezara viridula* (LINNAEUS), *Euschistus heros* (FABRICIUS) E *Piezodorus guildinii* (WESTWOOD) (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) em cultivo orgânico de soja**. Curitiba, 2004.160p.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba 1990. p.468, ed. 9.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. 6 ed. Cary, 2001. SAS Institute, 2000. 291p.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. "**An analysis of variance test for normality**". *Biometrika* 52:591-611. 1965.

TUKEY, J.W. **One degree of freedom for non-additivity**. *Biometrics* 5:232-242. 1949.

Variação no Perfil de Ácidos Graxos em Grãos de Soja, com diferentes intensidades de ataque de percevejo, da colheita ao armazenamento, utilizando a cromatografia gasosa

Vilas Boas R.L.P.¹; Delafrente, B.¹; Leite, R.S.²; Mandarino, J.M.G.²; Quirino, J.R.³; Corrêa-Ferreira, B.S.²; Lorini, I.²; Oliveira, M.A.²

¹Graduando em Tecnologia de Alimentos –UTFPR/Londrina, ²Embrapa Soja, ³Caramuru Alimentos – Rio Verde/GO

Introdução

A menor qualidade da soja durante o armazenamento é caracterizada principalmente pela redução da viabilidade e germinação, variação na composição química e na qualidade da proteína e do óleo (Liu, 1999). Um fator biótico importante para depreciar a qualidade do grão armazenado é o ataque de percevejos no campo.

O ataque de percevejos nos grãos de soja facilita o ataque das principais espécies de fungos toxigênicos com capacidade de produzir micotoxinas, dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. A presença de fungo na massa de grãos pode provocar aumento no teor de ácidos graxos livres e, conseqüente maior acidez do óleo, o que acarreta um aumento no custo de produção na indústria de óleo de soja.

Freitas et al. (2001) observaram que a medida em que a porcentagem de grãos de soja picados por percevejos aumenta, a porcentagem de grãos ardidos também cresce. Assim sendo, grão ardido significa maior acidez no grão e, conseqüentemente, matéria prima de menor qualidade para a indústria de óleo.

Lacerda Filho, Demito & Volks (2013) relataram que, dependendo do processo e da capacidade de produção industrial, e do nível de acidez do óleo a ser extraído da soja, o volume de recursos para reduzir esta acidez para o nível exigido comercialmente, poderá chegar a alguns milhões de dólares anuais. Este custo não deriva apenas da neutralização dos ácidos, mas da quantidade de óleo perdido, na energia dispendida, no custo da mão-de-obra e dos encargos sociais, na capacidade de produção, no desgaste e manutenção dos equipamentos, além da necessidade de investimentos em máquinas para esse fim específico.

O objetivo desse trabalho foi verificar se diferentes intensidades de ataque de percevejo interferem na variação do perfil de ácidos graxos em grãos de soja, no momento da colheita e após determinado período de armazenamento.

Material e Métodos

Os tratamentos pesquisados neste estudo foram amostras de grãos de várias lavouras de soja (03/2011) em que a Embrapa Soja em parceria com agricultores testaram três condições de tratamentos: 1 - área do produtor, 2 - área com o MIP (manejo Integrado de pragas) e 3 - área testemunha, e considerando os diferentes locais resultaram em seis tratamentos:

T1 - área do produtor de Arapongas (cultivar BMX Potencia);

T2 - área do produtor de Campo Mourão (cultivar NK 7059 RR);

T3 - área do produtor de Goiás (cultivar não especificada);

T4 - área intermediária CD Arapongas (cultivar BMX Potencia);

T5 - área MIP de Arapongas (cultivar BMX Potencia) e,

T6 - área Testemunha de Arapongas (cultivar BMX Potencia);

Na área do agricultor foi realizado o controle de percevejos de acordo o manejo do agricultor que é a aplicação conjunta de herbicida e fungicida. Na área do MIP ocorreu o controle de percevejos quando o nível populacional atingia dois percevejos/metro. Na área CD caracteriza o tratamento intermediário entre o MIP e o produtor, e ocorreu o controle de percevejos quando o nível populacional atingia meio percevejos/metro.

Destas áreas foram coletadas e armazenadas a produção de cada tratamento e a cada três meses foram retiradas amostras para realizar as análises dos teores de óleo e proteína. O experimento foi conduzido em BODs, com temperatura controlada de 25°C e umidade relativa de 60%, com quatro repetições, sendo as avaliações compostas por amostragem no ponto zero (colheita), aos três e seis meses de armazenamento.

Os teores dos ácidos oleico (C18:1), linoleico (C18:2), linolênico (C18:3), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0) e araquídico (C20:0) presentes no óleo dos grãos de soja foram determinados por cromatografia em fase gasosa (CG), após metilação dos ácidos por extração em metóxido de sódio 1% e separação em N-heptano para injeção, segundo metodologia oficial da USDA, de acordo com Abidi et al. (1999), Bannon et al. (1982), Christie (1989) e Rayford et al. (1994). Para cada repetição foram feitas duas injeções em um cromatógrafo HP modelo 6890 equipado com coluna capilar de sílica de 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e filme com 0,2 µm de espessura marca Supelco, modelo SP 2340. A detecção foi feita em FID, e a quantificação foi realizada por padronização externa com curva de calibração utilizando padrão F.A.M.E (Fatty Acid Methyl Esters) da marca Supelco. Os resultados foram expressos em porcentagem.

Resultados e Discussão

Em todas as amostras foram encontrados os ácidos graxos: palmítico, esteárico, oleico, linoleico, araquídico, linolênico e araquidônico. O ácido graxo encontrado em todas as amostras em maior porcentagem foi o linoleico, seguido do oleico, palmítico e linolênico (Figura 1).

Houve diferença nos perfis de ácidos graxos entre os tratamentos devido aos diferentes locais de plantio (Figura 1) e a temperatura e as condições de solo podem ter influenciado nesses perfis. Em Arapongas, onde havia 3 tratamentos, verificou-se que os diferentes níveis de ataque não influenciaram nos perfis de ácido graxo.

Em relação ao armazenamento, verificou-se que o mesmo não alterou o perfil de ácidos graxos em nenhum dos tratamentos (Figura 1).

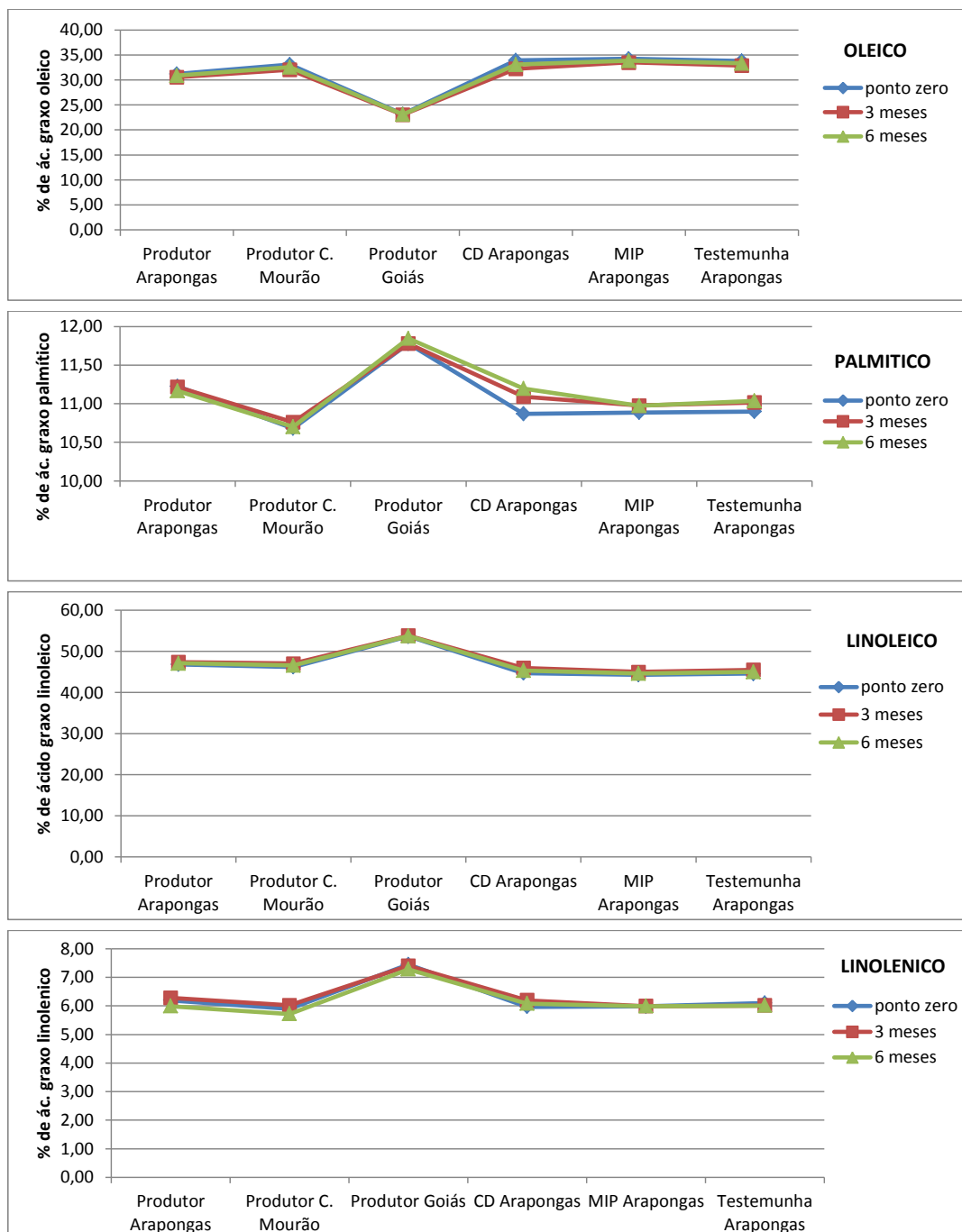


Figura 1 – Porcentagem de ácido graxo oleico, palmítico, linoleico e linolênico de grãos de soja oriundos de diferentes locais de produção, armazenados durante 6 meses e amostrados de 3 em 3 meses.

Conclusão

Os diferentes níveis de ataque de percevejo não alteraram os perfis de ácidos graxos e não ocorreram diferenças nesses perfis ao longo do tempo de armazenamento. Assim sendo, o armazenamento à temperatura controlada de 25°C e umidade relativa de 60% não resultou em mudanças nos perfis de ácidos graxos independente dos níveis de ataque de percevejo.

Estudos em relação aos teores de acidez nessa mesma condição estão em andamento, visto que uma maior quantidade ácidos graxos nas formas livre indica que o produto está sofrendo processos de hidrólise, oxidação ou fermentação, alterando a concentração de íons hidrogênio, ou seja, o alimento está em processo de deterioração, tornando o produto mais ácido, pela liberação desses íons hidrogênio.

Referências

ABIDI, S.L; LIST, G.R.; RENNICK, K.A. Effect of genetic modification on the distribution of minor constituents in canola oil. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v. 76, n.4, p.463-467,1999.

BANNON, C. D.; BREEN, G.J.; HAI, N.T.; HARPER, N. L; CZONYIC, C. **Journal of Chromatography**, v.247, p.71, 1982.

CHRISTIE, W.W. **Gas chromatography and lipids**: A practical guide, p.191 1989.

FREITAS, M.A.; GILIOLO, J.L.; MELO, M.A.B.; BORGES, M.M. O que a indústria quer da soja? **Revista Cultivar**, Pelotas, v.3, n. 26, p.16-21, 2001. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/arquivos/gc26_soja.pdf>. Acesso em: 10 abr. 2013.

LACERDA FILHO, A. F. de; DEMITO, A.; VOLKS, M. B. da S. **Qualidade das soja e acidez do óleo**. (Nota Técnica). Disponível em : < <http://www.sop.eng.br/pdfs/6d2b57671ce672243df5ff377a083fb3.pdf> >. Acesso em : 26 abr. 2013.

LIU, K. **Soybeans: chemistry, technology and utilization**. New York: Chapman & Hall, 1999. 532 p.

RAYFORD, W. E.; THOMAS. D.I.; ELAM, L.M.; WALKER, S.M. Analytical chemical support soybean uniform test analysis. **Agricultural Research Service**, p. 17-26, 1994.

Plantio cruzado em cultivar de soja de tipo de crescimento determinado

BABOLIM, R.C.G.¹; PROCÓPIO, S.O.²; BALBINOT JR., A.A.³; DEBIASI, H.³; FRANCHINI, J.C.³; SIMIONATO, U.R.¹

¹ UNOPAR, Universidade Norte do Paraná; ² Embrapa Tabuleiros Costeiros; ³ Embrapa Soja

Introdução

O incremento na produtividade de grãos de soja pode ser alcançado pelo melhoramento genético e pelo aprimoramento no manejo do solo e da cultura. Dentre as práticas de manejo, o arranjo espacial das plantas pode afetar expressivamente a velocidade de fechamento das entre linhas (HEIFFIG et al., 2006), a produção de massa seca (COX e CHERNEY, 2011), a arquitetura das plantas (COX et al., 2010), a severidade de doenças (LIMA et al., 2012), o acamamento de plantas (BALBINOT JR., 2011) e a produtividade da cultura (RAMBO et al., 2004; HANNA et al., 2008). Isso ocorre porque o arranjo de plantas influencia na competição intraespecífica e, conseqüentemente, na quantidade de recursos do ambiente – água, luz e nutrientes - disponíveis para cada indivíduo.

O arranjo espacial pode ser alterado pela densidade de plantas e pelo espaçamento entre as fileiras. Vários trabalhos têm demonstrado a baixa resposta da cultura da soja às variações de densidade (HEIFFIG et al., 2006). Esse resultado é função da alta plasticidade fenotípica da soja, a qual é definida como a capacidade da planta alterar sua morfologia e componentes de rendimento a fim de adequá-los às condições impostas pelo arranjo espacial dos indivíduos (COOPERATIVE..., 1994). Ou seja, em baixa densidade, as plantas de soja tendem a emitir maior quantidade de ramos, aumentando o número de vagens por planta, compensando a menor quantidade de indivíduos por área pela maior produção por planta. No entanto, em algumas cultivares e ambientes, variações de densidade, dentro da faixa indicada para cada genótipo, pode afetar a produtividade (COX e CHERNEY, 2011). Em relação ao espaçamento entre fileiras, alguns trabalhos demonstraram a ausência de efeito desse fator sobre a produtividade de grãos, como o conduzido por Heiffig et al. (2006). Por outro lado, Rambo et al. (2003) constataram aumento de produtividade de grãos de soja com a redução do espaçamento de 40 para 20 cm.

Nos últimos anos, alguns produtores têm avaliado uma técnica chamada “plantio cruzado”, em que metade das sementes é semeada em um sentido, normalmente o que já vem sendo praticado na lavoura, e a outra metade em sentido transversal, ou seja, cruzando as linhas de semeadura, formando um quadriculado. No entanto, na literatura há poucas informações que indiquem o efeito dessa técnica sobre a produtividade de grãos, bem como sobre a sua interação com a densidade de plantas e o espaçamento entre as fileiras.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a produtividade de grãos e o acamamento de plantas no cultivar de soja de tipo determinado BRS 295 RR, cultivada em diferentes arranjos espaciais de plantas, incluindo o plantio cruzado.

Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, em Londrina- PR, durante o período de novembro de 2012 a abril de 2013. O solo da área experimental foi identificado como Latossolo Vermelho distroférico. A cobertura vegetal presente na área do experimento foi dessecada quimicamente com glyphosate (1.080 g ha^{-1}) e carfentrazone-ethyl (30 g ha^{-1}), aos 15 dias antes da semeadura.

O delineamento experimental foi em blocos completos ao acaso, em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$, com três repetições. Os tratamentos foram formados pela combinação de dois espaçamentos entre fileiras (0,4 e 0,6 m), duas densidades de semeadura (375.000 e 562.500 sementes ha^{-1} , com poder germinativo de 80%) e de dois sistemas de plantio (plantio cruzado e não cruzado). As parcelas mediam 8,0 m de comprimento e 4,8 m de largura, totalizando $38,4 \text{ m}^2$. A área utilizada nas avaliações foi de $8,4 \text{ m}^2$ (6 m de comprimento por 1,4 m de largura).

Utilizou-se a cultivar BRS 295 RR, que possui tipo de crescimento determinado, grupo de maturidade relativa de 6,5 e resistência ao herbicida glyphosate. A semeadura foi realizada em 19/11/2012, a uma velocidade média de 5 km h^{-1} , por meio de uma semeadora-adubadora equipada com sulcadores do tipo facão guilhotina para o adubo e disco duplo defasado para a semente, e dosadores do tipo disco perfurado com dupla fileira de furos para a semente. As sementes de soja foram tratadas com Vitavax-Thiran 200SC® (150 mL 50 kg^{-1} de sementes), Co-Mo Platinum® (100 mL 50 kg^{-1} de sementes) e inoculante líquido Gelfix 5® (100 mL 50 kg^{-1} de sementes). A adubação de base constou da aplicação de 600 kg ha^{-1} de superfosfato simples, aplicados a lanço. Em cobertura, foram aplicados 250 kg ha^{-1} de cloreto de potássio a lanço, 20 dias após a semeadura. O controle de pragas, doenças e plantas daninhas foi efetuado conforme as indicações técnicas para a cultura.

As plantas presentes na área útil das parcelas foram colhidas e trilhadas, sendo determinada a produtividade de grãos, com padronização da umidade em 13%. Na colheita, também foram dadas notas de acamamento de plantas, em que a nota 1 representa ausência de acamamento e 5 todas as plantas acamadas. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste F ($p \leq 0,05$). Para a realização da análise estatística, foi utilizado o programa Sisvar (FERREIRA, 2008).

Resultados e Discussão

A produtividade de grãos de soja não foi afetada pela densidade de semeadura, pelos espaçamentos entre as fileiras e pelo cruzamento ou não das linhas (Tabela 1). Isso demonstra a alta plasticidade fenotípica da cultivar avaliada, a qual, provavelmente, compensou a menor quantidade de plantas, na menor densidade de semeadura, com maior ramificação. Salienta-se que, em geral, a cultivar BRS 295 RR produz alta quantidade de ramos produtivos. Nas condições de ambiente do experimento, a cultivar BRS 295 RR não teve a produtividade alterada pelas variações de distribuição espacial das plantas, considerando a mesma densidade. Thomas, Costa e Pires (1998) observaram que houve maior produtividade de grãos de soja em espaçamento entre fileiras de 0,4 m em relação a 0,2 m. Por outro lado, Taylor et al. (1982) observaram aumento na produtividade de grãos de soja com a redução do espaçamento de 1,0 m para 0,25 m, em decorrência da maior interceptação de luz pela cultura, sobretudo no início do ciclo de desenvolvimento, que se refletiu em aumento na produção de massa seca. Ou seja, os resultados presentes na literatura divergem quanto aos efeitos do espaçamento entre as fileiras sobre a produtividade de grãos de soja. Isso é explicado pelas variações ambientais e genéticas entre as pesquisas. Segundo Ventimiglia et al. (1999), menores espaçamentos propiciam maior quantidade de flores por área, conferindo maior potencial de rendimento,

o qual pode ser concretizado em função do genótipo e das condições ambientais, sobretudo disponibilidade de água e nutrientes e regime de temperatura.

Na presente pesquisa, o plantio cruzado não foi uma prática relevante para se alcançar maiores produtividades de grãos. É necessário enfatizar que o plantio cruzado reduz o rendimento operacional pela metade, o que pode acarretar em atraso na semeadura. Para a semeadura de grandes áreas dentro dos períodos indicados pelo zoneamento agrícola, o investimento em máquinas necessitaria ser intensificado significativamente. Além disso, a compactação do solo no sistema de plantio cruzado tende a aumentar, pois ocorre o dobro do trânsito de máquinas na área. Esse fato é de alta relevância, pois os casos de compactação em áreas conduzidas em plantio direto vêm se agravando nos últimos anos. O sentido das linhas de semeadura também chama a atenção, pois uma das linhas vai apresentar sentido contrário às curvas de nível, ou seja, uma prática que favorece o processo erosivo, que pode ser agravado em áreas com maior declividade. Finalmente, ressalva-se que no plantio cruzado há maior revolvimento do solo, o que pode favorecer a erosão e a emergência de plantas daninhas nas linhas de semeadura. Nesse contexto, é provável que essa técnica não seja utilizada em larga escala na produção de soja no Brasil.

O acamamento de plantas, que se constitui na queda ou arqueamento das plantas em virtude da flexão da haste e/ou má ancoragem propiciada pelas raízes (BALBINOT JR., 2011) não foi influenciado pelos tratamentos (Tabela 2). Verifica-se que o acamamento observado foi alto, médias superiores a 3,00. Nesse caso, é provável que a produtividade de grãos tenha sido reduzida pelo excesso de acamamento, o qual aumenta a velocidade de senescência de folhas próximas ao solo, dificulta a penetração de fungicidas, inseticidas e luz no dossel e aumenta as perdas de colheita.

Tabela 1. Produtividade de grãos de soja (kg ha^{-1}) em diferentes espaçamentos entre fileiras, densidades de semeadura e em dois sistemas de plantio

Densidades de semeadura (sementes ha^{-1})	Espaçamentos entre fileiras (m)	
	0,4	0,6
	Semeadura cruzada	
375.000	2.507 ^{ns}	2.260
562.500	2.182	2.161
	Semeadura não cruzada	
375.000	2.761	2.523
562.500	2.467	2.250
CV (%)	13,3	

^{ns} Diferenças não significativas pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Nota de acamamento em diferentes espaçamentos entre fileiras, densidades de semeadura e em dois sistemas de plantio

Densidades de semeadura (sementes ha^{-1})	Espaçamentos entre fileiras (m)	
	0,4	0,6
	Semeadura cruzada	
375.000	3,00 ^{ns}	3,33
562.500	4,33	3,33
	Semeadura não cruzada	
375.000	4,33	3,33
562.500	3,67	4,33
CV (%)	28,2	

^{ns} Diferenças não significativas pelo teste F, a 5% de probabilidade.

Conclusão

A produtividade de grãos e o acamamento de plantas na cultivar de soja de tipo de crescimento determinado, BRS 295 RR, não foram afetados pelo cruzamento das linhas, nem tampouco pelos espaçamentos entre fileiras e densidades de plantas avaliados.

Referências

- BALBINOT JR., A.A. Acamamento de plantas na cultura da soja. **Agropecuária Catarinense**, v.25, n.1, p.40-43, 2011.
- COOPERATIVE EXTENSION SERVICE AMES. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1994. 20p.
- COX, W.J.; CHERNEY, J.H.; SHIELDS, E. Soybeans compensate at low seeding rate but not at high thinning rates. **Agronomy Journal**, Madison, v.102, n.4, p.1238-1243, 2010.
- COX, W.J.; CHERNEY, J.H. Growth and yield responses of soybean to row spacing and seeding rate. **Agronomy Journal**, Madison, v.103, n.1, p.123-128, 2011.
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v.6, n.2, p.36-41, 2008.
- HANNA, S.; CONLEY, S.P.; SHANER, G.E.; SANTINI, J.B. Fungicide application timing and row spacing effect on soybean canopy penetration and grain yield. **Agronomy Journal**, Madison, v.100, n.5, p.1488-1492, 2008.
- HEIFFIG, L.S.; CÂMARA, G.M.S.; MARQUES, L.A.; PEDROSO, D.B.; PIEDADE, S.M.S. Fechamento e índice de área foliar da cultura da soja em diferentes arranjos espaciais. , Campinas, v.65, n.2, p.285-295, 2006.
- LIMA, S.F.; ALVAREZ, R.C.F.; THEODORO, G.F.; BAVARESCO, M.; SILVA, K.S. Efeito da semeadura em linhas cruzadas sobre a produtividade de grãos e severidade da ferrugem asiática da soja. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.6, p.954-962, 2012.
- RAMBO, L.; COSTA, J.A.; PIRES, J.L.F.; PARCIANELLO, G.; FERREIRA, F.G. Rendimento de grãos da soja em função do arranjo de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.3, p.405-411, 2003.
- RAMBO, L.; COSTA, J.A.; PIRES, J.L.F.; PARCIANELLO, G.; FERREIRA, F.G. Estimativa do potencial de rendimento por estrato do dossel da soja, em diferentes arranjos de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.33-40, 2004.
- TAYLOR, H.M.; MASON, W.K.; BENNIE, A.T.P.; ROWSE, H.R. Responses of soybeans to row spacings and two soil water levels. I. An analysis of biomass accumulation, canopy development, solar radiation interception and components of seed yield. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.5, n.1, p.1-14, 1982.
- THOMAS, A.L.; COSTA, J.A.; PIRES, J.L. Rendimento de grãos de soja afetado pelo espaçamento entre linhas e fertilidade do solo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.4, p.543-546, 1998.
- VENTIMIGLIA, L.A.; COSTA, J.A.; THOMAS, A.L.; PIRES, J.L.F. Potencial de rendimento da soja em razão da disponibilidade de fósforo no solo e dos espaçamentos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.34, n.2, p.195-199, 1999.

Calibração dos Níveis Críticos de Potássio nas Folhas de Soja de Cultivares com Tipo de Crescimento Indeterminado em Diferentes Estádios de Desenvolvimento

EL KADRI, S.¹; GERMANO, M.G.²; OLIVEIRA, F.A. de³; CASTRO, C. de³; OLIVEIRA JUNIOR, A. de³

¹Unifil, Bolsista Pibic/CNPq smayllaekadri@hotmail.com; ²Analista A, Embrapa Soja, Laboratório de Análise de Solo e Tecido Vegetal; ⁴Pesquisador, Embrapa Soja.

Introdução

O potássio (K) é nutriente essencial para as culturas, por estar associado à tolerância a estresses bióticos e abióticos, à qualidade das sementes e grãos, entre outras funções, o que o torna determinante à produtividade. Na cultura da soja, para cada tonelada de grãos produzida, a demanda por K pela planta é de aproximadamente 38 kg ha⁻¹ de K₂O e, deste total, 20 kg ha⁻¹ são exportados das lavouras com os grãos de soja. Avaliações recentes têm evidenciado que estes valores podem ser ainda maiores para cultivares de soja com tipo de crescimento indeterminado (TCI).

No Brasil, têm aumentado significativamente a área cultivada com variedades de soja com TCI, que se caracterizam por apresentar simultaneamente crescimento vegetativo e reprodutivo. Por se tratar de uma mudança recente no sistema de produção da soja, muito pouco se sabe quanto aos aspectos nutricionais dessas cultivares. Adicionalmente, tem sido frequente o aparecimento de sintomas de deficiência de K em lavouras de soja, em especial durante o enchimento de grãos, fase em que não há parâmetros para interpretar os resultados da análise foliar.

Nesse sentido, é necessário estabelecer estratégias ou indicações de manejo nutricional para cultivares de soja com TCI, por meio da avaliação da exigência nutricional de macro e micronutrientes, bem como pela caracterização da dinâmica e da taxa de acúmulo de massa seca, com o objetivo de definir a forma de amostragem de folhas para fins de diagnose do estado nutricional da planta, possibilitando o ajuste da recomendação de adubação e a racionalização de insumos. Esta atividade é especialmente importante no Brasil, onde as práticas de manejo cultural, desde a adubação de base até a adubação foliar, são baseadas nos princípios fenológicos e metabólicos de cultivares de soja com tipo de crescimento determinado (YAMADA, 1999).

O objetivo do trabalho foi avaliar a concentração de K em amostras de folhas de duas cultivares de soja durante os estádios de desenvolvimento reprodutivo da cultura.

Material e Métodos

Foram realizadas oito coletas de folhas de soja em um experimento de calibração da adubação com K, conduzido na Embrapa Soja, com teor disponível de K⁺ no solo variando de 0,09 a 0,43 cmol_c/dm³, em duas cultivares de TCI (BRS-360RR e VMax RR) na safra 2010/2011.

As amostragens foram realizadas em função dos estádios de desenvolvimento, relacionando-se com os dias após a emergência (DAE): 1^a - R1/R2 (50); 2^a - R2/R3 (56); 3^a - R2/R3 (63); 4^a - R3/

R4 (70); 5ª - R4/R5 (77); 6ª - R5 (84); 7ª - R5 (91) e; 8ª - R5/R6 (98). O ciclo de desenvolvimento foi de 115 e 120 dias, respectivamente, para a BRS-360RR e V-MaxRR. As amostras de folhas (terceiro trifólio, sem pecíolo) foram secas em estufa a 60°C até alcançar massa constante e, em seguida, foram moídas e utilizadas para determinação da concentração de macro e micronutrientes na planta através de análises químicas feitas no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas (LASTV), para posterior correlação com o acúmulo de nutrientes na planta e com a disponibilidade de nutrientes no solo.

Digestão das amostras

As amostras foram digeridas em Forno de Micro-ondas Marca CEM, Modelo *Mars Xpress*, utilizando-se 6 mL de solução aquosa de ácido nítrico (HNO₃) 1:1, e 1 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 130 V. Foram utilizados 0,25 g de tecido vegetal, e o volume foi aferido para 30 mL (diluição de 120x). As condições de digestão em micro-ondas foram: 10 minutos de rampa (aquecimento); manutenção da temperatura em 170°C (15 minutos), sob potência de 1600 w, e resfriamento por 20 minutos, até temperatura ambiente.

Determinações analíticas

Como equipamento analítico, foi utilizado o espectrômetro de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-OES), marca PerkinElmer, modelo *Optima 8300* (Dual View). Este equipamento realiza a leituras das amostras simultaneamente para todos os analitos, e permite ambas as configurações para detecção do sinal (axial e radial).

Análise estatística

O nível crítico de K foi calculado a partir do modelo de regressão que relacionou a produtividade relativa de grãos da cultivar, com a respectiva concentração em cada amostragem. Considerou-se como nível crítico nas folhas, o valor correspondente a 90% de produção relativa. O modelo ajustado para todas as coletas foi o raiz-quadrático: $y = b_0 + b_1x^{0.5} + b_2x$; em que, y corresponde a produtividade relativa; x corresponde à concentração de K nas folhas e b_0 , b_1 e b_2 são os coeficientes de regressão do modelo.

Resultados e discussão

De acordo com a Figura 1, em todas as amostragens, a concentração foliar de K apresentou correlação positiva e significativa ($p \leq 0,01$) com a produtividade de soja. Os níveis críticos de K nas duas cultivares foram semelhantes. Nas três primeiras coletas, os teores de K foram superiores aos conhecidos para as cultivares com tipo de crescimento determinado (TCD), que é de 17 g kg⁻¹ (TECNOLOGIAS..., 2011). Na terceira amostragem, que em estudos preliminares desenvolvidos na Embrapa Soja poderá corresponder à fase para avaliação do estado nutricional da soja com TCI, o nível crítico de K foi de 20,9 g kg⁻¹ (média das duas cultivares). Nas amostragens (4ª a 8ª), os níveis críticos médios foram: 15,0; 14,0; 12,0; 11,1 e 10,4 g kg⁻¹, respectivamente.

Conclusão

Com base nos resultados observa-se a maior exigência de K dos materiais com TCI e, portanto, que a adubação potássica destas cultivares será fundamental no manejo da adubação da soja. Além disso, a definição dos níveis críticos para estádios de desenvolvimento relacionados ao enchimento de grãos permite a detecção de deficiências possibilitando a correção ainda dentro do ciclo da cultura.

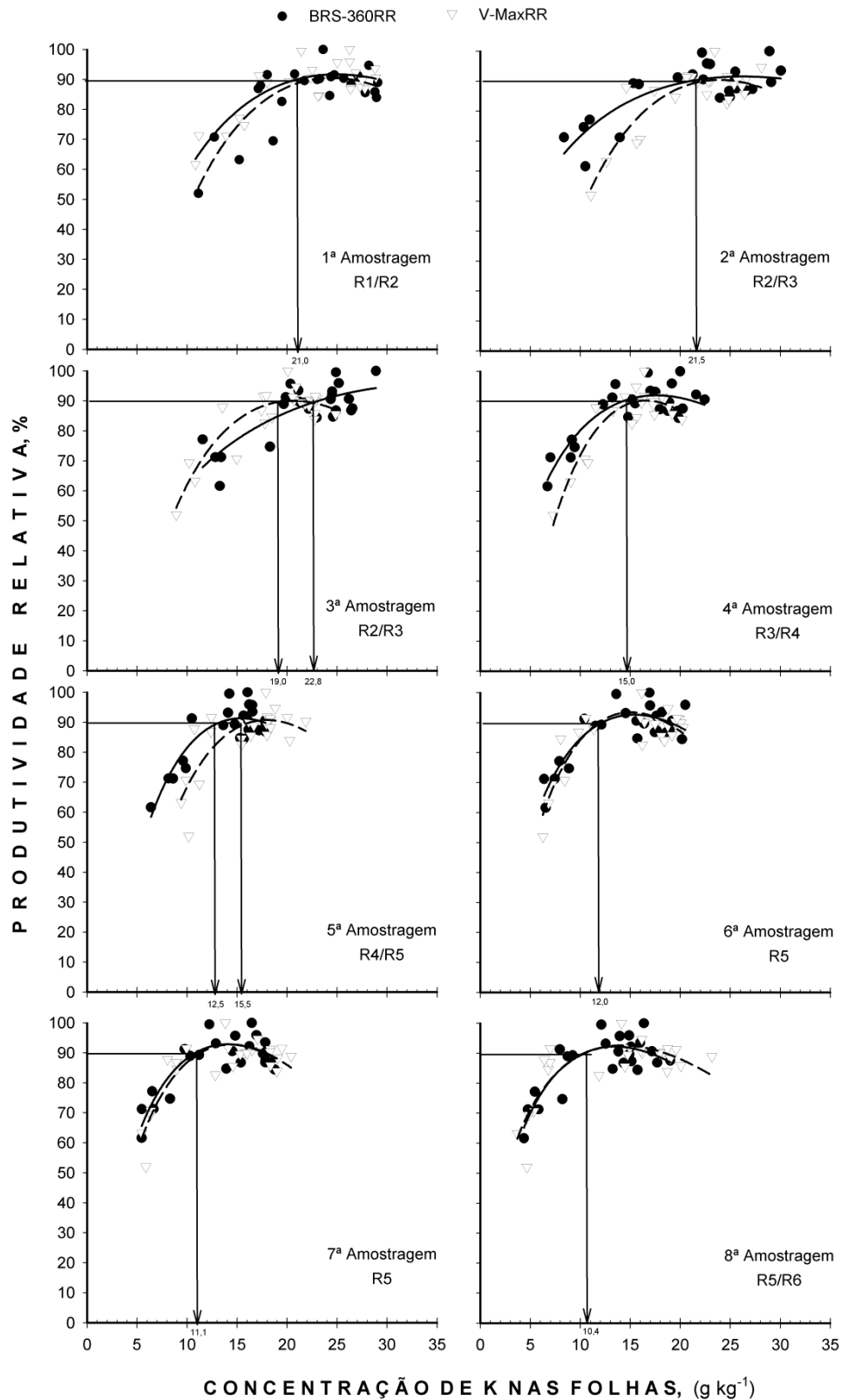


Figura 1. Relação da concentração de K nas folhas de soja e a produtividade relativa em diferentes estádios de desenvolvimentos.

Referências

TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO DE SOJA – REGIÃO CENTRAL DO BRASIL 2012 E 2013. Londrina: Embrapa Soja, 2011. 264 p. Sistemas de Produção / Embrapa Soja, n.15

YAMADA, T. Adubação balanceada da soja. **Potafós**. Piracicaba, SP. 1999, 8 pag.

Plantio cruzado na cultura da soja em uma cultivar de tipo de crescimento indeterminado

SIMIONATO, U.R.¹; PROCÓPIO, S.O.²; BALBINOT JR., A.A.³; DEBIASI, H.³; FRANCHINI, J.C. ³; BABOLIM, R.C.G.¹

¹ UNOPAR, Universidade Norte do Paraná; ² Embrapa Tabuleiros Costeiros; ³ Embrapa Soja

Introdução

Nas últimas décadas, a sojicultura experimentou muitas mudanças com a utilização de novas tecnologias, como o sistema de semeadura direta, o advento das cultivares transgênicas Roundup Ready™ e a introdução de cultivares mais produtivas. Entretanto, essas novas cultivares de soja apresentam hábito de crescimento e porte diferentes das primeiras cultivares utilizadas no Brasil, o que vem promovendo mudanças no arranjo espacial de plantas praticado pelos produtores (SOUZA et al., 2010). Nesse sentido, a introdução de cultivares que apresentam hábito de crescimento indeterminado, maior precocidade, arquitetura compacta, com folíolos pequenos e alto potencial de rendimento de grãos, tem gerado vários questionamentos acerca de arranjos espaciais de plantas que podem conferir maiores produtividades de grãos, sem grandes mudanças nos custos de produção.

O arranjo espacial de plantas afeta a competição intraespecífica e, conseqüentemente, a quantidade de recursos do ambiente – água, luz e nutrientes - disponíveis para cada planta, podendo ser alterado pela densidade de plantas e pelo espaçamento entre as fileiras (RAMBO et al., 2004). Alguns trabalhos têm demonstrado a baixa resposta da cultura da soja às variações em densidades (HEIFFIG et al., 2006). Esse resultado é função da alta plasticidade fenotípica da soja, a qual é definida como a capacidade da planta alterar sua morfologia e componentes de rendimento a fim de adequá-los às condições impostas pelo arranjo espacial dos indivíduos (COOPERATIVE..., 1994). Em relação ao efeito do espaçamento entre as fileiras, há resultados discrepantes na literatura (RAMBO et al., 2003; HEIFFIG et al., 2006), pois essa resposta é dependente das cultivares e do ambiente de cultivo. É importante ressaltar que praticamente todos esses trabalhos disponíveis na literatura foram realizados com cultivares de soja de hábito de crescimento determinado, com folíolos grandes e horizontais, bem como com alta capacidade de ramificação, ou seja, características que estão cada vez mais se distanciando das seleções realizadas nos atuais programas de melhoramento com a cultura da soja no Brasil.

Nos últimos anos, alguns agricultores vêm testando uma técnica de semeadura denominada “Plantio Cruzado”, no qual se realiza uma operação de plantio posicionando metade das sementes, e, em seguida, se realiza outra operação similar no sentido perpendicular à primeira. O plantio cruzado surgiu no Brasil pela observação dos arremates dos talhões de soja, onde algumas linhas se cruzavam e formava-se um “xadrez”. Essa técnica foi usada por alguns ganhadores do concurso de produtividade promovido pelo Comitê Estratégico Soja Brasil (CESB), na safra 2010/11 e 2011/12. No entanto, na literatura científica, há carência de informações sobre os efeitos dessa técnica na produtividade da soja e a sua relação com cultivares e outras práticas de manejo.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a produtividade de grãos e o acamamento de plantas na cultivar de soja de hábito de crescimento indeterminado BRS 359 RR, em diferentes arranjos espaciais de plantas, constituídos por densidades de semeadura, espaçamentos entre fileiras e forma de plantio (cruzado e não cruzado).

Material e métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental da Embrapa Soja, em Londrina- PR, durante o período de novembro de 2012 a abril de 2012. O solo da área experimental foi identificado como Latossolo Vermelho distroférico. A vegetação presente na área experimental foi dessecada quimicamente com glyphosate (1.080 g ha^{-1}) e carfentrazone-ethyl (30 g ha^{-1}).

Utilizou-se o delineamento de blocos completos ao acaso, em esquema fatorial $2 \times 2 \times 2$, com três repetições. Os tratamentos foram formados pela combinação de dois espaçamentos entre fileiras (0,4 e 0,6 m), de duas densidades de semeadura (375.000 e 562.500 sementes ha^{-1} , com poder germinativo de 81%) e de dois sistemas de plantio (plantio cruzado e não cruzado). As parcelas mediam 8,0 m de comprimento e 4,8 m de largura, totalizando $38,4 \text{ m}^2$. A área utilizada nas avaliações foi de $8,4 \text{ m}^2$ (6 m de comprimento por 1,4 m de largura).

Utilizou-se a cultivar BRS 360 RR, que possui hábito de crescimento indeterminado, grupo de maturidade relativa de 6.2 e resistência ao herbicida glyphosate. A semeadura foi realizada no dia 19/11/2012, a uma velocidade média de 5 km h^{-1} , por meio de uma semeadora-adubadora equipada com sulcadores do tipo facão guilhotina para o adubo e disco duplo defasado para a semente, e dosadores do tipo disco perfurado com dupla fileira de furos para a semente. As sementes de soja foram tratadas com Vitavax-Thiran 200SC[®] ($150 \text{ mL } 50 \text{ kg}^{-1}$ de sementes), Co-Mo Platinum[®] ($100 \text{ mL } 50 \text{ kg}^{-1}$ de sementes) e inoculante líquido Gelfix 5[®] ($100 \text{ mL } 50 \text{ kg}^{-1}$ de sementes). A adubação de base constou da aplicação de 600 kg ha^{-1} de superfosfato simples, aplicados a lanço. Em cobertura, foram aplicados 250 kg ha^{-1} de cloreto de potássio a lanço, 16 dias após a semeadura. O controle de pragas, doenças e plantas daninhas foi efetuado conforme as indicações técnicas para a cultura.

As plantas presentes na área útil das parcelas foram colhidas e trilhadas, sendo determinada a produtividade de grãos, com padronização da umidade em 13%. No dia da colheita, também se avaliou o acamamento das plantas na área útil, conferindo-se notas de 1 (sem acamamento) a 5 (100% das plantas acamadas).

Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste F ($p \leq 0,05$). Para a realização da análise estatística foi utilizado o programa Sisvar (FERREIRA, 2008).

Resultados e discussão

Para a produtividade de grãos, houve efeito dos espaçamentos entre fileiras e cruzamento ou não das linhas (Tabela 1). Não houve efeito da densidade de semeadura e das interações entre fatores. Isso indica que a cultivar BRS 360 RR, embora possua plantas compactas, apresenta um nível de plasticidade fenotípica suficiente para alterar a sua morfologia e componentes de rendimento a fim compensar o menor número de plantas por área pela maior produção por planta. A produtividade de grãos foi superior no espaçamento de 0,60 m do que em 0,40 m. Possivelmente isso ocorreu porque houve alto crescimento vegetativo e consequente alto sombreamento em espaçamento mais reduzido, comprometendo a produtividade de grãos. O espaçamento mais amplo permite maior penetração de luz e agrotóxicos no

dossel, conferindo maior sobrevivência das folhas próximas do solo. Por outro lado, vários trabalhos tem demonstrado a possibilidade de aumentar a produtividade de grãos com a redução do espaçamento, pois há incremento no aproveitamento da luz nas fases iniciais do desenvolvimento da cultura, refletindo-se em maior produção de fitomassa (WELLS, 1991), maior índice de área foliar (COX e CHEMEY, 2011), aumento do número de flores por área (VENTIMIGLIA et al., 1999) e maior produtividade de grãos (RAMBO et al., 2003). Nesse sentido, verifica-se que a resposta ao espaçamento entre as fileiras é muito dependente da cultivar e do ambiente de cultivo. Adicionalmente, verificou-se que o cruzamento das linhas provocou redução da produtividade de grãos, possivelmente pelas mesmas razões da redução do espaçamento entre as fileiras.

O acamamento das plantas foi influenciado pela densidade de semeadura (Tabela 2), mas não foi afetado pelo espaçamento entre as fileiras, forma de plantio e pelas interações entre os fatores experimentais. A maior densidade de semeadura provocou maior acamamento. Isso ocorreu porque, em maior quantidade de plantas por área, há redução da quantidade e qualidade da luz, a qual é percebida pelas plantas. Nessa condição, há alto crescimento em altura, tornando as plantas estioladas e muito propensas ao acamamento (BALBINOT JR, 2011). Nesse contexto, para a cultivar BRS 360 RR, deve-se tomar cuidado com o excesso de plantas, a fim de reduzir o acamamento e os danos provocados pelo mesmo.

Tabela 1. Produtividade de grãos de soja em diferentes espaçamentos entre fileiras, densidades de semeadura e em dois sistemas de plantio

Densidades de semeadura (sementes ha ⁻¹)	PRODUTIVIDADE (kg ha ⁻¹)		Médias
	Espaçamentos entre fileiras (m)		
	0,4	0,6	
	Semeadura cruzada		3.472 b ¹
375.000	3.377	3.685	
562.500	3.058	3.766	
	Semeadura não cruzada		3.963 a
375.000	3.905	4.228	
562.500	3.470	4.250	
Médias	3.452 b ¹	3.982 a	
CV (%)	13,6		

¹ Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste F ($p \leq 0,05$)

Tabela 2. Nota de acamamento de plantas em diferentes espaçamentos entre fileiras, densidades de semeadura e em dois sistemas de plantio

Densidades de semeadura (sementes ha ⁻¹)	ACAMAMENTO	
	Espaçamentos entre fileiras (m)	
	0,4	0,6
	Semeadura cruzada	
375.000	2,0	2,3
562.500	4,0	3,7
	Semeadura não cruzada	
375.000	2,0	2,3
562.500	3,3	4,3
Médias de densidade		
375.000	2,1 b ¹	
562.500	3,8 a	
CV (%)	14,3	

¹ Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si pelo teste F ($p \leq 0,05$)

Conclusões

A produtividade de grãos da cultivar de soja de hábito de crescimento indeterminado BRS 360 RR foi maior no espaçamento mais amplo e na semeadura não cruzada, mas não foi influenciada pela densidade de plantas.

O incremento da densidade de plantas conferiu maior acamamento, o qual não foi influenciado pelos espaçamentos entre fileiras e pelo plantio cruzado.

Referências

BALBINOT JR., A.A. Acamamento de plantas na cultura da soja. **Agropecuária Catarinense**, v.25, n.1, p.40-43, 2011.

COOPERATIVE EXTENSION SERVICE AMES. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1994. 20p.

FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, v.6, n.2, p.36-41, 2008.

COX, W.J.; CHERNEY, J.H. Growth and yield responses of soybean to row spacing and seeding rate. **Agronomy Journal**, v.103, n.1, p.123-128, 2011.

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

RAMBO, L.; COSTA, J.A.; PIRES, J.L.F.; PARCIANELLO, G.; FERREIRA, F.G. Rendimento de grãos da soja em função do arranjo de plantas. **Ciência Rural**, v.33, n.3, p.405-411, 2003.

RAMBO, L.; COSTA, J.A.; PIRES, J.L.F.; PARCIANELLO, G.; FERREIRA, F.G. Estimativa do potencial de rendimento por estrato do dossel da soja, em diferentes arranjos de plantas. **Ciência Rural**, v.34, n.1, p.33-40, 2004.

SOUZA, C.A.; GAVA, F.; CASA, R.T.; BOLZAN, J.M.; KUHNEM JUNIOR, P.R. Relação entre densidade de plantas e genótipos de soja Roundup Ready™. **Planta Daninha**, v.28, n.4, p.887-896, 2010.

VENTIMIGLIA, L.A.; COSTA, J.A.; THOMAS, A.L.; PIRES, J.L.F. Potencial de rendimento da soja em razão da disponibilidade de fósforo no solo e dos espaçamentos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n.2, p.195-199, 1999.

WELLS, R. Soybean growth response to plant density: relationship among canopy photosyntheses, leaf area, and light interception. **Crop Science**, v.31, n.3, p.755-761, 1991.

Desempenho produtivo de genótipos de girassol cultivados nas safrinhas 2011 e 2012

Chinaglia, V. G.¹; Grunvald, A. K.²; Carvalho, C. G. P.³; Carvalho, H. W. L. de⁴; Oliveira, A. C. B. de⁵; Godinho, V. de P. C.⁶; Amabile, R. F.⁷; Ribeiro, J. L.⁸

Graduando de Agronomia – Unifil¹, Bolsista Pós-doutorado - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNP², Embrapa Soja³, Embrapa Tabuleiros Costeiros⁴, Embrapa Clima - Temperado⁵, Embrapa Rondônia⁶, Embrapa Cerrados⁷, Embrapa Meio -Norte⁸

Introdução

O girassol (*Helianthus annuus* L.) destacou-se, na safra 2011/2012, como quarta oleaginosa em produção de grãos (39,1 milhões de toneladas) e terceira em área cultivada (25,7 milhões de hectares) no mundo (ESTADOS UNIDOS, 2012). Esta cultura apresenta características agronômicas importantes, como maior tolerância à seca, ao frio e ao calor, quando comparado com a maioria das espécies cultivadas no Brasil (LEITE, 2005). Devido a essas particularidades e à crescente demanda do setor industrial e comercial, a cultura do girassol apresenta-se como importante alternativa econômica em sistemas de rotação e sucessão de cultivos nas regiões produtoras de grãos, principalmente em condições de safrinha.

A obtenção de informações por meio da pesquisa tem sido decisiva para dar suporte tecnológico ao desenvolvimento da cultura, garantindo melhores produtividades e retornos econômicos competitivos. Dentre as várias tecnologias desenvolvidas para o cultivo de girassol, a escolha adequada de cultivares com maiores rendimentos de grãos e de óleo é fundamental para garantir o seu estabelecimento em sistemas de produção. O presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho produtivo, em grãos e em óleo, de genótipos de girassol cultivados nas safrinhas 2011 e 2012.

Material e métodos

Os dados avaliados foram rendimento de grãos e de óleo (kg ha⁻¹) obtidos dos Ensaio Finais de Primeiro Ano e Ensaio Finais de Segundo Ano. Os Ensaio Finais de Primeiro Ano foram conduzidos em Manduri (SP), Planaltina (DF), Anápolis (GO), Palmas (TO), Colinas (PI), Vilhena (ensaio A) e Vilhena (ensaio B) (RO). Os Ensaio Finais de Segundo Ano foram conduzidos em Planaltina (DF), Rio Verde (GO), Vilhena (ensaio A) e Vilhena (ensaio B) (RO), Teresina, São João do Piauí e Colinas (PI).

Os ensaios foram semeados entre os meses de fevereiro e março, em delineamento experimental de blocos completos casualizados, com quatro repetições. Cada parcela foi constituída de quatro linhas de 6 m de comprimento, espaçadas de 0,7 a 0,9 m. As duas linhas externas de cada parcela foram descartadas como bordaduras, obtendo-se uma área útil na parcela de 7 a 9 m². Foram realizados tratamentos culturais como adubação e capina para possibilitar o melhor desenvolvimento das plantas.

Foram avaliados 13 híbridos simples durante dois anos, nas safras 2011 (Ensaio Finais de Primeiro Ano) e 2012 (Ensaio Finais de Segundo Ano). Os híbridos M 734 e HELIO 358 foram considerados testemunhas.

Foram realizadas análises de variância para os dados dos componentes de rendimento, avaliados em cada local e ano. Como nem sempre os locais de teste nos Ensaios Finais de Primeiro Ano foram os mesmos dos Ensaios Finais de Segundo Ano, foi realizada análise conjunta de ambientes (local e ano específicos).

O desempenho produtivo dos genótipos foi avaliado por meio do estudo de adaptabilidade e estabilidade por meio do método de Eberhart & Russel (1966). O método de Eberhart e Russell (1966) leva em consideração, na avaliação dos híbridos, o rendimento médio do genótipo, o seu coeficiente de regressão ($\hat{\alpha}_1$) e a variância dos desvios dessa regressão (σ_a^2). Foram selecionados os genótipos que tiveram desempenho produtivo superior a média geral dos ensaios.

As análises de variância e o estudo de adaptabilidade e estabilidade foram realizados por meio do programa Genes (CRUZ, 2006).

Resultados e discussão

Nas análises de variância conjunta diferenças significativas entre os híbridos e para a interação genótipo x ambiente, quanto aos rendimentos de grãos e de óleo, foram observadas pelo teste F (Tabela 1). Isto indica que os híbridos apresentaram desempenhos diferenciados diante das variações ambientais e revela a necessidade de avaliações em diferentes locais para se realizar a seleção destes híbridos. O coeficiente de variação (CV) para rendimento de grãos foi de 10,9% e para rendimento de óleo foi de 11,2%. Esses valores foram classificados como médios, de acordo com Pimentel-Gomes (1985) e Carvalho et al. (2003) e indicam que a precisão experimental foi satisfatória.

No estudo de adaptabilidade e estabilidade, de acordo com o método de Eberhart e Russell (1966), verificou-se que, para o rendimento de grãos, os híbridos SYN045, BRSG30 e SYN042 tiveram os maiores rendimentos (Tabela 2). Apesar do híbrido BRSG30 ter se destacado quando ao rendimento de grãos, este híbrido apresentou baixa estabilidade ($\sigma_a^2 > 0$ e $R^2 = 54,93$). Os híbridos SYN045 e SYN042 apresentaram adaptabilidade para ambientes favoráveis ($\hat{\alpha}_1 > 1$) e desfavoráveis ($\hat{\alpha}_1 < 1$), respectivamente e baixa estabilidade ($\sigma_a^2 > 0$). Contudo o híbrido SYN045 não deve ser considerado totalmente indesejável, uma vez que os valores de R^2 foram acima de 80% (Cruz et al., 2003).

Quanto ao rendimento de óleo, os híbridos que apresentaram desempenho superior foram SYN034A, SYN045, SYN4065, V70153, SYN039A, SYN042 e BRSG28. Esses híbridos apresentaram adaptabilidade para ambientes favoráveis ($\hat{\alpha}_1 > 1$), exceto para os híbridos V70153 e SYN042 que tiveram adaptabilidade geral ($\hat{\alpha}_1 = 1$) e desfavorável ($\hat{\alpha}_1 < 1$), respectivamente. Os híbridos apresentaram $\sigma_a^2 > 0$; no entanto, os valores de R^2 foram, geralmente, acima de 80%.

Para Eberhart e Russell (1966), o genótipo ideal é aquele que apresenta adaptabilidade geral. Neste estudo, nenhum híbrido foi considerado ideal para os dois caracteres avaliados. Além disso, genótipos com adaptação específica a um tipo de ambiente variaram em função do componente de rendimento. Quando um genótipo for superior em apenas um dos componentes de rendimento, a escolha do melhor genótipo pelo produtor deve se basear na política vigente de comercialização das indústrias esmagadoras de girassol. Atualmente, elas prevêm bonificações aos genótipos que tenham teores de óleo acima de 40% (Oliveira et al., 2005). Dependendo da bonificação, o produtor pode optar por genótipos com maior rendimento de grãos ou de óleo.

Tabela 1. Análise de variância conjunta quanto aos rendimentos de grão e de óleo de genótipos de girassol, avaliados na Rede Nacional de Ensaios de Avaliação de Genótipos de Girassol, coordenada pela Embrapa Soja, nas safrinhas de 2011 e 2012.

F. V.	G.L.	Rendimento de Grãos (Kg ha ⁻¹)	Rendimento de óleo (Kg ha ⁻¹)
Genótipo (G)	12	695.101,14 **	97.096,63 **
Ambiente (A)	13	21.236.484,18 **	4.570.194,94 **
G x A	156	475.101,38 **	93.342,69 **
Resíduo	504	43.350,04	10.686,04
Média ^{1/}		2061,65	922,42
C.V. ^{2/}		10,09	11,20

** Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F; ^{1/}Média Geral, em Kg ha⁻¹. ^{2/}CV: Coeficiente de variação experimental, em %.

Tabela 2. Parâmetros de adaptabilidade e estabilidade, obtido por meio do método de Eberhart & Russel (1966), quanto aos rendimentos de grãos (Kg ha⁻¹) e de óleo (Kg ha⁻¹) de genótipos de girassol, cultivados nas safrinhas de 2011 e 2012.

Genótipo	Media geral	β_{ti} ^{1/}	σ_{di}^2 ^{2/}	R ² ^{3/}
M734(T)	2339,62	1,35**	239684,24**	76,45
SYN045	2181,99	1,16**	32946,40**	93,25
HELIO358(T)	2105,13	1,13*	5649,37 ^{ns}	97,17
BRSG30	2085,51	0,44**	62092,07**	54,93
SYN042	2067,35	0,83*	69084,22**	79,53
V70153	2060,54	0,98 ^{ns}	37937,45**	89,88
SYN4065	2056,07	1,11 ^{ns}	163844,64**	75,91
SYN039A	2055,46	1,14*	105531,07**	83,27
BRSG28	2041,21	1,12 ^{ns}	109873,41**	82,32
SYN034A	2018,26	1,24**	41286,19**	92,92
HLA06270	1944,95	0,86*	38522,35**	87,05
V60415	1930,15	0,63**	131518,26**	55,64
SRM822	1915,26	0,93 ^{ns}	25365,82**	91,46
Media geral	2061,65	-	-	-
		Rendimento de óleo (kg ha ⁻¹)		
HELIO358(T)	977,2	1,14*	1436,11 ^{ns}	96,83
SYN034A	957,82	1,27**	10379,42**	92,28
SYN045	956,14	1,17**	6636,73**	93,4
SYN4065	955,05	1,17**	33289,18**	78,53
M734(T)	946,72	1,18**	26084,05**	82,32
V70153	944,83	0,98 ^{ns}	10498,93**	87,45
SYN039A	933,75	1,18**	17054,14**	87,05
SYN042	928,87	0,84*	14836,58**	79,51
BRSG28	924,35	1,16**	22033,05**	83,91
HLA06270	883,72	0,82**	10198,15**	83,46
SRM822	872,42	0,96 ^{ns}	5805,18**	91,29
BRSG30	861,23	0,45**	12237,72**	56,74
V60415	849,34	0,61**	26112,42**	55,86
Media geral	922,42	-	-	-

1/ β_{ti} : parâmetro de adaptabilidade; 2/ σ_{di}^2 : parâmetro de estabilidade; 3/R²: coeficiente de 1/ β_{ti} : parâmetro de adaptabilidade; 2/ σ_{di}^2 : parâmetro de estabilidade; 3/R²: coeficiente de determinação.

Conclusão

Nenhum genótipo foi considerado ideal segundo a metodologia de Eberhart e Russell (1966). Genótipos com adaptação específica a um tipo de ambiente variaram em função do componente de rendimento.

Referências

- CARVALHO, C. G. P. et al. Categorizing coefficients of variation in sunflower trails. **Crop breed. Appl.Biot.**, v. 3, n. 1, p. 69-76, 2003.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES**: versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2006. 648p.
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Viçosa: UFV, 2003. 585p.
- EBERHART, S.A.; RUSSELL, W.A. Stability parameters for comparing varieties. **Crop Science**, v.6, p.3640, 1966.
- ESTADOS UNIDOS. Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. **Oilseeds**: word market and trade. Washington, 2012. 32p. (Circular Series, FOP 5-12).
- LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHENTI, A.M.; CASTRO, C. de. (Ed.). **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. 613p.
- OLIVEIRA, M.F. de; CASTIGLIONI, V.B.R.; CARVALHO, C.G.P. de. Melhoramento do girassol. In: LEITE, R.M.V.B.C.; BRIGHENTI, A.M.; CASTRO, C. (Ed.). **Girassol no Brasil**. Londrina: Embrapa Soja, 2005. p.269-297.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. São Paulo: Nobel, 1985. 468p.
- PORTO, W.S., CARVALHO, C.G.P. de; PINTO, R.J.B. Adaptabilidade e estabilidade como critérios para seleção de genótipos de girassol. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n. 04, p.491-499, 2007.

NDVI de estádios fenológicos da soja BRS 284 de crescimento indeterminado em casa de vegetação

NEIVERTH, W.¹; CRUSIOL, L. G. T.²; CARVALHO, J. F. C.³; FERREIRA, L. C.⁴; RIO, A.⁵; SIBALDELLI, R. N. R.⁶; NEUMAIER, N.⁷; FARIAS, J. R. B.⁷;

¹Bolsista CNPq/DTI, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ²Bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ³Pós doutoranda/CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁴Pós doutorando/CNPq, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁵Mestrando USP/ESALQ Bolsista CAPES, Embrapa Soja, Londrina, Paraná. ⁶Mestrando UTFPR, Londrina, Paraná. ⁷Pesquisador, Embrapa Soja, Londrina, Paraná.

e-mail:walkyria@cnpso.embrapa.br

Introdução

O cultivo da soja no Brasil tem crescido gradativamente a cada ano. Dentre os principais fatores que contribuem para esse aumento estão os avanços tecnológicos, práticas de manejo sustentável e eficiência dos produtores. Da área de 53,04 milhões de hectares cultivados com as principais culturas no país, aproximadamente 52,2% (27,713 milhões de hectares) destinam-se à produção de soja. Desta, 4,71 milhões estão no Estado do Paraná. Estimativas para a produção de soja no Brasil na safra 2012/2013 apontam uma produção de 81,94 milhões de toneladas, 23,4% maior que a safra anterior. No Paraná, a boa distribuição das chuvas na maior parte do estado contribuiu para os bons níveis de produtividade de 3.305 kg ha⁻¹, a segunda maior do país (CONAB, 2013).

Dentre as cultivares de soja mais utilizadas, verifica-se uma tendência na preferência por aquelas precoces e de tipo de crescimento indeterminado, pois permitem a semeadura antecipada sem que haja redução na altura das plantas proporcionada pela reação ao fotoperíodo. Esta prática viabiliza o cultivo de duas culturas no período primavera/verão, possibilitando melhor aproveitamento da área, além de reduzir os danos causados pela ferrugem da soja (GARCIA et al., 2007). Cober e Morrison (2010), afirmam que uma das vantagens do cultivo de plantas com este tipo de crescimento é o maior porte (altura), que, por consequência, pode refletir em maior produção média de grãos. Além desta característica, Saturno (2013) afirma que plantas com tipo de crescimento indeterminado na haste principal tendem a apresentar maior número de nós.

Além de melhorias no uso de cultivares diferenciadas e manejos utilizados, investimentos têm sido realizados em tecnologias que facilitem o monitoramento das culturas. Dentre as várias tecnologias disponíveis destacam-se as técnicas de sensoriamento remoto, que permitem a obtenção de informações sobre um determinado objeto, área ou fenômeno sem que haja contato direto, não interferindo, portanto, em seu desenvolvimento. Os materiais ou áreas a serem analisados são caracterizados e diferenciados de acordo com a capacidade de absorção e reflectância dos feixes luminosos (CARTOGRAFIA, 2013). A reflectância é dividida em regiões do comprimento de onda visível e do infravermelho próximo, médio e distante (MOREIRA, 2007 apud GROFF, 2010). Em vegetais, a reflexão da luz é determinada pela clorofila, que reflete luz verde (visível) e absorve luz azul e vermelha. Portanto, quanto maior a taxa de clorofila na célula, maior será a reflectância de luz no comprimento de onda entre 0,5 e 0,6 µm e maior absorção de luz nas regiões de comprimento de onda entre 0,4 e 0,5 µm e entre 0,6 e 0,7 µm (TAIZ e ZEIGER, 2009).

No sensoriamento remoto, há vários índices disponíveis para serem utilizados, sendo o uso determinado de acordo com o objetivo da pesquisa. Os índices que melhor se correlacionam com a vegetação são os que utilizam como base informações obtidas através da combinação de dados espectrais no comprimento de onda vermelho e infravermelho próximo, diretamente relacionados às regiões fotossintéticas ativas das plantas (JESUS e MIURA, 2009). Um dos índices que se baseia neste princípio é o Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI, do inglês *Normalized Difference Vegetation Index*), capaz de transformar em números as informações recebidas por meio da reflectância dos feixes luminosos. O NDVI varia de -1 a 1, onde -1 se refere à ausência total de reflectância do infravermelho, 0 corresponde a ausência de clorofila e 1 representa alta concentração de folhas verdes (GOPALAPILLAI et al., 1999 apud POLSAPALLI, 2005).

Na agricultura, este índice permite estimar produção, vigor vegetativo das culturas, deficiência de nutrientes, presença de patógenos, estresse hídrico, dentre outros (RIZZI e RUDORFF, 2007; PICOLI et al., 2009; MOTOMIYA et al., 2009; MOLIN et al., 2010; GODOY e HENNING, 2008; OVIEDO e RUDORFF, 2000). Contudo, não foram encontrados, na literatura, trabalhos que caracterizem pontualmente os estádios fenológicos da soja por meio deste índice.

O presente estudo objetivou avaliar o perfil espectral temporal de soja cultivar BRS 284 em alguns estádios de seu ciclo de crescimento, em condições de casa de vegetação.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no ano agrícola 2012/2013 na Embrapa Soja, localizada no município de Londrina, PR. As plantas foram mantidas em casa de vegetação a qual possuía cobertura de plástico e temperatura e umidade relativa do ar monitoradas periodicamente por meio de um termohigrógrafo modelo Hobo U14-002 (Onset®).

Utilizou-se para o experimento a cultivar de soja BRS 284, de tipo de crescimento indeterminado, ciclo precoce e de ampla aceitação comercial. As sementes foram previamente tratadas com Vitavax® Thiram 200 SC (200 g L⁻¹) (DU PONT) e Standak® (250 g L⁻¹) (BASF) para manutenção de sua sanidade. Minutos antes da semeadura, foram inoculadas com Gelfix 5® (Nitral Urbana), constituído por cepas de *Bradyrhizobium elkanii* SEMIA 587 e SEMIA 5019 na concentração de 200 mL de inoculante para cada 50 kg de semente. A semeadura foi realizada no dia 09 de novembro de 2012, colocando-se cinco sementes por vaso (5 L), os quais foram preenchidos com substrato preparado à base de solo, areia e composto orgânico da marca Humorgan, na proporção 3:1:1. Aos doze dias após a semeadura (DAS), no estágio V1, realizou-se o desbaste, mantendo-se uma planta por vaso. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso, composto por oito repetições.

O estágio de desenvolvimento fenológico (EDF) das plantas foi avaliado três vezes por semana, a partir da data de germinação das sementes (5 DAS), de acordo com a classificação estabelecida pela Embrapa Soja (2010), com base em Fehr e Caviness (1977) e em Ritchie et al (1977). Os valores de NDVI foram obtidos através do equipamento GreenSeeker® modelo 505 HandHeld Sensor, fabricado pela *Ntech Industries, Inc*, que calcula o NDVI a partir da equação $NDVI = (\rho_{ivp} - \rho_v) / (\rho_{ivp} + \rho_v)$, onde ρ_{ivp} é a reflectância no infravermelho próximo (0,725-1,1 μm) e ρ_v é a reflectância no vermelho (0,58-0,68 μm).

Nessas leituras manteve-se o sensor posicionado a uma distância fixa do topo do dossel dentro a faixa de altura recomendada pelo fabricante. O horário das leituras foi padronizado para as 9 horas da manhã, conforme estabelecido por Crusiol et al. (2012). Os DAS e estádios de

desenvolvimento fenológicos nos quais as leituras de NDVI foram obtidas bem como os valores médios de NDVI por estágio fenológico podem ser observados na Tabela 1.

Os dados apresentaram distribuição normal da média e atenderam aos demais pressupostos da análise de variância (ANOVA). Desta forma, os dados foram submetidos à ANOVA com posterior ajuste do modelo de regressão polinomial quadrática e comparações múltiplas de médias (teste Tukey), os quais foram realizadas por meio do programa computacional Sisvar 5.3 (FERREIRA, 2010).

Resultados e Discussão

Foram realizadas 11 leituras de NDVI ao longo do ciclo da cultivar BRS 284, distribuídas entre os estádios V3 e R7 (Tabela 1). Pode-se verificar um constante aumento na média de NDVI até atingir o estágio R 5.4, correspondente aos 69 DAS, no qual se atingiu o ponto máximo, passando a decrescer a partir deste ponto. O valor médio de NDVI observado e identificado como ponto máximo foi igual a 0,908, que representou um aumento de 73,28% em relação ao estágio V3 (0,524) (Tabela 1). A planta de soja em estágio de desenvolvimento fenológico V3 é caracterizada por apresentar dois trifólios totalmente desenvolvidos, enquanto em R 5.4 esta se apresenta em fase de enchimento de grãos (EMBRAPA, 2010).

Tabela 1. Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI) comparativo aos estádios de desenvolvimento fenológico da soja, cultivar BRS 284. **DAS - EDF:** dias após a semeadura da realização da leitura do estágio de desenvolvimento fenológico. **DAS - NDVI:** dias após a semeadura da realização da leitura de NDVI. **NDVI:** valores médios de NDVI para os referidos dias e estádios.

Leituras	Estádio de Desenvolvimento Fenológico										
	V3	V5	R1	R 5.1	R 5.3	R 5.4	R 5.5	R6	R6	R7	R7
DAS - EDF	19	26	33	55	61	68	75	81	90	109	117
DAS - NDVI	20	27	34	55	62	69	76	83	90	109	118
NDVI	0,524	0,712	0,805	0,878	0,898	0,908	0,865	0,882	0,870	0,748	0,704

O aumento dos valores médios de NDVI de acordo com o desenvolvimento da planta está diretamente relacionado ao aumento de sua biomassa devido à maior área verde. A maior biomassa resulta em aumento da taxa fotossintética e, conseqüentemente, maior absorção de CO₂ atmosférico (BELTRÃO et al., 2007). De acordo com Liu et al. (2012), o teor de clorofila na planta é o fator de maior influência no NDVI, podendo a margem de erro da leitura ser aumentada ou diminuída de acordo com as alterações no índice de área foliar.

Entre os estádios R1 e R 5.4 observou-se aumento de 12,7% no valor de NDVI, possivelmente pelo aumento da biomassa após o início do florescimento. De acordo com Nogueira et al. (2009) e Liu et al. (2010), cultivares de crescimento indeterminado mantêm crescimento vegetativo da gema apical após o início do florescimento devido à presença do gene *Dt1*. Além disso, Heatherly e Smith (2004) verificaram aumento significativo na altura e no número de nós em plantas com tipo de crescimento indeterminado após o florescimento, podendo este aumento variar de acordo com a época de semeadura.

A menor média de NDVI no estágio R 5.5 (0,865) seguido de leve aumento no índice em R6 (0,882) justifica-se devido à infestação de ferrugem asiática nas plantas as quais, após a aplicação de fungicida, apresentaram leve recuperação do índice. A presença de ferrugem nas plantas afeta a área fotossinteticamente ativa, reduzindo assim o valor médio de NDVI (KOGA et al., 2007).

A redução nos valores médios de NDVI, no estágio R6 (90 DAS), ocorreu devido ao amarelecimento das folhas e redução da área fotossinteticamente ativa. O estágio R6 caracteriza-se como a fase final de enchimento de grãos, ou seja, as vagens ainda possuem grãos verdes, porém com suas cavidades completamente preenchidas (EMBRAPA, 2010).

Do estágio R6 (90 DAS) ao R7 (118 DAS), houve redução de 19,08% no valor de NDVI. No estágio R7 as plantas apresentam características de início de maturação, principalmente, o amarelecimento de vagens. Considera-se o início do estágio quando pelo menos uma vagem normal no caule apresenta coloração de madura (EMBRAPA, 2010).

Aplicando-se uma linha de tendência aos dados obtidos pelas leituras de NDVI ao longo do ciclo da soja (Figura 1), observa-se relação entre os dados de NDVI e desenvolvimento da soja, onde o índice vegetativo confirma o estágio de desenvolvimento da planta. A linha de tendência tende a subir na fase vegetativa e início da fase reprodutiva, decrescendo no final do ciclo, onde há redução da área fotossintética ativa na planta.

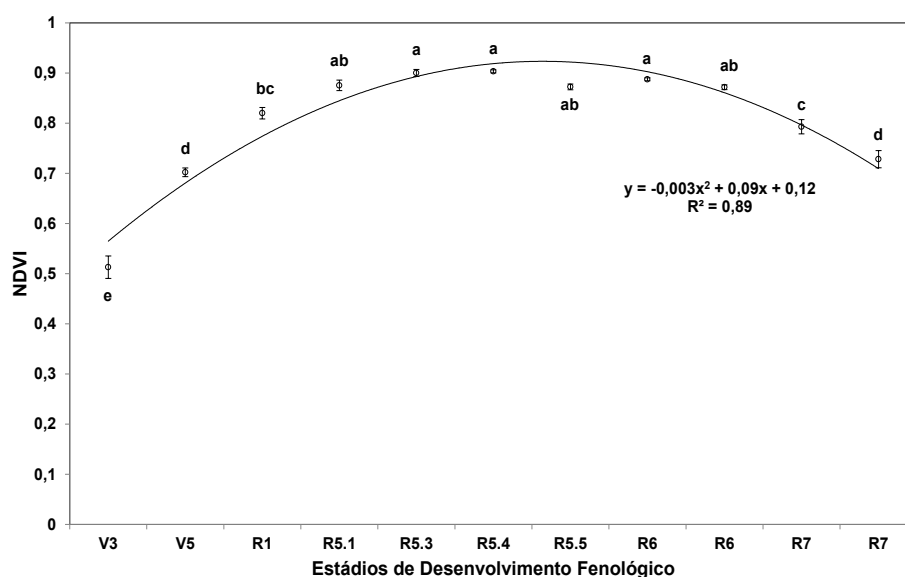


Figura 1. Valores de NDVI ao longo dos diferentes estádios de desenvolvimento fenológico da soja BRS 284. $n = 6 \pm$ erro padrão da média. Médias seguidas de mesmas letras entre os diferentes estádios de desenvolvimento fenológico não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Com base nos resultados obtidos por meio do teste de Tukey (Figura 1), observaram-se valores significativamente menores de NDVI nos estádios iniciais e finais do ciclo da soja. No período de enchimento de grãos (R5) e R6, não houve diferença significativa entre os valores de NDVI nos diferentes estádios, indicando saturação dos valores médios do índice neste período.

Conclusões

- A utilização do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI) permite a diferenciação entre os principais estádios fenológicos analisados
- O ponto máximo de NDVI observado (0,908) ocorreu aos 69 dias após a semeadura, com as plantas no estágio R 5.4
- As plantas apresentaram aumento de 12,7% no valor médio de NDVI após o início do florescimento
- A redução da área fotossintética ativa na planta refletiu em redução do valor médio de NDVI

Referências

- BELTRÃO, N. E. M.; CARDOSO, G. D.; VALE, L. S. **Balço energético e "sequestro" de carbono em culturas oleaginosas**. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. 22 p. (Embrapa Algodão. Documentos, 167).
- CARTOGRAFIA. **Conceitos básicos de sensoriamento remoto**. Disponível em: <<http://www.cartografia.eng.br/artigos/senso01.php>>. Acesso o 02 de abril de 2013.
- COBER, E. R.; MORRISON, M. J. Regulation of seed yield and agronomic characters by photoperiod sensitivity and growth habit genes in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 120, p. 1005-1012, 2010.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, sétimo levantamento, abril 2013**. Brasília: Conab, 2013. 28 p.
- CRUSIOL, L. G. T.; CARVALHO, J. F. C.; SIBALDELLI, R. N. R.; PROCÓPIO, S. O.; NEUMAIER, N.; NEPOMUCENO, A. L.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; FARIAS, J. R. B. Influência do horário das medições nos valores de NDVI. In: Congresso Brasileiro de soja, 6. Cuiabá, 2012. **Resumos...** Brasília: Embrapa, 2012. Artigos, p. 82. Disponível em <http://www.cbsoja.com.br/anais/trabalhos/127_s323.pdf>. Acesso em 10 de abril 2013.
- EMBRAPA. **Tecnologias de produção de soja: Região Central do Brasil 2011**. Londrina: Embrapa Soja. 2010. 255 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 14).
- FEHR, W. R.; CAVINESS, C. E. **Stages of soybean development**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 11 p. (Special Report, 80).
- FERREIRA, D. F. **SISVAR - Sistema de análise de variância**. Versão 5.3. UFLA, Lavras, 2010.
- GARCIA, A.; PÍPOLO, A. E.; LOPES, I. O. N.; PORTUGAL, F. A. F. **Instalação da lavoura de soja: época, cultivares, espaçamento e população de plantas**. Londrina: Embrapa Soja. 2007. 12 p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 51).
- GODOY, C. V.; HENNING, A. A. Tratamento de semente e aplicação foliar de fungicidas para o controle da ferrugem-da-soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 10, p. 1297-1302, 2008.
- GROFF, E. C. **Comportamento do NDVI da cultura da soja e sua relação com as variáveis agrônomicas**. 2010. 50 p. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.
- HEATHERLY, L. G.; SMITH, J. R. Effect of soybean stem growth habit on height and node number after beginning bloom in the mid southern USA. **Crop Science**, v. 44, p. 1855-1858, 2004.
- JESUS, S. C.; MIURA, A. K. Análise de regressão linear múltipla para estimativa do índice de vegetação melhorado (EVI) a partir das bandas 3, 4 e 5 do sensor TM/Landsat5. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 14, 2009, Natal. **Anais...** Natal: INPE, p.1103-1110, 2009.
- KOGA, L. J.; CANTERI, M. G.; GODOY, C. V. Relação entre medidas de refletância e área foliar sadia, severidade da ferrugem asiática e produtividade da cultura da soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 4, p. 571-580, 2007.

LIU, B.; WATANABE, S.; UCHIYAMA, T.; KONG, F.; KANAZAWA, A.; XIA, Z.; NAGAMATSU, A.; ARAI, M.; YAMADA, T.; KITAMURA, K.; MASUTA, C.; HARADA, K.; ABE, J. The soybean stem growth habit gene *Dt1* is an ortholog of Arabidopsis TERMINAL FLOWER1. **Plant Physiology**, v. 153, p.198-210, 2010.

LIU, J.; PATTEY, E.; JÉGO, G. Assessment of vegetation indices for regional crop green LAI estimation from Landsat images over multiple growing seasons. **Remote Sensing of Environment**, v.123, p. 347-358, 2012.

MOLIN, J. P.; FRASSON, F. R.; AMARAL, L. R.; POVH, F. P.; SALVI, J. V. Capacidade de um sensor ótico em quantificar a resposta da cana-de-açúcar a doses de nitrogênio. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 14, n. 12, p. 1345-1349, 2010.

MOTOMIYA, A. V. A.; MOLIN, J. P.; CHIAVEGATO, E. J. Utilização de sensor óptico ativo para detectar deficiência foliar de nitrogênio em algodoeiro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n. 2, p.137-145, 2009.

NOGUEIRA, A. P. O.; SEDIYAMA, T.; BARROS, B. H.; TEIXEIRA, R. C. Morfologia, crescimento e desenvolvimento. In: SEDIYAMA, T. (Ed.). **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenias, p. 7-16, 2009.

NOVO, M. L. de M. **Sensoriamento remoto: Princípios e aplicações**. 2ª ed. 3ª reimpressão. São José dos Campos, 1998. 308 p.

OVIEDO, A. F. P.; RUDORFF, B. F.T. Índice de área foliar e resposta espectral da cultura do trigo (*Triticum aestivum* L.) submetida ao estresse hídrico. **Revista de biociências**, v. 6, n. 2, p. 39-47, 2000.

PICOLI, M. C. A.; RUDORFF, B. F.T.; RIZZI, R.; GIAROLLA, A. Índice de vegetação do sensor MODIS na estimativa da produtividade agrícola da cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 789-795, 2009.

POLSAPALLI, S. **Development of software to process aerial images for agricultural purposes**. 2005. 151 p. Thesis, Master of Science in Biological and Agricultural Engineering, Graduate Faculty of the Louisiana State University, Louisiana, 2005.

RITCHIE, S. W.; HANWAY, J. J.; THOMPSON, H. E.; BENSON, G. O. **How a soybean plant develops**. Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1977. 20 p. (Special Report, 53).

RIZZI, R.; RUDORFF, B. F.T. Imagens do sensor MODIS associadas a um modelo agrônomico para estimar a produtividade de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 1, p. 73-80, 2007.

SATURNO, D. F. **Efeito do N-mineral sobre a fixação biológica de nitrogênio, em cultivares de soja de hábito de crescimento determinado e indeterminado**. 2013. 52 p. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fotossíntese: as reações luminosas. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2009, p. 147-181.

Biologia de *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) alimentado com soja Bt em diferentes temperaturas

Cruz, Y.K.S. ¹; BORTOLOTTI, O.C. ²; BUENO, A.F. ³; BARBOSA, G.C⁴; SILVA, G.V⁵; BRAGA, K. ⁶; POMARI, A. F. ⁷; QUEIROZ, A.P. ¹; SANZOVO, A. W. S. ¹

¹Universidade Estadual Norte do Paraná, ² Universidade Federal do Paraná, ³Embrapa Soja, ⁴Centro Universitário Filadélfia de Londrina, ⁵Universidade Estadual de Londrina, ⁶Universidade Norte do Paraná, ⁷Universidade de São Paulo- Ribeirão Preto.

Introdução

O percevejo barriga-verde *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) é uma praga neotropical importante em diversas culturas na região Sul do Brasil (PANIZZI et al., 2007). A mudança em muitas práticas culturais, como a adoção do sistema plantio direto e cultivo de duas safras (milho e soja) tem favorecido a ocorrência do percevejo barriga-verde (GOMEZ; ÀVILA, 2001).

Essa espécie ocorre em culturas de verão, como por exemplo, o milho e a soja, embora recentemente tenha sido relatada também se alimentando de cereais de inverno. Esse fato tem gerado a dúvida que a praga pode ser favorecida quando se encontra em condições de menores temperaturas climáticas, que é o cenário do cultivo das safrinhas. A relação da temperatura com os insetos é muito importante, pois pode influenciar em seu desenvolvimento, sobrevivência e reprodução (CHAPMAN, 1998). Em termos práticos também pode alterar a dinâmica populacional das pragas, assim como a capacidade de causarem danos às plantas hospedeiras (HADDAD et al., 1999). Porém outros fatores podem influenciar a capacidade de dano da praga, como as características da planta hospedeira. Nesse sentido, atualmente tem ganhado muito espaço o cultivo de plantas transgênicas resistentes à insetos, com a inserção de genes da bactéria *Bacillus thuringiensis* ao genoma de plantas. O uso da biotecnologia tem algumas vantagens, como a redução de inseticidas químicos, diminuindo assim impactos sobre o meio ambiente, porém não se sabe o impacto que pode apresentar sobre pragas não-alvo (FRIZZAS; OLIVEIRA, 2006). Trabalhos demonstram que o cultivo em larga escala de plantas transgênicas e o conseqüente decréscimo na intensidade do uso de inseticidas para as pragas-alvo podem permitir que determinadas espécies-praga se tornem mais relevantes naquele ambiente agrícola (WU et al., 2005). Assim, o conhecimento da interação das espécies não-alvo (pragas e seus inimigos naturais) da soja com essa nova tecnologia, *Bt*, é de grande importância teórica e prática.

Desse modo, este estudo objetivou avaliar a influência da temperatura sobre os aspectos biológicos de *D. melacanthus*, e foi estabelecido o efeito da soja Bt sobre esta praga.

Materiais e Métodos

Os estudos foram conduzidos de novembro de 2012 a janeiro de 2013 no Laboratório de Parasitoides da Embrapa Soja – Londrina. Os ovos de *Dichelops melacanthus* utilizados para iniciar os estudos foram provenientes do laboratório de criação de insetos do Instituto Agrônomo do Paraná, com sede em Londrina.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com os tratamentos em arranjo fatorial 3 x 2; três temperaturas e duas fontes de alimento, com sete repetições, totalizando 42 parcelas experimentais. Os tratamentos utilizados para avaliar o impacto da temperatura sobre os aspectos biológicos de *D. melacanthus* foram três temperaturas constantes (19°, 25° e 31° ± 2°C), com umidade relativa (60 ± 10 %) e fotofase (14h). A fonte de alimento ofertada foram as cultivares de soja MON 87701 X MON 89788, que expressa a proteína Cry1Ac (soja *Bt*) sua isolinha não Bt A5547 (soja não *Bt*).

Para avaliar o impacto da temperatura e do alimento sobre o desenvolvimento ninfal da praga, cada tratamento foi representado por 70 espécimes, agrupados em sete repetições de 10 indivíduos. Devido ao hábito gregário das ninfas recém eclodidas, o experimento iniciou com ninfas de 2° instar, que foram individualizadas em placas de Petri (6 cm de diâmetro), forradas com papel filtro e um orifício na tampa. Para cada indivíduo foi oferecido uma vagem de soja e um micro tubo de plástico contendo água e tampado com algodão, trocando-se o alimento três vezes por semana. Com o uso de uma piceta, as placas foram umedecidas diariamente, para auxiliar e manter a Umidade Relativa (UR %) dentro das placas. A avaliação do instar, assim como a mortalidade da praga também foi realizada diariamente, até os insetos atingirem a fase adulta.

No intervalo de 24h após a emergência dos adultos, os mesmos foram pesados (mg) em uma balança analítica e separados por sexo. Com os adultos foram formados os casais em caixas plásticas do tipo Gerbox® (no máximo dois em cada caixa), forradas com papel filtro junto com microtubo plástico com água tipo Eppendorf®, fechado com algodão. Em cada caixa ofertou-se vagens frescas de soja, *ad libitum*, trocadas três vezes por semana. O papel filtro dentro das caixas foi trocado sempre que apareceu contaminação por fungo. A coleta dos ovos dos percevejos foi realizada três vezes por semana, com intervalo mínimo de dois dias. Para avaliar a viabilidade dos ovos, estes foram retirados de cada Gerbox® acondicionados em placas de Petri (6 cm de diâmetro) e mantidos nas mesmas condições de temperatura, umidade e fotoperíodo que os adultos. A partir da primeira postura das fêmeas, procedeu-se a coleta de ovos a cada 48h, para quantificação dos ovos (fecundidade) e estudo da viabilidade dos ovos. Os resultados obtidos foram submetidos às análises exploratórias para avaliar as pressuposições de normalidade e independência dos resíduos, a homogeneidade de variância dos tratamentos e a aditividade do modelo para permitir a aplicação da Análise de Variância (ANOVA). As comparações múltiplas de médias foram realizadas pelo teste de Tukey, ($p \leq 0,05$). O programa estatístico utilizado para a análise dos dados foi o Statistical Analysis System (SAS Institute, 2000).

Resultados e discussão

De forma geral, os resultados obtidos nesse estudo e que estão apresentados na Tabela 1 indicaram que *D. melacanthus* desenvolve-se melhor em temperaturas mais elevadas (entre 25 e 31°C), apenas o efeito de temperatura apresentou resposta significativa, a soja MON 87701 x MON 89788 não tem influência sobre a biologia da praga, tanto na fase ninfal quanto na adulta. Os coeficientes de variação (CV) para os diferentes instares variaram de 3,97 a 34,25 % sendo esta maior variabilidade para o 3° instar.

A fase ninfal do percevejo barriga-verde foi acelerada com o aumento da temperatura, porém isso não refletiu em maior taxa de mortalidade da praga, ou pior desempenho de adultos, o que comprova que mesmo em temperaturas elevadas (31°C) o inseto apresenta capacidade para se desenvolver. O pior desenvolvimento do inseto foi na temperatura de 19°C, quando apenas 0,42% da população inicial atingiram a fase adulta. De forma similar ao presente estudo,

Chocorosqui & Panizzi (2002) verificaram que em temperaturas mais baixas (15 a 20°C) a taxa de mortalidade de *D. melacanthus* é muito elevada, e o inseto não apresenta condições de desenvolver-se nessas temperaturas.

Durante o segundo instar, o tempo de desenvolvimento de *D. melacanthus* na temperatura de 19°C foi aproximadamente três vezes superior do que o observado nas temperaturas de 25 e 31°C (Tabela 1).

Tabela 1. Influência da temperatura sobre a duração da fase ninfal de *D. melacanthus* alimentado com soja MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não Bt. Londrina, 2013.

Temperatura (°C)	Duração (dias) das fases ninfais de <i>Dichelops melacanthus</i>				
	2° instar	3° instar	4° instar	5° instar	Fase ninfal
19	12,84 ¹ ± 0,35 a	15,28 ± 1,45 a	-	-	-
25	4,55 ± 0,25 b	7,18 ± 0,52 b	7,26 ± 0,29 a	9,58 ± 0,18 a	27,50 ± 0,58 a
31	3,76 ± 0,12 c	3,68 ± 0,18 c	3,99 ± 0,22 b	5,44 ± 0,12 b	16,73 ± 0,52 b
Soja Bt	6,97 ± 0,82	6,70 ± 1,08	5,34 ± 0,44	7,36 ± 0,58	22,85 ± 1,56
Soja não Bt	7,14 ± 1,04	8,44 ± 1,22	5,91 ± 0,58	7,66 ± 0,59	21,38 ± 1,60
CV ² (%)	8,63	34,25	17,33	3,97	9,21
GL ³ temp.	2	2	1	1	1
GL cultivar	1	1	1	1	1
GL temp. x cultivar	2	2	1	1	1
F ⁴ temp.	259,46	46,35	74,55	364,13	195,8
F cultivar	0,55	1,04	2,28	2,41	3,62
F temp. x cultivar	2,96	0,09	1,91	0,74	0,01
P ⁵ -valor temp.	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
P-valor cultivar	0,46	0,31	0,14	0,14	0,07
P-valor temp. x cultivar	0,07	0,91	0,17	0,4	0,9

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). nsANOVA não significativa. ²CV = Coeficiente de Variação, ³GL = Grau de Liberdade, ⁴F = Estatística F obtido na ANOVA, ⁵P-valor = Valor da Probabilidade da estatística F

A maior duração do instar ninfal pode ser um método de sobrevivência da espécie, em busca de garantir um maior período de sobrevivência através da economia de energia, que seria gasta com a realização da ecdise. Nessa fase, a taxa de mortalidade não diferiu entre as temperaturas (2° instar), assim como também não se verificou diferença entre os espécimes alimentados com soja MON 87701 X MON 89788 e a sua isolinha não Bt. Os coeficientes de variação para a viabilidade variaram entre 7,92 e 36,42 e da mesma forma que a duração da fase ninfal a maior variabilidade ocorreu para 3° instar. Entretanto, deve-se considerar que a taxa de mortalidade foi relativamente elevada em todas as temperaturas (Tabela 2), o que pode indicar que a soja pode não ser uma planta hospedeira que tenha condições ótimas para o desenvolvimento da praga. Chocorosqui & Panizzi (2002) obtiveram resultados semelhantes, com mais de 50% de mortalidade de *D. melacanthus* quando alimentado apenas com soja. Embora a espécie seja uma praga da soja, essa observação permite levantar a hipótese que a dieta restrita, como ofertada em laboratório, pode limitar o desenvolvimento do percevejo barriga-verde, que em condições naturais (agroecossistema), pode alimentar-se de diversas plantas hospedeiras, equilibrando-se nutricionalmente melhor.

No terceiro instar, novamente a duração ninfal a 19°C foi superior em relação às demais temperaturas, entretanto verificou-se uma maior taxa de mortalidade da praga, confirmando o efeito adverso da baixa temperatura para o desenvolvimento do inseto. Observou-se que do 3° ao 5° instar não houve resposta significativa entre as duas maiores temperaturas (Tabela 2).

Tabela 2. Influência da temperatura sobre a sobrevivência ninfal de *D. melacanthus* alimentado com soja MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não Bt. Londrina, 2013.

Temperatura (°C)	Viabilidade (%) das fases ninfais de <i>Dichelops melacanthus</i>				
	2° ínstar	3° ínstar	4° ínstar	5° ínstar	Fase ninfal
19	29,90 ^{1ns} ± 3,04	41,76 ± 10,39 b	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	0,42 ± 0,22 c
25	28,57 ± 3,76	85,83 ± 4,93 a	98,07 ± 1,92 a	96,15 ± 2,60 a	17,85 ± 1,55 b
31	38,57 ± 3,29	87,62 ± 4,48 a	97,14 ± 1,94 a	100,00 ± 0,00 a	29,28 ± 2,21 a
Soja Bt	30,47 ± 2,97	77,38 ± 6,30	70,26 ± 10,06	71,05 ± 10,16	16,85 ± 3,29
Soja não Bt	33,80 ± 2,80	66,10 ± 8,25	68,42 ± 10,92	66,66 ± 11,43	14,85 ± 2,52
CV ² (%)	26,14	36,42	7,92	16,02	17
GL ³ temp.	2	2	2	2	2
GL cultivar	1	1	1	1	1
GL temp. x cultivar	2	2	2	2	2
F ⁴ temp.	2,31	13,84	1156,37	293,11	294,74
F cultivar	0,7	1,96	3,43	0,03	0,51
F temp. x cultivar	0,01	1,08	1	1,65	2,19
P ⁵ -valor temp.	0,12	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
P-valor cultivar	0,41	0,17	0,07	0,85	0,48
P-valor temp. x cultivar	0,98	0,35	0,38	0,21	0,13

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). nsANOVA não significativa. ²CV = Coeficiente de Variação, ³GL = Grau de Liberdade, ⁴F = Estatística F obtido na ANOVA, ⁵P-valor = Valor da Probabilidade da estatística F

Para as temperaturas 25 e 31°C a taxa de sobrevivência a partir do terceiro ínstar manteve-se sempre acima de 80%. Entretanto, quando considerado o desenvolvimento ninfal no geral, verificou-se que a temperatura de 31°C apresentou uma taxa de sobrevivência superior em relação à 25°C, comprovando a adaptação do inseto a temperaturas mais elevadas.

Isso foi ratificado com o maior peso de adultos observado na temperatura de 31°C (Tabela 3). Entretanto, embora obtido esse peso não se observou diferença nos demais parâmetros adultos, como fecundidade de fêmeas e viabilidade de ovos e as maiores variabilidade (CV) foram encontrados nestas duas variáveis respostas (Tabela 3). De forma similar, também não se verificou alterações nos parâmetros biológicos dos adultos alimentados com soja MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não Bt, confirmando os resultados obtidos durante a fase jovem (Tabelas 1 e 2), quando em nenhum momento verificou-se diferença na longevidade e sobrevivência ninfal do percevejo.

Os resultados reportados na literatura com relação ao impacto direto de culturas *Bt* em organismos não alvo da tecnologia são diversos em função da espécie estudada, o que ressalta a importância desse trabalho desenvolvido para *D. melacanthus* em soja. Resultados semelhantes foram obtidos para outra espécie de percevejo praga, *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae), para a qual não foi verificada diferença na sobrevivência, fecundidade das fêmeas e outros parâmetros biológicos avaliados entre organismos desenvolvidos em algodão *Bt* e não *Bt* na China (Li et al., 2011). Portanto, esses autores concluíram que a ocorrência dessa praga (*A. lucorum*) em condições de campo não tem qualquer relação com o cultivo de plantas *Bt*, pois a abundância da praga foi a mesma em algodão *Bt* e não *Bt*. Resultados opostos foram obtidos para outra espécie de praga, o pulgão *Aphis gossipy* (Hemiptera: Aphididae), que mostrou um melhor desenvolvimento no que diz respeito à quantidade de indivíduos ápteros e alados, que foi maior em plantas não *Bt* comparado a plantas *Bt*. Uma das justificativas para essa diferença é que, provavelmente as plantas *Bt* possam secretar diferentes concentrações de aminoácidos e açúcares, alterando a sua atratividade para os insetos herbívoros.

Tabela 3. Influência da temperatura sobre a biologia adulta de *D. melacanthus* alimentado com soja MON 87701 x MON 89788 e sua isolinha não Bt. Londrina, 2013.

Temperatura (°C)	Parâmetros da fase adulta de <i>Dichelops melacanthus</i>		
	Peso do adulto (mg)	Fecundidade/fêmea ^a	Viabilidade de ovos (%)
19	-	-	-
25	42,09 ¹ ± 0,96 b	86,33 ^{ns} ± 8,60	60,18 ^{ns} ± 2,25
31	47,43 ± 2,76 a	104,63 ± 19,32	65,22 ± 6,80
Soja Bt	43,69 ± 1,59	89,95 ± 8,88	63,25 ± 4,61
Soja não Bt	45,83 ± 2,78	101,52 ± 19,53	62,14 ± 5,63
CV ² (%)	9,93	44,26	26,42
GL ³ temp.	1	1	1
GL cultivar	1	1	1
GL temp. x cultivar	1	1	1
F ⁴ temp.	5,77	0,71	0,37
F cultivar	0,93	0,3	0,02
F temp. x cultivar	1,83	1,55	0,47
P ⁵ -valor temp.	0,03	0,42	0,55
P-valor cultivar	0,35	0,59	0,89
P-valor temp. x cultivar	0,21	0,24	0,51

¹Médias ± EPM seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05). nsANOVA não significativa. ²CV = Coeficiente de Variação, ³GL = Grau de Liberdade, ⁴F = Estatística F obtido na ANOVA, ⁵P-valor= Valor da Probabilidade da estatística F

Conclusão

Por fim, esse estudo demonstra que *D. melacanthus* desenvolve-se melhor em temperaturas mais elevadas (25 a 31°C) e a sua importância poderá aumentar com o passar dos anos, caso as temperaturas prossigam aumentando. Entretanto, com a entrada da soja Bt, essa tecnologia não terá impacto direto sobre a biologia da praga, porém o que irá ocorrer no agroecossistema ainda é uma incógnita, visto que indiretamente espera-se uma redução no uso de inseticidas nas lavouras, que poderá potencializar a atuação não apenas de seus inimigos naturais como também da própria praga. Desse modo, estudos adicionais em condição de campo devem ser realizados para confirmar o efeito da soja Bt sobre o comportamento do percevejo barriga-verde.

Agradecimentos

Ao pesquisador Dr^o Adeney de Freitas Bueno pela oportunidade de estágio, a equipe do Laboratório de Parasitóides e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por concessão da bolsa.

Referências

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function.** 4 ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 770p.

CHOCOROSQUI, V. R ; PANIZZI, A.R. Influência da temperatura na biologia de ninfas de *Dichelops melacanthus* (Dallas, 1851) (Heteroptera: pentatomidae). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 2, p. 217-220, 2002.

FRIZZAS, M. R; OLIVEIRA,C.M,. Plantas transgênicas resistentes a insetos e organismos não-alvo: predadores, parasitóides e polinizadores. **Ciências da Saúde**, v. 4, n. 1 / 2, p. 63-82, 2006.

GOMEZ, S. A.; ÁVILA, C. J. Barriga Verde na Safrinha. **Revista Cultivar Grandes Culturas**, ed. 26, p. 28-29, 2001. Disponível em: <http://www.grupocultivar.com.br/site/content/artigos/artigos.php?id=536>. Acesso em: 20 de março de 2013.

HADDAD, M. L.; J. R. P. PARRA & R. C. B. MORAES. **Métodos para estimar os limites térmicos inferior e superior de desenvolvimento de insetos**. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1999. 29p.

LI, G., FENG, H. ; McNeil JN, LIU, B.; CHEN, P; QIU, F. Impacts of transgenic *Bt* cotton on a non-target pest, *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) (Hemiptera: Miridae), in northern China. **Crop Protection**. v, 30, n.12 p.1573-1578, 2011.

PANIZZI, A. R.; DUO, L. J. S.; BORTOLATO, N. M.; SIGUEIRA, F. Nymph developmental time and survivorship, adult longevity, reproduction and body weight of *Dichelops melacanthus* (Dallas) feeding on natural and artificial diets. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 51, n. 4, dez. 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0085-56262007000400013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 25 maio 2013.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. 6 ed. Cary, 2001. SAS Institute, 2001. 291p.

WU, K., MU, W., LIANG, G., GOU, Y. Regional reversion of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) is associated with the use of Bt cotton in northern China. *Pest Management Science*. v. 61, n.5. p. 491-498, 2005.



Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, Acesso Orlando Amaral

Caixa Postal 231 - CEP: 86001-970 – Londrina – PR

Telefone: (43) 3371 6000 – Fax: (43) 3371 6100

www.cnpso.embrapa.br

cnpso.sac@embrapa.br