

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**POTENCIAL DE ÁCAROS PREDADORES NO CONTROLE
BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA
*Heterodera glycines***

**Larissa Alves de Castro Jocalelli Rossini
Bióloga**

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**POTENCIAL DE ÁCAROS PREDADORES NO CONTROLE
BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA**
Heterodera glycines

Larissa Alves de Castro Jocalelli Rossini

Orientador: Prof. Dr. Raphael de Campos Castilho

Coorientador: Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Entomologia Agrícola).

FICHA CATALOGRÁFICA

R835p	Rossini, Larissa Alves de Castro Jocarelli Potencial de ácaros predadores no controle biológico do nematoide de cisto da soja <i>Heterodera glycines</i> / Larissa Alves de Castro Jocarelli Rossini. -- Jaboticabal, 2021 71 p. : il., tabs. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientador: Raphael de Campos Castilho Coorientador: Pedro Luiz Martins Soares 1. ácaros edáficos. 2. nematoide. 3. controle biológico. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: POTENCIAL DE ÁCAROS PREDADORES NO CONTROLE BIOLÓGICO DO NEMATOIDE-DE-CISTO-DA-SOJA *Heterodera glycines*

AUTORA: LARISSA ALVES DE CASTRO JOCARELLI ROSSINI

ORIENTADOR: RAPHAEL DE CAMPOS CASTILHO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (ENTOMOLOGIA AGRÍCOLA), pela Comissão Examinadora:

Raphael C. Castilho

Prof. Dr. RAPHAEL DE CAMPOS CASTILHO (Participação Virtual)
Departamento de Entomologia e Acarologia / ESALQ/USP - Piracicaba/SP

Raphael C. Castilho

Prof. Dr. MÁRIO MASSAYUKI INOMOTO (Participação Virtual)
Escola Superior de Agricultura-ESALQ/USP / Piracicaba/SP

Raphael C. Castilho

Prof. Dr. DANIEL JUNIOR DE ANDRADE (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 23 de agosto de 2021

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LARISSA ALVES DE CASTRO JOCARELLI ROSSINI – nascida em 01 de novembro de 1990, em Monte Azul Paulista, estado de São Paulo, Brasil. Bióloga pela Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP/FCAV) – campus de Jaboticabal, em fevereiro de 2013. Ainda em 2013 realizou estágio durante quatro meses na SGS – Gravena, no Laboratório de Monitoramento de Resistência de Insetos, onde posteriormente ocupou o cargo de Auxiliar de Pesquisa até outubro de 2014. Em dezembro de 2014 foi contratada pela mesma empresa para atuar como Assistente de Pesquisa na região de Primavera do Leste – MT e Lucas do Rio Verde – MT nas áreas de eficácia e OGM. Em agosto de 2015 foi coordenadora do Laboratório de Entomologia da Fundação Mato Grosso (FMT), na cidade de Rondonópolis – MT. Em 2017, ocupou o cargo de Analista de Pesquisa e posteriormente de Pesquisadora na área de Entomologia pela CropSolutions – Pesquisa, Assessoria e Consultoria Ltda. Em maio de 2019 realizou três meses de intercâmbio na Austrália para aperfeiçoamento da língua inglesa. Iniciou o curso de Mestrado em Agronomia (Entomologia Agrícola) na UNESP/FCAV – campus de Jaboticabal, em agosto de 2019, com bolsa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), sob orientação do Prof. Dr. Raphael de Campos Castilho e coorientação do Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares. Em junho de 2021 foi contratada pela Rotam do Brasil para ser Pesquisadora Entomologista.

“Quanto mais aprendo, mais tenho certeza de que, o que sei é apenas uma gota, diante do oceano do que ainda preciso aprender”

José Ap. Barcelos

AGRADEÇO A DEUS

Pelo dom da vida, trilhando e abençoando meus caminhos.

OFEREÇO

À minha família, em especial aos meus pais, **Osmar e Lúcia**, que me ensinaram e me educaram para ser quem eu sou, além da minha irmã, **Letícia**, por todo suporte emocional.

Ao meu esposo **Diego Rossini** e as minhas filhas **Laís** e **Luísa** por serem únicos e me ensinarem coisas maravilhosas sobre a vida, amor e companheirismo.

Ao Professor **Raphael de Campos Castilho** por todo ensinamento, suporte e orientação neste período importante de crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, (UNESP – FCAV) pelo conhecimento adquirido desde a Graduação até na conclusão do Mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por parte dos recursos utilizados no projeto. Esse projeto de Mestrado estava vinculado ao Projeto Temático “Ácaros edáficos: diversidade, relação com a microbiota e ecologia em áreas naturais e cultivadas no Brasil, com elaboração de bases de dados e chaves para identificação de grupos selecionados”, que faz parte do Programa BIOTA da FAPESP (Processo nº 2017/12004-1).

Ao Prof. Dr. Raphael de Campos Castilho, pela orientação, ensinamentos, e principalmente por sua acessibilidade e disposição a qualquer momento.

Ao Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares, pela coorientação, ensinamentos, discussões e ceder o laboratório e seu corpo técnico na colaboração deste trabalho; Aos funcionários do Nematologia da Unesp, em especial ao Rivanildo Junior por todo auxílio e amizade neste tempo de trabalho.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da UNESP – FCAV pelos conhecimentos transmitidos no decorrer do curso.

Aos Professores Dr. Odair Aparecido Fernandes e Dr. Daniel Junior de Andrade pela participação e colaboração no meu Exame Geral de Qualificação.

À amiga Thais Juliane do Prado pela amizade, ensinamento, troca de experiências e suporte em todas as etapas de execução do projeto, principalmente nas fases iniciais, onde não mediu esforços para me sentir parte da equipe e me instruindo.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Taxonomia e Controle Biológico: Ana Flávia Matias Gonçalves, Ávylla Régia de Albuquerque Barros, Daiana Jeronimo Polli, Emiliano Brandão de Azevedo, Flávia Fagundes de Paula, Letícia Caroline Penteado Innocente e Letícia Henrique Azevedo.

Aos amigos e colegas Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da UNESP – FCAV. Em especial a Sabrina Juvenal de Oliveira, por ter sido esta amiga ímpar compartilhando todos os momentos de tensões ao longo das disciplinas.

A todos os funcionários do setor de Fitossanidade da UNESP – FCAV, e demais estudantes do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola) da UNESP – FCAV, pela amizade e bom convívio.

Aos meus pais Osmar dos Reis Jocarrelli e Vera Lúcia Alves de Castro Jocarrelli por todo carinho, amor e educação.

A minha irmã Letícia Alves de Castro Jocarrelli por todo apoio desde o início da graduação até nos dias de hoje.

A minha família, Diego Rossini, Laís Jocarrelli Rossini e Luísa Jocarrelli Rossini, pela ajuda emocional e suporte ao longo desta trajetória.

A família do meu esposo Diego Rossini, em especial a minha sogra Adriana Chericatto, pela imensa ajuda nas fases de coleta do experimento e/ou cuidados com minha filha Laís, ao meu sogro Antônio Humberto Justino Rossini por todo apoio nesta trajetória e minha cunhada Rafaela Rossini pela ajuda nas papeladas do processo seletivo.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste sonho, que é “sonhado” desde 2013.

Obrigada!!!

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT.....	iv
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....	1
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Cultura da soja.....	4
2.2 Fitonematoides.....	4
2.3 Nematóide de cisto da soja, <i>Heterodera glycines</i>	5
2.4 Manejo do nematóide de cisto da soja.....	7
2.5 Ácaros edáficos como agentes de controle biológico de fitonematoides	9
REFERÊNCIAS.....	13
CAPÍTULO 2 – Potencial de predação de <i>Protogamasellopsis zaheri</i> (Acari: Rhodacaridae) sobre o nematóide de cisto da soja, <i>Heterodera glycines</i> (Nematoda: Heteroderidae)	22
RESUMO.....	22
ABSTRACT	23
1 INTRODUÇÃO	24
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
2.1 Colônias	26
2.2 Teste de predação	26
2.3 Tabela de vida.....	28
3 RESULTADOS	29
4 DISCUSSÃO	33
REFERÊNCIAS.....	35
CAPÍTULO 3 – Potencial de ácaros predadores no controle do nematóide de cisto da soja, <i>Heterodera glycines</i> (Nematoda: Heteroderidae), em plantas de soja em casa de vegetação.....	40
RESUMO.....	40
ABSTRACT	41
1 INTRODUÇÃO	42

2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
2.1 Colônias	44
2.2 Experimento em casa de vegetação	45
2.3 Descrição de metodologias avaliadas.....	48
2.3.1 Análises biométricas da soja	48
2.3.2 Análises nematológicas	49
2.3.3 Número de ácaros	50
2.3.4 Análise estatística	50
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
3.1 Fase experimental 1.....	51
3.2 Fase experimental 2.....	55
3.3 Fase experimental 3.....	59
REFERÊNCIAS.....	65
CAPÍTULO 4 – Considerações Finais.....	71

POTENCIAL DE ÁCAROS PREDADORES NO CONTROLE BIOLÓGICO DO NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA *Heterodera glycines*

RESUMO – A cultura da soja tem inúmeros problemas fitossanitários que limitam sua produtividade, dentre eles os causados por fitonematoídeos causam perdas significativas. O nematoídeo de cisto da soja é um fitonematoídeo que se multiplica principalmente na cultura da soja. De difícil controle por formar em uma das suas fases de ciclo biológico, o cisto, estrutura enrijecida que contém centenas de ovos e que pode permanecer viável no solo por longos anos. Para redução de danos na cultura tem-se diferentes estratégias de controle, sendo o controle biológico atrativo e efetivo. Desse modo, o presente estudo objetivou avaliar ácaros edáficos predadores para o controle de nematoídeo de cisto da soja (NCS) avaliando a predação e desenvolvimento biológico do ácaro *Protogamasellopsis zaheri* em condições laboratoriais e em condições de casa de vegetação avaliação de eficiência de controle de *P. zaheri* e *Stratiolaelaps scimitus*. Foi realizado teste de predação com diferentes estádios de desenvolvimento do NCS isolados, todos os estádios de desenvolvimento do NCS, todos os estádios e adição de nematoídeo de vida livre e os controles positivos *Tyrophagus putrescentiae* e nematoídeo de vida livre. Após a avaliação do teste de predação, avaliou-se o desenvolvimento biológico do ácaro *P. zaheri* em ovos e juvenis de segundo estágio de desenvolvimento NCS. Subsequente, experimento em condições de casa de vegetação foi realizado afim de avaliar a efetividade de controle de *P. zaheri*, *S. scimitus*, *P. zaheri* + nematoídeo de vida livre e fluopiram. No teste de predação observou-se que *P. zaheri* se alimenta de todas as fases de desenvolvimento de NCS, porém com maior alimentação e oviposição para ovos e juvenis de segundo estágio de desenvolvimento. Quando avaliado o ciclo biológico os parâmetros biológicos observam não houve diferença estatística em parâmetros biológicos para os dois tipos de alimentos, ainda com curva de sobrevivência semelhante de ovos e juvenis (J2) até 30 dias. Em eficiência a nível de casa de vegetação, observou que o *P. zaheri* + nematoídeo de vida livre teve maior eficiência de controle de NCS, principalmente quando analisamos o número de cisto no solo em diferentes momentos de coletas e produtividade, em comparação a testemunha. Desse modo, o predador *P. zaheri* apresenta grande potencial para ser empregado no manejo de NCS embora ainda necessite de mais pesquisas.

Palavras-chave: Mesostigmatas, ácaros edáficos, *P. zaheri*, *S. scimitus*, soja, manejo integrado

POTENTIAL OF PREDATORY MITE FOR THE BIOLOGICAL CONTROL OF THE SOYBEAN CYST NEMATODE *Heterodera glycines*

ABSTRACT – The soybean crop has numerous phytosanitary problems that limit its productivity, among them those caused by nematodes cause significant losses. The soybean cyst nematode is a nematode that mainly multiplies in the soybean crop. It is difficult to control as it forms, in one of its biological cycle phases, the cyst, a rigid structure that contains hundreds of eggs and that can remain viable in the soil for many years. To reduce crop damage, different control strategies are used, with biological control being attractive and effective. Thus, the present study aimed to evaluate predatory soil mites for the control of soybean cyst nematode (NCS) evaluating the predation and biological development of the mite *Protogamasellopsis zaheri* under laboratory conditions and in green-house conditions evaluation of control efficiency *P. zaheri* and *Stratiolaelaps scimitus*. Predation testing was performed with different stages of isolated NCS development, all stages of NCS development, all stages and addition of free-living nematode and positive controls *Tyrophagus putrescentiae* and free-living nematode. After evaluating the predation test, the biological development of the *P. zaheri* mite in eggs and juveniles of second stage of NCS development was evaluated. Subsequently, an experiment in semi-field conditions was carried out in order to evaluate the control efficiency of *P. zaheri*, *S. scimitus*, *P. zaheri* + free-living nematode and fluopiram. In the predation test it was observed that *P. zaheri* feeds on all stages of NCS development, but with greater feeding and oviposition for eggs and juveniles of the second stage of development. When the biological cycle was evaluated, the biological parameters observed no statistical difference in biological parameters for the two types of food, even with a similar survival curve for eggs and juveniles (J2) up to 30 days. In field level efficiency, it was observed that *P. zaheri* + free-living nematode had greater NCS control efficiency, especially when we analyzed the number of cysts in the soil at different times of collection and productivity, compared to the control. Thus, the predator *P. zaheri* has great potential to be used in the management of NCS, although it still needs more research.

Keywords: Mesostigmatas, edaphic mites, *P. zaheri*, *S. scimitus*, soybean, integrated management

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1 INTRODUÇÃO

A soja, *Glycine max* (L.), é umas das culturas de maior importância econômica no mundo, com uma produção de aproximadamente 337 milhões de toneladas em uma área cultivada de cerca de 123 milhões de hectares na safra 2020/2021 (USDA, 2020). Nessa safra, o Brasil foi o maior produtor mundial, seguido pelo EUA e Argentina, e a produção destes três países correspondeu a 80% de toda produção mundial (USDA, 2020). No Brasil, a produção foi de aproximadamente 124 milhões de toneladas em uma área cultivada de cerca de 37 milhões de hectares, o que representou um aumento de cerca de 6% em comparação à safra anterior (Conab, 2020).

Porém, inúmeros problemas fitossanitários podem causar perdas na produção de soja. Dentre os principais problemas, os fitonematoides são os “inimigos ocultos” dos agricultores, por ocorrerem no solo, podendo causar perdas de até 100% na produção (Dias et al., 2010). O nematoide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines* Ichinohe (Heteroderidae), é um dos mais agressivos e de difícil controle (Moens et al., 2018).

O NCS tem como principal hospedeiro a cultura da soja, embora possam provocar danos na cultura do feijão, ervilha, tremoço (Manso e Tenente, 1984; Andrade et al., 1997). Este nematoide penetra nas raízes de soja com auxílio de um estilete presente em seu aparelho bucal, e no interior das raízes se fixa às células vegetais, formando um sítio de alimentação e liberando enzimas e toxinas que degeneram as raízes, além de dificultar a absorção de nutrientes e água pelas plantas (Riggs, 1992).

A fase infectante do NCS é o juvenil de segundo estágio (J2), que após a ecdise de juvenil de primeiro estágio (J1) ocorrente no interior do cisto, é liberado no solo e sob gradientes químicos é atraído através de exsudatos liberados pelas raízes de soja para o interior das raízes (Barker et al., 1985; Perry, 2002; Niblack, 2005). Os danos causados pelo NCS são diretos e indiretos, sendo os diretos aqueles provocados às raízes, e os indiretos ocasionados pela perda da produtividade (Trudgil e Blok, 2001) além de ser porta de entrada para outros patógenos (Hartan et al., 2015).

A grande dificuldade de controle do NCS é devido a formação de um cisto, característico do gênero *Heterodera*, que se caracteriza por ser uma estrutura rígida que engloba os ovos, podendo permanecer viável no solo por longos períodos, mesmo sobre condições adversas de umidade e temperatura (Moore et al., 1984; Embrapa, 1997). No cisto inicia o processo de embriogênese dos ovos e o desenvolvimento biológico do NCS ocorre sob condições ambientais favoráveis como temperatura, umidade, oxigênio e pela liberação de exsudatos liberados pelas plantas hospedeiras (Perry, 2002).

Para a redução populacional deste fitonematoide, inúmeras estratégias podem ser empregadas para o seu manejo, pois uma vez instalados na área se torna praticamente impossível sua erradicação (Oliveira et al., 2009). Dentre as estratégias de controle empregadas estão a rotação de cultura, cultivares resistentes e controles químicos e biológicos. Entre os agentes de controle biológico temos os microrganismos e os macrorganismos, sendo o primeiro grupo mais estudado e com produtos registrados e disponíveis para o manejo de fitonematoides (Agrofit, 2021), destacando-se espécies de fungos e bactérias (Jatala, 1986; Nordbring-Hertz et al., 2002). O segundo grupo está em fase de estudos e conhecimentos com a utilização dos ácaros predadores (Walter, 1988; Castilho et al., 2009a; Castilho et al., 2015; Stirling et al., 2017; Prado, 2018; Azevedo et al., 2019; Yang et al., 2020; Azevedo et al., 2020).

No Brasil, o ácaro predador *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Mesostigmata: Laelapidae) é registrado para o controle de larvas de “fungus gnat”, *Bradysia matogrossensis* (Diptera: Sciaridae), e para tripes (Insecta: Thysanoptera) (Castilho et al., 2019). Esse agente de controle possui boa capacidade de predação para diversas espécies de invertebrados (Freire et al., 2007; Cabrera et al., 2005; Castilho et al., 2009b; Barbosa e Moraes, 2016; Rondeau et al., 2018; Yang et al., 2020; Azevedo et al., 2020). Por apresentar um bom desenvolvimento biológico e reprodutivo quando alimentado com nematoides de vida livre e fitonematoides, têm sido realizados diferentes estudos para verificar o potencial de controle de fitonematoides empregando o *S. scimitus* como agente de controle (Yang et al., 2020; Azevedo et al., 2020).

Além de *S. scimitus*, recentemente o ácaro predador *Protogamasellopsis zaheri* Abo-Shnaf, Castilho & Moraes (Mesostigmata; Rhodacaridae) foi registrado em solos brasileiros, com estudos de predação com diferentes espécies de invertebrados, com destaque principalmente tendo como presa o nematoide de vida livre *Rhabditella axei* (Cobbold) (Rhabditidae) (Castilho et al., 2009a). A partir desta pesquisa, estudos para o controle de fitonematoides empregando *P. zaheri* vêm sendo realizados. Primeiro foi realizado um teste em casa de vegetação verificando o potencial deste ácaro predador no controle de *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) (Pratylenchidae) em plantas de soja, com diminuição de até 65% deste fitonematoide (Castilho, R.C., dados não publicados). Conseqüentemente, foram realizados testes laboratoriais para o controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) (Meloidogynidae), apresentando bons resultados de predação, desenvolvimento biológico e eficiência acima de 60% em teste “in vitro” (Prado, 2018). Porém para o NCS não foi realizado nenhum estudo deste tipo.

Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar em laboratório a capacidade de predação do *P. zaheri* alimentado com diferentes estádios de desenvolvimento do NCS, seguido de estudos de biologia, além de avaliar em estudos de casa de vegetação a eficiência de controle de NCS utilizando *P. zaheri* e *S. scimitus* em plantas de soja.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cultura da soja

Mundialmente, a soja é considerada um dos cereais mais importantes, devido ao seu alto valor proteico e composição (LiJuan et al., 2010; Singh e Shivakumar, 2010), podendo ser destinada ao consumo humano, animal, além de ser a matéria prima base de diferentes produtos, incluindo cosméticos. Deste modo, tornou-se uma das principais *Commodities* do mundo.

As questões fitossanitárias são uma das principais causas da redução de produtividade na cultura da soja. Dentre os problemas, os fitonematoides são um dos principais causadores de danos na cultura. Estima-se que no Brasil as perdas devido aos fitonematoides são de R\$ 35 bilhões ao ano (SBN, 2018) e mundialmente de US\$ 157 bilhões ao ano (Hassan et al., 2013), em que o NCS da soja se destaca com um dos mais graves nas áreas de soja (SBN, 2018).

2.2 Fitonematoides

Os nematoides são organismos aquáticos, encontrados em praticamente todos os ambientes do planeta, desde que haja umidade para o desenvolvimento e sobrevivência (Ferraz e Brown, 2016). A maioria das espécies de nematoides são de vida livre, alimentando-se de bactérias, fungos, algas, protozoários e outros nematoides. Outro grupo importante são os nematoides parasitas, podendo parasitar animais, invertebrados ou vertebrados, e plantas, no sistema radicular ou parte aérea, sendo conhecidos como fitonematoides (Tihohod, 2000).

Os fitonematoides representam 20% das espécies descritas do filo Nematoda, presentes em nas classes do filo, Enoplea e Chromadorea, sendo a segunda classe na subordem Tylenchina, a que englobe as espécies de maior importância agrícola. Os fitonematoides alimentam-se em sua maioria do sistema radicular, apesar de terem espécies que se alimentam da parte aérea. Possui importância agrícola pois são hospedeiros de inúmeros culturas de importância econômica (Ferraz e Brown, 2016).

Esses organismos são vermes cilíndricos com ausência de segmentação no corpo (Perry, 1996), no geral, com formato filiforme e microscópicos. Em alguns gêneros pode-se observar o dimorfismo sexual, como em *Meloidogyne* e *Heterodera*, onde os machos são filiformes e as fêmeas de formato tipo pera e limão, respectivamente. Outras estruturas morfológicas como espículas, cloaca, vulva e ânus são estruturas importantes para a diferenciação sexual (Ferraz e Brown, 2016).

A primeira identificação de um fitonematoide ocorreu em 1873 por T. Needham em Londres, quando o mesmo buscava por uma doença no trigo. Desde então, observações, não apenas do ponto de vista fitopatológica, mas também nematológica, são realizadas nos cultivos. Ao longo desta trajetória, espécies foram descritas e identificadas como causadoras de perdas de produtividade. E no ano de 1881 utilizou-se pela primeira vez o controle químico para reduzir populações de *Heterodera schachtii* (A. Schmidt) (Heteroderidae) em beterraba açucareira. No Brasil, apenas no ano de 1887 foi identificado espécies de *Meloidogyne* e suas relações com o declínio de produtividade dos cafezais (Moura e Maranhão, 2004).

Os danos causados pelos fitonematoídeos são diretos e indiretos, e uma vez instalados na cultura, se adentra no sistema radicular com o estilete, estrutura presente no aparelho bucal, liberando toxinas e enzimas, e formando um sitio de alimentação nas células vegetais para se alimentar por períodos prolongados do conteúdo celular, causando assim, os danos diretos que seriam necrose do sistema radicular (Trudgil e Blok, 2001). Os danos indiretos são a infecção por outros patógenos como bactérias e fungos, principalmente no sistema radicular o que é facilitado a partir da infestação por fitonematoide (Powell, 1971).

2.3 Nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines*

O nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) foi descrito no ano de 1952 por Ichinohe, quando estava fazendo comparações de espécies dentro de gênero *Heterodera* (Moens et al., 2018)

No Brasil, foi identificado na safra de 1991/1992 na cultura da soja nos estados de Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. A detecção foi através de sintomas em reboleiras de plantas de soja com sintomas de nanismo, amareladas

e com subdesenvolvimento. Após o relato, o aumento deste fitonematoide foi progressivo ao longo das safras, causando perdas de até 200 milhões de dólares (Yorinori, 2000) Estima-se que a cada ano os fitonematoides causam perdas de aproximadamente US\$ 120 bilhões (Raina et al., 2019).

A soja é a principal cultura hospedeira do NCS, entretanto, outras espécies de plantas como o tremoço, ervilha, feijão, fava e caupi podem multiplicar este fitonematoide (Manso e Tenente, 1984; Andrade et al., 1997).

O gênero *Heterodera* caracteriza-se pela formação de cistos. O cisto é formado após a morte da fêmea, e em seu interior contém centenas de ovos envoltos por uma estrutura enrijecida e livre no solo. A estrutura enrijecida do cisto permite a ele resistência a baixa umidade, altas temperaturas e por sua leveza pode ser facilmente transportado pelo vento, maquinários, sementes, homens, animais e outros (Riggs, 1977; Manso e Tenente, 1984; Riggs, 1992). Ainda, a estrutura do cisto pode permanecer no solo por longos anos (Andrade et al., 1997) em estado de dormência, até que condições ideais e planta hospedeira seja instalada (Niblack et al., 2006).

Em condições ideais, estímulos externos, exsudato das plantas, e estímulos internos (Niblack, 2005; Niblack et al., 2006) dão início ao processo de embriogênese, originando inicialmente o juvenil de primeiro estágio (J1), que permanece no interior do cisto, e subsequentemente o juvenil de segundo estágio (J2), livre no solo, sendo a fase infectante do nematoide. O J2 localiza o hospedeiro através de gradientes químicos liberados pelo mesmo, e ao adentrar a raiz com auxílio do estilete realiza caminamento intracelular até encontra uma célula adequada para formar um local de alimentação chamado de sincício, se o J2 for capaz de induzir e manter o sincício ativo, os juvenis se desenvolverão até a fase adulta (Barker et al., 1985; Niblack, 2005; Chen et al., 2011).

No interior da planta ocorre o desenvolvimento de três estádios do NCS, onde no final da última ecdise o sexo é determinado (Riggs, 1992). O macho possui forma vermiforme e saem das raízes a procura de fêmeas para acasalar, enquanto as fêmeas possuem um formato arredondado, similar a um limão “siciliano”, e continua se desenvolvendo até perfurar o sistema radicular das raízes, e ficar com parte do corpo internamente à planta, e outra parte fora da planta (Riggs, 1992). Quando o macho encontra a fêmea ocorre o acasalamento, e após, as fêmeas dão origem a até

600 ovos; um terço dos ovos ficam no interior do corpo da fêmea, e o restante são depositados em uma matriz gelatinosa transparente fora do corpo (Niblack, 2005). Após este processo, a fêmea morre e a matriz gelatinosa muda de cor de amarelo a marrom escuro, sendo tal estrutura denominada de cisto.

Para o desenvolvimento biológico e reprodutivo do NCS a temperatura é o fator abiótico mais importante, sendo 23- 25°C a temperatura ideal no solo, tendo um ciclo médio de 21 dias (Wrather et al., 1984). Deste modo, em diferentes faixas de temperatura, seu ciclo de vida é estendido ou encurtado permitindo uma variação de número de gerações a campo em função do ambiente externo (Wrather et al., 1984). No geral, observa-se de quatro a cinco gerações na cultura da soja (Young, 1992).

Entretanto, em temperaturas acima de 40°C, mesmo que ocorra a emergência dos juvenis, ocorre sua morte rapidamente. Para o desenvolvimento dos juvenis no interior das raízes, temperaturas abaixo de 10°C e acima de 35°C prejudicam o desenvolvimento (Ross, 1964). A umidade de solo é o segundo fator abiótico relevante ao desenvolvimento biológico e reprodutivo do NCS, sendo que a mesma deve estar levemente abaixo da capacidade de campo (Young, 1992).

Os sintomas da presença do NCS são observados em altas infestações, em reboleiras, apresentando plantas amareladas e com pequeno porte, levando até a morte total destas. Em baixas infestações, a percepção muitas vezes é apenas em produtividade, que pode variar com perdas de 25-30% (Wrather e Mitchum, 2010). Recomenda-se, que análises sejam realizadas para a verificação de fitonematoide na área em caso dos sintomas citados acima.

2.4 Manejo do nematoide de cisto da soja

O manejo de fitonematoides é complexo e deve ser estratégico. Sabe-se que, uma vez identificado em áreas cultivadas, será necessário o convívio com estes parasitos, pois a erradicação é praticamente impossível. Dentre os fitonematoides que atacam a cultura da soja, o NCS é um dos mais agressivos e de difícil controle, pela estrutura do cisto, estrutura esta que permanece viável no solo por longos período até encontrar condições ideais (Wrather e Mitchum, 2010). Deste modo, diferentes

estratégias e manejos são empregados para a redução populacional a níveis toleráveis, empregando o Manejo Integrado de fitonematoides (Oliveira et al., 2009).

Dentre as estratégias empregadas estão a utilização de cultivares resistentes, rotação de cultura, produtos químicos e biológicos. O emprego de cultivares resistentes é a prática mais eficaz para redução populacional (Chen et al., 2001a), entretanto, pela alta variabilidade genética do NCS, possuindo diferentes raças (Ross, 1962; Riggs et al., 1981), torna-se difícil para o melhoramento lançar variedades resistentes a todas raças e com alta capacidade produtiva.

A rotação de cultura é uma estratégia de controle importante, visto que, rotacionando com culturas onde o fator de reprodução deste fitonematoide é nulo, reduz suas densidades populacionais (Niblack, 2005). Estudo rotacionando diferentes cultivos em casa de vegetação demonstraram que a rotação com plantas monocotiledôneas, ao invés de dicotiledôneas, tem uma maior eficiência na redução populacional (Warnke et al., 2006). No Brasil, comumente é cultivado soja (dicotiledônea) como primeiro cultivo, seguido de milho “safrinha” (monocotiledônea), porém mesmo assim ainda é observado altas populações do fitonematoide. Acredita-se que, pela estrutura altamente resistente do cisto em poder permanecer viável no solo por muitos anos, dificulta a redução populacional. Noel (1985) acredita que em áreas altamente infestadas, o cultivo de soja deveria ser rotacionado a cada cinco anos para se ter produtividade rentável, porém a maioria dos produtores não concordar visto a atratividade desta *commoditie* (Niblack, 2005).

Dentre as estratégias de controle, o químico é o mais empregado e os resultados para o controle populacional são efetivos (Faske e Hurd, 2015; Marini et al. 2019). Entretanto, muitos nematicidas além de controlar populações de fitonematoides, podem reduzir organismos importantes para a microbiota do solo e agroecossistemas, como inimigos naturais, além de serem tóxicos para o meio ambiente, deixando resíduos no solo e água, causando efeitos adversos ao homem e aos animais (Abawi e Widmer, 2000). Dentre os produtos químicos empregados para o controle de fitonematoides, existem dois ingredientes ativos químicos registrados para o controle de NCS, sendo eles a abamectina e fluensulfona (Agrofit, 2020). Apesar de fornecerem uma eficiência de controle e bom período residual, não protegem durante toda a permanência da cultura a campo (Hooks et al., 2011).

Atualmente, o fluopiram (ILeVO®, Bayer CropScience), nematicida registrado para tratamento de sementes tendo como alvo *P. brachyurus* (Agrofit, 2020), está em fase de este registro temporário especial (RET) para *H. glycines*. Estudos em casa de vegetação demonstraram que o emprego deste nematicida ocasionou reduções populacionais deste fitonematoide (Broderick et al., 2015). No entanto, a busca por novas estratégias de controle é contínua, incluindo moléculas químicas para o NCS, devido sua agressividade e variabilidade genética a campo, tornando-o difícil no controle populacional, além das questões de resistência a moléculas a esta espécie de fitonematoide.

Deste modo, a busca por estratégias de controle com maior eficiência e sustentabilidade no meio, dá espaço ao controle biológico. Entre os agentes de controle biológico podemos citar os microrganismos (bactérias e fungos) e macrorganismos (ácaros predadores). Dos microrganismos, os gêneros de *Bacillus* e *Pasteuria* são os mais estudados (Meyer, 2003; Chen, 2004; Chen e Lui, 2005; Xiang et al., 2017), ainda que a busca por outras espécies de fungos e bactérias presentes no ecossistema têm sido investigadas, com realizações de testes de eficiência (Chen e Lui; 2005; Xiang et al., 2017). Recentemente, os ácaros predadores edáficos têm sido estudados para o controle de fitonematoides, e por serem predadores generalistas, acredita-se no seu potencial para o controle biológico destes parasitas (Oliveira et al., 2007; Karagoz et al. 2007; Chen et al., 2013; Stirling et al., 2017; Prado, 2018; Yang et al., 2020, Azevedo et al., 2020).

2.5 Ácaros edáficos como agentes de controle biológico de fitonematoides

Os ácaros da ordem Mesostigmata geralmente estão entre os mais abundantes no solo, contendo famílias de ácaros predadores de grande importância, principalmente à agricultura (Gerson et al., 2003; Krantz e Walter, 2009). Os ácaros edáficos predadores vivem próximos a camada de vegetação, e sua abundância e diversidade estão intrinsecamente associados ao tipo de vegetação, solos cultiváveis ou ambientes naturais, e manejos envolvidos, pois fatores abióticos como compactação, umidade, temperatura, disponibilidade de matéria orgânica, dentre

outros, são fatores cruciais para a diversidade, abundância e sucesso nas interações ecológicas (Koehler e Born, 1989; Koehler, 1999).

Em relação aos Mesostigmata edáficos, espécies das famílias Laelapidae (Rehiyani e Fouly, 2005; Castilho et al., 2009b; Moreira e Moraes, 2015; Moraes et al., 2015; Yang, et al., 2020; Azevedo et al., 2020) e Macrochelidae (Azevedo et al., 2015; Azevedo et al., 2019) estão entre as mais estudadas e englobam ácaros predadores com grande potencial de predação. No mundo, o emprego de ácaros edáficos para controle biológico é uma realidade, com cinco espécies sendo comercializadas para o controle de diferentes pragas; dentre essas cinco espécies, apenas uma dessa é comercializada no Brasil (Van Lenteren, 2012; Van Lenteren et al., 2018; Castilho et al., 2019).

No Brasil, a espécie comercializada é o *S. scimitus*, sendo registrada para o controle de larvas de moscas Sciaridae e para tripes. Existem muitos estudos com esse ácaro predador testando seu potencial de controle sobre larvas de moscas Sciaridae (Castilho et al., 2009b), tripes (Berndt et al., 2004), ácaros (Moraes e Barbosa, 2016; Rondeau et al., 2018), e também nematoides (Freire et al., 2007; Yang et al., 2020; Azevedo et al., 2020).

No solo, os fitonematoides são um dos principais problemas em diversos cultivos (Weischer e Brown, 2000) e têm despertado interesse para o uso do controle biológico utilizando ácaros predadores (Castilho et al., 2015). Um dos primeiros estudos relatou espécies de ácaros predadores predando fêmeas de *Heterodera* sp. e galhas de *Meloidogyne* sp. (Inserra e Davis, 1983). Outros estudos com nematoides e relações alimentares entre os ácaros edáficos já foram realizadas (Ito, 1971; Rehiyani e Fouly, 2005; Oliveira et al., 2007; Castilho et al., 2009a; Xu et al., 2012; Xu et al., 2014; Stirling et al., 2017; Prado, 2018; Azevedo et al., 2019; Azevedo et al., 2020).

Em estudos avaliando o desenvolvimento biológico de *Cosmolaelaps simplex* Berlese (Mesostigmata: Laelapidae) alimentado com duas espécies de fitonematoides, *Meloidogyne javanica* (Treub) (Meloidogynidae) e *Tylenchulus semipenetrans* (Cobb) (Tylenchidae), observou-se que os parâmetros biológicos não foram influenciados quando comparados com a alimentação da criação massal (Rehiyani e Fouly, 2005). Posteriormente, em casa de vegetação avaliou a eficiência

deste ácaro no controle populacional de *T. semipenetrans* na cultura do citrus, observando redução de aproximadamente 59%, em comparação ao controle (Rehiyani e Fouly, 2005).

Em condições laboratoriais, avaliou-se a taxa de predação do ácaro *Pergalumna* sp. (Oribatida: Galumnidae) a duas espécies de fitonematoides e estimou-se que por dia este ácaro alimenta-se de 18 juvenis de *M. javanica* e 42 indivíduos (adultos e juvenil) de *Pratylenchus coffeae* Goodey (Pratylenchidae) (Oliveira et al., 2007). Já para o ácaro *Protogamasellus mica* (Athias-Henriot) (Mesostigmata: Ascidae) a capacidade diária alimentar foi de 50 indivíduos de *Pratylenchus zae* Graham (Pratylenchidae) e 40 indivíduos de *M. javanica* (Stirling et al., 2017).

Chen et al. (2014) avaliaram a capacidade de predação do ácaro *Blattisocius dolichus* Ma (Mesostigmata: Blattisociidae) sobre o fitonematoide *Radopholus similis* (Cobb) (Pratylenchidae) em laboratório e a nível de casa de vegetação. Dentre todo o desenvolvimento do *B. dolichus* ocorreu a predação ao fitonematoide, com aumento de capacidade predatória conforme aumento de presas até uma capacidade ótima, de um predador para duzentos e cinquenta presas. Outro fator interessante na pesquisa, foi que em teste de chance de escolha observou-se a preferência alimentar quando o fitonematoide foi associado a uma espécie de nematoide de vida livre. Para o estudo de eficiência em casa de vegetação com mudas de Antúrio (*Anthurium andraeanum*) observou a diminuição de 68% da população de *R. similis* após dez dias de infestação com a liberação do ácaro predador.

Xu et al. (2014) verificaram em laboratório para *B. dolichus* uma taxa de predação para fêmeas e machos de 35 e 30 juvenis (J2) de *M. incognita* respectivamente. Em casa de vegetação, na cultura de espinafre, avaliou-se a eficiência de *B. dolichus* a *M. incognita* sobre diferentes densidades populacionais de ácaros predadores concluindo que a liberação de 500 ácaros por vaso diminuiu significativamente a população de *M. incognita*, com redução de 37% de galhas nas raízes e 55% na massa de ovos (Xu et al., 2014).

O ácaro *S. scimitus* quando alimentando com *M. incognita* teve desenvolvimento biológico similar em comparação ao ácaro *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Astigmatina: Acaridae), que foi a presa utilizada em sua

criação massal, além de proporcionar reduções de 62% de massa de ovos de *M. incognita* em espinafre (Yang et al., 2020). Na cultura do tomate, *S. scimitus* apresentou boa eficiência de controle sobre *M. incognita* quando avaliados em casa de vegetação (Azevedo et al., 2020).

O ácaro *P. zaheri* quando alimentado com nematoide de vida livre apresentou desenvolvimento biológico, reprodutivo e oviposição adequado, em comparação ao *T. putrescentiae* (Castilho et al., 2009a). *Protogamasellopsis zaheri* foi submetido a estudos com o fitonematoide *P. bracyurus* na cultura da soja em casa de vegetação, onde em comparação ao controle apresentou uma eficiência próxima de 65% (Castilho, R. C., dados não publicados). Em laboratório, foi realizado teste de predação com o ácaro *P. zaheri* alimentado com juvenil de *M. incognita* e observou-se a presença de predação, com oviposição de *P. zaheri* de 2,3 ovos por dia, seguido de teste de eficiência in vitro, o qual observou a eficiência de controle de 68% de *M. incognita* (Prado, 2018).

REFERÊNCIAS

Abawi G, Widmer T (2000) Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. **Applied Soil Ecology** 15:37-47.

Abo-Shnaf RIA, Castilho RC, Moraes GJ (2013) Two new species of Rhodacaridae (Acari: Mesostigmata) from Egypt and a key to the species of the family from the Mediterranean region. **Zootaxa** 3718:28-38.

Andrad PJM, Asmus GL, Cavalcanti AG (1997) Avaliação de danos causados à soja por diferentes níveis populacionais de *Heterodera glycines* no solo II. **Fitopatologia Brasileira** 22:323-323.

Azevedo LH, Emberson RM, Esteca FCN, Moraes GJ (2015) Macrochelid mites (Mesostigmata: Macrochelidae) as biological control agents. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE. (Eds.) **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Florida: Springer, p. 103-132.

Azevedo LH, Leite LG, Chacon-Orozco JG, Moreira MFP, Ferreira MP, Gonzalez-Cano LM, Borges V, Rueda-Ramirez D, Moraes GJ, Palevsky E (2019) Free living nematodes as alternative prey for soil predatory mites: an interdisciplinary case study of conservation biological control. **Biological Control** 132:128-134.

Azevedo LH, Moreira MFP et al (2020) Combined releases of soil predatory mites and provisioning of free-living nematodes for the biological control of root-knot nematodes on 'Micro Tom tomato'. **Biological Control** 146:1-10.

Barbosa MFC, Moraes GJ (2016) Potential of astigmatid mites (Acari: Astigmatina) as prey for rearing edaphic predatory mites of the families Laelapidae and Rhodacaridae (Acari: Mesostigmata). **Experimental & Applied Acarology** 69: 289–296.

Barker KR, Schmitt DP, Imbriani JL (1985) Nematode population dynamics with emphasis on determining damage potential to crops. In.: Barker KR, Carter CC, Sasser JN. (Eds.) **An advanced treatise on Meloidogyne**. vol 2. Raleigh North Carolina: Cooperative Publication of the Department of Plant Pathology, North Carolina State University, and the United States Agency for International Development, p. 135–148.

Becker WF (1997) **O nematoide de cisto *Heterodera glycines* Ichinohe em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.):** Aspectos do parasitismo, reação de cultivares, herança da resistência e interação com outros microrganismos. 203 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – UFV, Viçosa, MG.

Berndt O, Meyhöfer R, Poehling HM (2004) A fase edáfica na ontogênese de *Frankliniella occidentalis* e comparação de milhas *Hypoaspis* e *Hypoaspis aculeifer* como predadores de estádios de tripes residentes no solo. **Biological Control** 30:17-24.

Broderick KC, Arneson NJ, Giesler LJ (2015) Effects of fluopiram on *Heterodera glycines* under greenhouse conditions (Abstract). **Phytopathology** 106:S1.2.

Camara GMS (2012) **Introdução ao agronegócio soja.** São Paulo: USP/ESALQ - Departamento de Produção Vegetal.

Cabrera AR, Cloyd RA, Zaborski ER (2005) Development and reproduction of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) with fungus gnat larvae (Diptera: Sciaridae), potworms (Oligochaeta: Enchytraeidae) or *Sancassania* aff. *sphaerogaster* (Acari: Acaridae) as the sole food source. **Experimental & Applied Acarology** 36:71–81.

Castilho RC, Moraes GJ, Silva ES, Silva LO (2009a) Predation potential and biology of *Protogamasellopsis posnaniensis* Wisniewski & Hirschmann (Acari: Rhodacaridae). **Biological Control** 48:164-167.

Castilho RC, Moraes GJ, Silva ES, Freire RAP, Eira FC (2009b) The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* as a control agent of the fungus gnat *Bradysia matogrossensis* in commercial production of the mushroom *Agaricus bisporus*. **Int J Pest Manage** 55:181–185.

Castilho RC, Moraes GJ (2014) Controle biológico de pragas com ácaros predadores: uma realidade no Brasil. In.: Busoli AC, Souza LA, Alencar JRCC, Fraga DF, Grigolli JFJ (Eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola – VII.** Jaboticabal: Multipress, p. 69–77.

Castilho RC, Venancio R, Narita JPZ (2015) Mesostigmata as biological control agents, with emphasis on Rhodacaroidea and Parasitoidea. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds.) **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms.** Florida: Springer, p. 1-31.

Castilho RC, Azevedo EB, Paula FF, Prado TJ, Barros ARA, Azevedo LH (2019) Ácaros predadores: uso no controle biológico de pragas e parasitos. In: Castilho RC, Rezende GF, Nascimento J, Rossi GD (Eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola XII**. Jaboticabal, Multipress, pp. 117–133.

Cattelan AJ, Dall’agnol A (2018) The rapid soybean growth in Brazil. **OCL** 25:1-12.

Chen SY, Porter PM, Orf JH, Reese CD, Stienstra WC, Young ND, Walgenbach DD, Schaus PJ, Arlt TJ, Breitenbach FR (2001) Soybean cyst nematode population development and associated soybean yields of resistant and susceptible cultivars in Minnesota. **Plant Disease** 85:760-766.

Chen SY (2004) Management with biological methods. In.: Schmitt DP, Wrather JA, Riggs RD (Eds.) **Biology and management of soybean cyst nematode**. 2. ed. Marceline, Missouri, USA: Schmitt & Associates of Marceline, p. 207-242.

Chen SY, Liu XZ (2005) Control of the soybean cyst nematode by the fungi *Hirsutella rhossiliensis* and *Hirsutella minnesotensis* in greenhouse studies. **Biological Control**. 32:208-219.

Chen S, Kurle J, Malvick D, Potter B, Orf J (2011) **Soybean cyst nematode management guide**. University of Minnesota Extension. Disponível em: <http://www.extension.umn.edu/agriculture/soybean/soybeancyst-nematode/EFANS-Soybean-SoybeanCystNematode-WebQuality.pdf> Acesso em: 25 out. 2020.

Chen YL, Xu CL, Xu XN, Xie H, Zhang BX, Qin HG, Zhou WQ, Li DS (2013) Evaluation of predation abilities of *Blattisocius dolichus* (Acari: Blattisociidae) on a plant-parasitic nematode, *Radopholus similis* (Tylenchida: Pratylenchidae). **Exp Appl Acarol** 60:289–298.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) (2020) **Boletim da safra de grãos**. 10º Levantamento - Safra 2020/21. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos> Acesso em: 20 out. 2020.

Costa JA (1996) **Cultura da Soja**. Porto Alegre. Evangraf, 233p.

Dias WP, Garcia A, Silva JFV, Carneiro GES (2010) **Nematoides em soja: identificação e controle**. Londrina: Embrapa, 8 p.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) (1997) **Nematoide de cisto da soja**. Londrina: Embrapa – Soja, 7p.

Faske TR, Hurd K (2015) Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to fluopiram. **Journal of Nematology** 47:316–21.

Ferraz LCCB, Brown DJF (2016) **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Editora, 251 p.

Freire RAP, Moraes GJ, Silva ES, Vaz AC, Castilho RC (2007) Biological control of *Bradysia matogrossensis* (Diptera: Sciaridae) in mushroom cultivation with predatory mites. **Experimental and Applied Acarology** 42: 87-93.

Gerson U, Smiley RL, Ochoa R (2003) **Mites (Acari) for pest control**. Oxford: Blackwell Science, p. 539.

Hartman, GL, Leandro, LF, Rupe, JC (2015) Sudden death syndrome. In: Hartman, GL, Leandro, LF, Rupe, JC, Pests. **The American Phytopathological Society**, St Paul, Minnesota, pp. 88-90.

Hassan MA, Pham TH, Shi H, Zheng J (2013) Nematodes threats to global food security. Acta Agriculture Scandinavica, Section B. **Soil & Plant Science** 65:420-425.

Hooks CR, Wang KH, Meyer SL, Lekveishvili M, Hinds J, Rosario-Lebron A, Lee-Bullock M (2011) Impact of no-till cover cropping of italian ryegrass on above and below ground faunal communities inhabiting a soybean field with emphasis on soybean cyst nematodes. **Journal of Nematology** 43:172-181.

Inserra RN, Davis DW (1983) *Hypoaspis* nr. *aculeifer*: a mite predacious on root-knot and cyst nematodes. **Journal of Nematology** 15:324–325.

Ito Y (1971) Predation by Manure-Inhabiting Mesostigmatids (Acarina: Mesostigmata) on Some Free-Living Nematodes. **Appl. Ent. Zool.** 6:51-56.

Jatala P (1986) Biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology** 24:453-489.

Karagoz M, Gulcu B, Cakmak I, Kaya HK, Hazir S (2007) Predation of entomopathogenic nematodes by *Sancassania* sp. (Acari: Acaridae). **Experimental and Applied Acarology** 43:85-95.

Koehler H, Born H (1989) The influence of vegetation structure on the development of soil mesofauna. **Agric. Ecosyst. Environ** 27: 253-269.

Koehler HH (1999) Predatory mites (Gamasina, Mesostigmata). **Agriculture, Ecosystems & Environment** 74:395-410.

Krantz GW (1978) **A manual of acarology**. 2. ed. Corvallis: Oregon State University Bookstores, 509 p.

Krantz GW, Walter DE (2009) **A Manual of Acarology**. 3. ed. Lubbock, Texas: Texas Tech University Press, p. 124–232.

Lijuan Q, Ruzhen C, Singh G (2010) **The Soybean**: Botany, production and uses. India: Guriqbal Singh, p. 1-23.

Manso ESBGC, Tenente RCV (1984) **Nematoide (*Heterodera glycines* Ichinohe) Formador de Cisto em Soja**. Brasília: Embrapa, p. 5.

Marini PM, Souza S, Sulzbach F, Carregal LH (2019) Eficácia de Fluopiram 500 SC no controle de *Pratylenchus brachyurus* na cultura da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA. **Anais...** Caldas Novas, 2019.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (2020) **Agrofit**: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons Acesso em: 10 nov. 2020.

Meyer SL (2003) United states department of Agriculture–Agricultural research service research programs on microbes for management of plant-parasitic nematodes. **Pest Management Science** 59:665-670.

Moore WF, Bost SC et al (1984) **Soybean cyst nematode**. Washington: Soybean Industry Resource Committee, 23p.

Moraes GJ, Flechtmann CHW (2008) **Manual de acarologia: acarologia básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 288p.

Moraes GJ, Venancio R, Santos VL, Paschoal AD (2015) Potential of Ascidae, Blattisociidae and Melicharidae (Acari: Mesostigmata) as biological control agents of pest organisms. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Florida: Springer, p. 33-75.

Moreira GF, Moraes GJ (2015) The potential of free-living laelapid mites (Mesostigmata: Laelapidae) as biological control agents. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Florida: Springer, p. 77–102.

Moura RM, Maranhão SRVL (2004) Dados históricos e projeções futuras sobre a fitonematologia. **Academia Pernambucana de Ciência Agrônoma** 1:47-68.

Niblack TL (2005) Soybean cyst nematode management reconsidered. **Plant Disease** 89:1020-1026.

Niblack TL, Lambert KN, Tylka GL (2006) A model plant pathogen from the kingdom animalia: *Heterodera glycines*, the soybean cyst nematode. **Annual Review Phytopathology** 44:283-303.

Noel GR, Jacobsen BJ, Leeper CD (1982) Soybean cyst nematode in commercial snap beans. **Plant Disease** 6:520-522.

Noel GR (1985) The soybean cyst nematode. In.: Lamberti F, Taylor CE (Eds.) **Cyst Nematodes**. NATO Advanced Science Institutes Series, vol. 121. New York: Plenum Press, p. 257-276.

Nordbring-Hertz B, Jansson HB, Tunlid A (2002) **Nematophagous fungi**. Encyclopedia of Life Sciences. Nova York, EUA: Macmillan Publishers, 10 p.

Oliveira AR, Moraes GJ, Ferraz LCCB (2007) Consumption rate of phytonematodes by *Peralumna* sp. (Acari: Oribatida: Galumnidae) under laboratory conditions determined by a new method. **Experimental and Applied Acarology** 41:183-189.

Oliveira CD, Braz LT, Santos JM, Banzatto DA, Oliveira PR (2009) Resistência de pimentas a nematoides de galha e compatibilidade enxerto/porta-enxerto entre híbridos de pimentão e pimentas. **Horticultura Brasileira** 27:520-526.

Perry RN (1996) Chemoreception in plant parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology** 34:181-199.

Powell NT (1971) Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. **Annual Review of Phytopathology** 9:253–74.

Prado TJ (2018) **Biologia e potencial do ácaro predador *Protogamasellopsis zaheri* (Mesostigmata: Rhodacaridae) como agente de controle do nematoide de galha *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae)**. 32 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Unesp, Jaboticabal.

Rehiyani SMA, Fouly AH (2005) *Cosmolaelaps simplex* (Berlese), a Polyphagous Predatory Mite Feeding on Root-knot Nematode *Meloidogyne javanica* and Citrus Nematode *Tylenchulus semipenetrans*. **Pakistan Journal of Biological Sciences** 8:168-174.

Riggs RD (1977) Worldwide distribution of soybean-cyst nematode and its economic importance. **Journal of Nematology** 9:34-39.

Riggs RD, Hamblen ML, Slack DA (1981) Intraspecies variation in reaction to hosts in *Heterodera glycines* populations. **Journal of Nematology** 13:171-179.

Riggs RD (1992) Host range. In.: Riggs RD, Wrather AA (Eds.) **Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode**. St. Paul: APS Press, p.107-114.

Rondeau S, Giovenazzo P, Fournier V (2018) **Risk assessment and predation potential of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bees** 13:1-18.

Ross JP (1962) Physiological strains of *Heterodera glycines*. **Plant Disease Reporter** 46:766-769.

Ross JP (1964) Effect of Soil Temperature on Development of *Heterodera glycines* in Soybean Roots. **Phytopathology** 54:1228-1231.

Singh G, Shivakumar B (2010) **The role of soybean in agriculture**. India: Guriqbal Singh, p. 24.

Stirling GR, Stirling AM, Walter DE (2017) The mesostigmatid mite *Protogamasellus mica*, an effective predator of free-living and plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology** 49:327-333.

SBN (Sociedade Brasileira de Nematologia) (2018). Disponível em: <https://nematologia.com.br/> Acesso em: 24 nov. 2020.

Tihohod D (2000) **Nematologia Agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 372 p.

Trudgil DL, Blok VC (2001) Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology** 39:53-77.

USDA. **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. Disponível em: <file:///C:/Users/laris/Downloads/102020production.pdf> Acesso em: 19 out. 2020.

Van Lenteren JC (2012) The State of Commercial Augmentative Biological Control: Plenty of Natural Enemies, but a Frustrating Lack of Uptake. **BioControl** 57:1-20.

Van Lenteren JC, Bolckmans K et al (2018) Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl** 63:39-59.

Warnke SA, Chen S, Wyse DL, Johnson GA, Porter PM (2006) Effect of rotation crops on *Heterodera glycines* populations density in a greenhouse screening study. **Journal of Nematology** 38:391-398.

Wrather JA, Anand SC, Dropkin VH (1984) Soybean cyst nematode control. **Plant Dis.** 68: 829-833.

Wrather JA, Anderson T, Arsyad D, Gai J, Ploper L, Porta-Puglia A (1997) Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. **Plant Disease** 81:107-110.

Wrather AJ, Mitchum MG (2010) **Soybean cyst nematode**: Diagnosis and management. Extension University of Missouri. Disponível em: <https://extension.missouri.edu/publications/g4450> Acesso em: 23 out. 2020.

Walter DE (1988) Nematophagy by Soil Arthropods from the Shortgrass Steppe, Chihuahuan Desert and Rocky Mountains of the Central United States. **Agriculture, Ecosystems and Environment** 24:307-316.

Walter DE, Campbell NJH (2003) Exotic vs endemic biocontrol agents: would the real *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (Acari: Mesostigmata: Laelapidae), please stand up? **Biological Control** 26:253-269.

Weischer B, Brown DJF (2000) **An introduction to nematodes**: general nematology. Moscou: Pensoft Pub, 187 p.

Xiang N, Lawrence KS, Kloepper JW, Donald PA, Mcinroy JA (2017) Biological control of *Heterodera glycines* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on soybean. **Journal of Phytopathology** 12:1-19

Xu GL, Kuster TM, Günthardt-Goerg MS, Dobbertin M, Li MH (2012) Seasonal exposure to drought and air warming affects soil Collembola and mites. **PLoS ONE** 7:1-9.

Xu CL, Chen YL, Xu XN (2014) Evaluation of *Blattisocius dolichus* (Acari: Blattisociidae) for biocontrol of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae). **BioControl** 59: 617–624.

Yang S, Wang D, Chen C, Chun-Ling Xu, Xie H (2020) Evaluation of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) for controlling the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae). **Science Report** 10:5645.

Yorinori JT (2000) Riscos de Surgimento de Novas Doenças na Cultura da Soja. In: CONGRESSO DE TECNOLOGIA E COMPETITIVIDADE DA SOJA NO MERCADO GLOBAL. **Anais...** Cuiabá: Fundação MT, 2000.

Young LD (1992) Epiphytology and Life Cycle. In.: Riggs RD, Wrather JA (Eds.) **Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode**. St. Paul: APS, p.27-36.

CAPÍTULO 2 – Potencial de predação de *Protogamasellopsis zaheri* (Acari: Rhodacaridae) sobre o nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines* (Nematoda: Heteroderidae)

RESUMO – O nematoide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines* Ichinohe (Nematoda: Heteroderidae), é uma das pragas mais nocivas e de difícil controle da cultura da soja, no Brasil e em outros países. Ácaros predadores da família Rhodacaridae (Mesostigmata) são comumente encontrados abaixo da superfície do solo, em abundância, e têm mostrado grande potencial de predação sobre diferentes espécies de pragas de solo ou que passam uma fase do ciclo de vida no solo, incluindo os nematoides. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de predação do *Protogamasellopsis zaheri* Abo-Shnaf, Castilho & Moraes (Mesostigmata: Rhodacaridae) sobre diferentes estádios de desenvolvimento do NCS e estudar seu ciclo de vida quando oferecidos ovos e imaturos de segundo estádio (J2) de NCS, em condições de laboratório. *Protogamasellopsis zaheri* ovipositou com todos os tipos de presas, indicando a predação destas, com maior oviposição (3,6–3,9 ovos/dia) quando alimentado com uma combinação de todos os estádios de NCS mais o nematoide de vida livre *Rhabditella axei* (Cobbold) (Nematoda: Rhabditidae). As taxas de oviposição foram intermediárias quando alimentado com ovos de NCS ou na mistura de todos os estádios de desenvolvimento do NCS. As taxas foram mais baixas com cisto de NCS ou na ausência de alimento, quando os predadores praticamente não ovipositaram. Os parâmetros de tabela de vida obtidos não demonstraram diferenças significativas entre o desempenho do predador quando oferecidos os ovos ou J2 de NCS. As taxas intrínsecas de aumento oferecendo esses dois tipos de alimentos foram de aproximadamente de 0,204-0,209 fêmea/fêmea/dia. O presente estudo foi o primeiro a demonstrar o potencial de predação de uma espécie de ácaro predador sobre o NCS.

Palavras-chave: Ácaros predadores, controle biológico, pragas de solo; nematoides.

CHAPTER 2 – Predation potential of *Protogamasellopsis zaheri* (Acari: Rhodacaridae) on the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* (Nematoda: Heteroderidae)

ABSTRACT – The soybean cyst nematode (SCN) is one of the most harmful and difficult pest to control in soybean crops in Brazil and other countries. Predatory mites of the family Rhodacaridae (Mesostigmata) are commonly found below the soil surface, they are also commonly found. The objective of this work was to evaluate the predation potential of the rhodacarid *Protogamasellopsis zaheri* Abo-Shnaf et al. on different SCN developmental stages and to study its life cycle when offered eggs and second stage immatures (J2) of that nematode resource, under laboratory condition. The results showed that the predator was able to prey on SCN eggs, J2 and adult females, and to complete its life cycle with eggs and J2 of that prey. SCN active adult females and cysts were not adequate food. Life table parameters show no significant differences between the performance of the predator on SCN on eggs and J2; intrinsic rates of increase on those food types were about 0.204–0.209 female/ female/ day. The present study is the first to demonstrate the potential for predation of a species of predatory mite on SCN. Subsequent research is necessary to evaluate the efficiency of this predator in the control of this pest in semi-field and field conditions.

Keywords: Predatory mite, biological control, soil pests, nematodes.

1 INTRODUÇÃO

A soja é uma das culturas mais plantadas mundialmente, sendo que na safra 2019-2020 foram cultivados cerca de 123 milhões de hectares, resultando na produção de aproximadamente 337 milhões de toneladas de grãos (USDA, 2020). Ainda na safra 2019-2020, o Brasil foi o maior produtor mundial, com cerca de 124 milhões de toneladas de grãos produzidos em aproximadamente 37 milhões de hectares (CONAB, 2020).

No entanto, apesar do frequente aumento de áreas cultivadas e de produtividade ao longo dos anos, ainda ocorrem perdas significativas devido a doenças e pragas que acometem a cultura. Dentre os principais problemas estão os fitonematoides, com o aumento de área infestadas a cada safra (SBN, 2018), ocasionado pelo intenso monocultivo, uso de fertilizantes químicos, irrigação e outros (Raina et al., 2019). Estima-se que a cada ano os fitonematoides causam perdas de aproximadamente US\$ 120 bilhões (Raina et al., 2019).

O nematoide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines* Ichinohe (Nematoda: Heteroderidae), é um dos fitonematoides mais nocivos e de difícil controle nesta cultura. Este fitonematoide é um endoparasita sedentário obrigatório, que no segundo estágio juvenil apresenta um corpo delgado e alongado, tornando-se posteriormente um semi endoparasita em forma de saco, que mantém a região anterior do corpo dentro das raízes (Turner e Subbotin, 2013). Causa danos diretos e indiretos à soja, principal hospedeiro, embora possa se reproduzir em outras Fabaceae. O dano direto é a necrose da região atacada das raízes, dificultando o transporte de água e nutrientes para a parte aérea das plantas, ocasionando clorose foliar, seguida de redução do crescimento das plantas e da produção de grãos e sementes (Trudgil e Blok, 2001). O dano indireto é causado por facilitar a incidência de infecção por bactérias e fungos na área afetada pelo nematoide (Back et al., 2002).

Quando as condições são inadequadas, principalmente por falta de alimentação adequada, as fêmeas adultas de NCS retêm seus ovos e se transformam em cistos resistentes, que podem permanecer viáveis no solo por até oito anos (Moore et al., 1984; Embrapa, 1997). Cada cisto contém cerca de 300–400 ovos. Por seu tamanho diminuto, os cistos podem ser facilmente transportados pelo vento (Moens et al., 2018), aumentando o problema continuamente.

Como manejo fitossanitário, o controle químico é o mais empregado, seja através do tratamento de sementes ou pela aplicação de nematicida em sulco de plantio. No entanto, inúmeros problemas podem resultar dessa prática, incluindo efeitos negativos sobre o meio ambiente, produtores e consumidores. Além disso, pode ocorrer o aumento de populações resistentes deste nematoide aos produtos químicos usados repetidamente, reduzindo sua eficácia (Stirling, 1991). A resistência de produtos químicos a moléculas é amplamente discutida a diferentes pragas alvos na cultura devido ao uso indiscriminado dos produtos, sendo que este problema é favorecido pois o ciclo de vida do NCS é curto e a variabilidade genética é ampla, apresentando 16 diferentes tipos de raça (Riggs et al., 1981; Niblack et al., 2002). O controle com variedades resistentes também tem sido estudado e com bons resultados (Chen et al., 2001), porém, tem-se dificuldade em lançar cultivares resistentes por causa da sua alta variabilidade genética (Riggs e Schmitt, 1988).

O controle biológico de outras espécies de fitonematoides com o uso de ácaros predadores tem-se mostrado promissor e em desenvolvimento (Stirling et al., 2017; Prado, 2018; Azevedo et al., 2020; Yang et al., 2020; Manwaring et al., 2020). Pesquisas laboratoriais mostraram que nematoides de vida livre podem ser empregados como fonte de alimento para ácaros predadores edáficos da ordem Mesostigmata (Castilho et al., 2009; Castilho et al., 2015; Azevedo et al., 2019). Em alguns dos estudos, *Protogamasellopsis zaheri* Abo-Shnaf, Castilho e Moraes (Mesostigmata: Rhodacaridae) apresentou bom desempenho biológico quando alimentado com o nematoide de vida livre *Rhabditella axei* (Cobbold) (Nematoda: Rhabditidae) (Castilho et al., 2009) e o segundo estágio juvenil do nematoide das galhas, *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) (Nematoda: Meloidogynidae) (Prado, 2018). Esta última também é uma importante praga da soja em vários países.

Acredita-se que ácaros Mesostigmata possam impactar a população de NCS, e esse potencial deve ser investigado. A capacidade de predação e as características biológicas de *P. zaheri* são desconhecidas quando alimentados com este nematoide. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de predação de *P. zaheri* em diferentes estádios de desenvolvimento do NCS e estudar seu ciclo de vida nesta presa potencial. *Protogamasellopsis zaheri* foi selecionada por apresentar

características morfológicas que lhe permitem viver sob a superfície do solo, onde se encontra o NCS, e por seu potencial de predação sobre outros nematoides.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Colônias

Espécimes de *P. zaheri* foram obtidos de uma colônia estabelecida em 2005 na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), com ácaros coletados em Piracicaba, estado de São Paulo, a partir de compostos comumente usados na produção de cogumelos. A colônia foi criada em unidades semelhantes às descritas por Freire e Moraes (2007), a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $95 \pm 5\%$ UR e no escuro, e alimentada com o ácaro *T. putrescentiae* (Schrank) (Astigmatina: Acaridae), e com o nematoide de vida livre *R. axei*.

Tyrophagus putrescentiae foi alimentado com ração comercial para cães (Deli Dog®) em unidades separadas semelhantes às descritas por Freire e Moraes (2007). Uma colônia do nematoide *R. axei* foi mantida em uma unidade de criação composta potes de plástico na qual pedaços de vagens de feijão comum, *Phaseolus vulgaris* L., e um pequeno volume de água destilada eram adicionados semanalmente, para manter as vagens embebidas e apodrecendo.

O inóculo NCS foi obtido de uma colônia mantida pelo Laboratório de Nematologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, estado de São Paulo. A colônia foi estabelecida com nematoides coletados em 2011 em Primavera do Leste, estado de Mato Grosso, Brasil, e mantidos em vasos de soja. Essa população foi caracterizada como pertencente à raça 3 (Riggs e Schmitt, 1988).

2.2 Teste de predação

Este teste foi realizado seguindo a metodologia proposta por Furtado et al. (2007) e adaptado por Castilho et al. (2009) para ácaros edáficos. As unidades experimentais utilizadas foram placas de Petri de plástico (2 cm de altura x 3 cm de diâmetro), cuja base foi coberta com uma camada de 0,5 cm de uma mistura de gesso

e carvão ativado (9: 1), mantida permanentemente úmida por adição diária de água destilada. Cada unidade experimental foi vedada com filme plástico transparente (Magipac®), para evitar a fuga dos ácaros. Todas as unidades (30 por tratamento) foram mantidas em uma câmara climatizada a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $95 \pm 5\%$ UR e no escuro.

Os tratamentos corresponderam a diferentes estádios do NCS, o nematoide de vida livre *R. axei* e *T. putrescentiae*. *Rhabditella axei* (controle positivo 1) e *T. putrescentiae* (controle positivo 2) foram incluídos no estudo, pois foram oferecidos ao predador como alimento na colônia. Os números de presas transferidas diariamente para cada unidade experimental foram os seguintes: 1) quatro cistos NCS; 2) quatro fêmeas de NCS; 3) 100 ovos NCS (oferecidos em um pequeno pedaço de algodão umedecido); 4) 100 juvenis de segundo estágio NCS (J2, oferecidos da mesma forma que os ovos); 5) uma combinação de 100 ovos, 100 J2, quatro fêmeas e quatro cistos de NCS; 6) uma combinação como no tratamento 5 mais *R. axei* oferecido ad libitum em pedaços de vagens de feijão comum em decomposição; 7) *R. axei* (ad libitum); 8) 50 ninfas de *T. putrescentiae*; 9) sem alimento (controle negativo).

Os diferentes estádios do NCS foram obtidos da seguinte forma: fêmeas de NCS foram através da lavagem de raízes de plantas de soja infestadas em vasos; cistos de NCS foi utilizando a metodologia de solo seco descrita por Machado et al. (2019); ovos e J2, pelo método proposto por Jenkins (1964). O nematoide de vida livre foi retirado da colônia de laboratório em pequenos pedaços de vagem. As ninfas de *T. putrescentiae* foram obtidas retirando-as com um pincel da colônia, sob um microscópio estereoscópico.

Subsequente, fêmeas de *P. zaheri* foram retiradas aleatoriamente da colônia e transferido para cada unidade amostral. O estudo foi realizado em delineamento de blocos casualizados, com seis blocos e cinco unidades experimentais de cada tratamento por bloco (6 x 5 x 9). Os parâmetros avaliados foram oviposição de predadores e taxas de sobrevivência. O experimento foi avaliado diariamente, durante 11 dias, descartando-se os resultados do primeiro dia, para diminuir o efeito da alimentação anterior.

Os dados foram submetidos ao teste de Bartlett para verificar a homocedasticidade (PROC GLM) e o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade dos dados (PROC UNIVARIATE). Como os dados não foram distribuídos

normalmente, foram analisados com o método proposto por Long e Ervin (2000). As comparações de médias foram realizadas empregando teste não paramétrico proposto por Games-Howell (Games e Howell, 1976).

2.3 Tabela de vida

Para iniciar o experimento, 160 fêmeas adultas de *P. zaheri* foram transferidas para oito placas de Petri (1,5 cm de altura x 9,0 cm de diâmetro) cujas bases foram cobertas com uma camada de gesso e carvão, conforme mencionado no item anterior, e umedecida por adições diárias de água destilada. Cada grupo de predadores foram alimentados com aproximadamente 500 ovos e 500 J2 de NCS em pequenos pedaços de algodão umedecidos. As placas de Petri foram observadas 6 h depois, transferindo cada ovo de predador para uma unidade experimental semelhante à descrita no item anterior.

O ciclo de vida de *P. zaheri* foi avaliado em dois tipos de alimentos, ovos e J2 de NCS; essas presas foram selecionadas com base nos resultados do estudo de predação. O predador de cada unidade experimental foi alimentado diariamente com 100 ovos ou 100 J2 de NCS. As presas eram substituídas diariamente. O estudo foi iniciado com 42 predadores por tratamento.

A duração dos estádios imaturos foi determinada examinando as unidades experimentais a cada 6 h. Após atingir a idade adulta, as unidades foram examinadas uma vez ao dia para determinar a longevidade e oviposição. Por se tratar de uma espécie com partenogênese telítica (Castilho et al., 2009), o acasalamento não foi realizado.

Ao longo do período de oviposição, 10 ovos do predador foram removidos aleatoriamente das unidades experimentais de cada tratamento e criados até a idade adulta juntos em uma unidade experimental conforme descrito acima, para calcular a viabilidade de eclosão e sobrevivência, e para confirmar a proporção sexual.

Os parâmetros de tabela de vida avaliados foram: R_0 = taxa de reprodução líquida; T = tempo médio entre gerações; r_m = taxa intrínseca de aumento em número; λ = taxa finita de aumento em dias; D_t = tempo levado para dobrar a população em semanas. Os cálculos para estimar os parâmetros foram realizados conforme descrito por Maia et al. (2000). As proporções de sobrevivência de adultos nos diferentes

tratamentos de estágio de presa foram comparadas usando o teste de Long-Rank, usando o método Kaplan-Meier PROC LIFETEST (SAS Institute, 2002).

3 RESULTADOS

Protogamasellopsis zaheri ovipositou com todos os tipos de presas, com maior oviposição (3,6–3,9 ovos/dia) quando alimentado com *T. putrescentiae* (controle positivo 1), *R. axei* (controle positivo 2) ou uma combinação de todos os estágios de NCS mais *R. axei* ($F = 3062, 7$; $df = 8,24$; $p < 0,0001$). As taxas de oviposição foram intermediárias quando alimentado com ovos de NCS ou na mistura de todos os estágios de desenvolvimento do NCS. As taxas foram mais baixas com cisto de NCS ou na ausência de alimento, quando os predadores praticamente não ovipositaram.

A sobrevivência foi de 100% para a maioria dos tratamentos, exceto para os dois tratamentos que promoveram menor oviposição. Nesses tratamentos, a sobrevivência foi de 63% quando oferecidos cistos de NCS e 40% para predadores não alimentados.

Tabela 1. Oviposição (ovos por fêmea por dia) e sobrevivência (%) de *Protogamasellopsis zaheri* alimentado de diferentes estágios de desenvolvimento de *Heterodera glycines* (NCS), *Tyrophagus putrescentiae* (*Tp*) ou *Rhabditella axei* (*Ra*), a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $97 \pm 3\%$ UR e no escuro, durante 10 dias.

Tratamentos	Oviposição \pm EP	Sobrevivência \pm EP
1 NCS cistos	0,2 \pm 0,04 e	63 \pm 8,5
2 NCS fêmeas	0,9 \pm 0,03 d	100 \pm 0,0
3 NCS ovos	2,6 \pm 0,02 b	100 \pm 0,0
4 NCS J2	2,0 \pm 0,03 c	100 \pm 0,0
5 NCS ovos+J2+fêmeas+cistos	2,7 \pm 0,03 b	100 \pm 0,0
6 NCS ovos+J2+fêmeas+cistos+ <i>Ra</i>	3,6 \pm 0,02 a	100 \pm 0,0
8 <i>Ra</i> (controle positivo 1)	3,6 \pm 0,03 a	100 \pm 0,0
7 <i>Tp</i> (controle positivo 2)	3,9 \pm 0,03 a	100 \pm 0,0
9 Sem alimento (controle negativo)	0,0 \pm 0,01 f ¹	40 \pm 8,8
F	3062,7	
d.f.	8,24502	
P	<0,0001	

¹Média seguida pela mesma letra não difere pelo teste não paramétrico Games-Howell ($P > 0,05$).

Independentemente do alimento oferecido, o estágio de larva do predador foi o mais curto (0,8 dia), enquanto a fase de ovo foi o mais longo (3,6 dias) (Tabela 2). Para a duração dos estádios de desenvolvimento, houve diferenças significativas para o estágio de protoninfa ($F = 1,93$; $gl = 74,54$; $P = 0,0388$) e, como consequência, para a duração de toda a fase imatura (ovo-adulto) ($F = 7,31$; $df = 52,007$; $P < 0,0001$). No entanto, embora significativas, as diferenças foram pequenas. A sobrevivência de imaturos foi de 100%.

Tabela 2. Duração de diferentes estádios de desenvolvimento (dias \pm EP) e parâmetros reprodutivos de *Protogamasellopsis zaheri* alimentados de ovos e juvenil de segundo estágio de desenvolvimento (J2) de *Heterodera glycines* a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $97 \pm 3\%$ UR e no escuro.

Parâmetros	Tipo de alimento		F	d.f.	P<
	Ovos	J2			
Ovo	3,6 \pm 0,03 [42] a	3,7 \pm 0,04 [42] a	1,79	75,949	0,0667
Larva	0,76 \pm 0,03 [42] a	0,82 \pm 0,02 [42] b	2,07	73,098	0,0218
Protoninfa	2,45 \pm 0,03 [42] a	2,46 \pm 0,04 [42] b	2,03	73,517	0,0258
Deutoninfa	2,43 \pm 0,03 [42] a	2,76 \pm 0,04 [42] a	1,48	79,072	0,2164
Ovo-adulto	9,23 \pm 0,03 [42] a	9,72 \pm 0,06 [42] b	3,43	63,016	<0,0001
Pré-oviposição	2,65 \pm 0,03 [39] b	2,29 \pm 0,06 [41] a	3,85	60,127	<0,0001
Oviposição	20,5 \pm 0,52 [40] b	21,22 \pm 0,33 [39] a	2,17	66,713	0,0182
Pós-oviposição	2,26 \pm 0,17 [31] a	2,55 \pm 0,17 [38] a	1,26	66,445	0,5198
Longevidade	34,1 \pm 0,48 [39] a	35,1 \pm 0,62 [39] a	1,73	74,478	0,0936
Parâmetros biológicos					
Fecundidade ¹	31,2 \pm 0,83 [38] b	33,56 \pm 0,6 [37] a	1,94	67,172	0,0489
Viabilidade de ovos (F1)	91,0% [200] a	89,1% [200] a	1,19	307,71	0,2831
% fêmeas	100 [40]	100 [39]	-	-	-
% fêmeas (F1)	100 [182]	100 [178]	-	-	-
Taxa de sobrevivência F1 (ovo-adulto)	83,3% \pm 4,85 [182] a	78,3% \pm 5,34 [178] a	1,22	116,83	0,4436

¹Obtido pela divisão do número total de ovos postos pelo número de fêmeas.

Os períodos de pré-oviposição e pós-oviposição foram curtos, cada um correspondendo a menos de 12% do período de oviposição, em ambos os tratamentos. Diferença significativa entre os tratamentos foi observada para o período

de pré-oviposição ($F = 3,53$; d.f. = 59,134; $P < 0,0001$). No entanto, novamente, a diferença foi pequena. Nenhuma diferença significativa foi observada para fecundidade (29,8-31,1) ou viabilidade do ovo (89,1-91,0). Um único ácaro morreu antes do final do período de oviposição quando o alimento era J2 e nenhum morreu quando o alimento era ovo. Além disso, apenas fêmeas foram obtidas de ovos inicialmente separados para iniciar o estudo, bem como de ovos obtidos durante o estudo de biologia.

Nenhuma diferença estatística foi observada entre os tratamentos para qualquer um dos parâmetros na tabela de vida (Tabela 3). Os parâmetros biológicos sugerem que a população de *P. zaheri* nos tipos de alimentos avaliados aumentou cerca de 29-32 vezes ($R_0 = 29,21-32,49$) a cada 16-17 dias ($T = 15,65 -16,61$), correspondendo a um crescimento diário da população de 22 –23% ($\lambda = 1,22-1,23$), ou seja, uma produção de 0,20 fêmeas por dia ($r_m = 0,204-0,209$).

Tabela 3. Parâmetros de tabela de vida (média \pm EP) de *Protogamasellopsis zaheri* alimentado com ovos e juvenis de segundo estágio de desenvolvimento (J2) de *Heterodera glycines* a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 97 \pm 3% UR e no escuro.

Presa	R_0	T	r_m	λ	Dt
Ovos	29,21 \pm 1,37 a	15,65 \pm 0,68 a	0,209 \pm 0,005 a	1,23 \pm 0,03 a	3,06 \pm 0,04 a
Juvenil	32,49 \pm 1,21 a	16,61 \pm 0,08 a	0,204 \pm 0,006 a	1,22 \pm 0,04 a	3,15 \pm 0,12 a

Para cada parâmetro, as médias seguidas pela mesma letra minúscula em uma coluna não foram significativamente diferentes (teste T student, $\alpha = 0,05$).

A fertilidade foi estatisticamente a mesma quando oferecidos ovos e juvenis de NCS como presas ao ácaro predador. A maior taxa de fecundidade diária foi observada no décimo nono dia quando o predador foi alimentado com ovos de NCS (2,5 \pm 0,13 ovos / fêmea) ou J2 (3,0 \pm 0,15 ovos / fêmea) (Figura 1). Em relação à mortalidade, *P. zaheri* teve uma taxa de sobrevivência contínua muito semelhante em ambos os tratamentos. Quando alimentado com J2, a mortalidade do ácaro predador começou 35 dias após a eclosão dos ovos, com a morte de todos os predadores no quadragésimo dia. Quando alimentados com ovos, os primeiros ácaros predadores

morreram 29 dias após a eclosão dos ovos, e todos morreram no trigésimo nono dia (Figura 1).

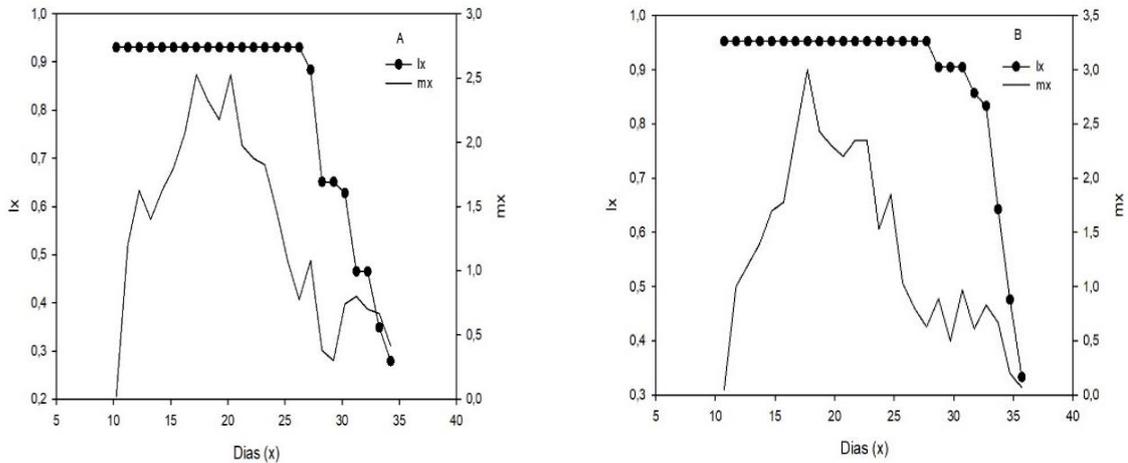


Figura 1. Número médio de ovos postos por fêmea (mx) e taxa de sobrevivência (lx) de *Protogamasellopsis zaheri* alimentado com ovos (A) e juvenis de segundo estágio de desenvolvimento J2 (B) de *Heterodera glycines*.

As curvas de sobrevivência de ovos e juvenis (J2) de *H. glycines* alimentados com *P. zaheri* são muito semelhantes até os trinta dias de sobrevivência e apresentaram estabilidade quando alimentado por essas duas diferentes presas. Após esse período, a mortalidade de *P. zaheri* alimentada com ovos de NCS ocorre de forma mais lenta, em comparação com os juvenis (J2), porém *P. zaheri* alimentada com juvenis teve uma taxa de sobrevivência próxima a 80% até aproximadamente 35 dias. Assim, as curvas de sobrevivência diferiram significativamente pelo teste de Long-Rank (GL = 1; $X^2 = 6,7337$; $P = 0,0095$) e teste de Wilcoxon (GL = 1; $X^2 = 8,7149$; $P = 0,0032$) (Figura 2).

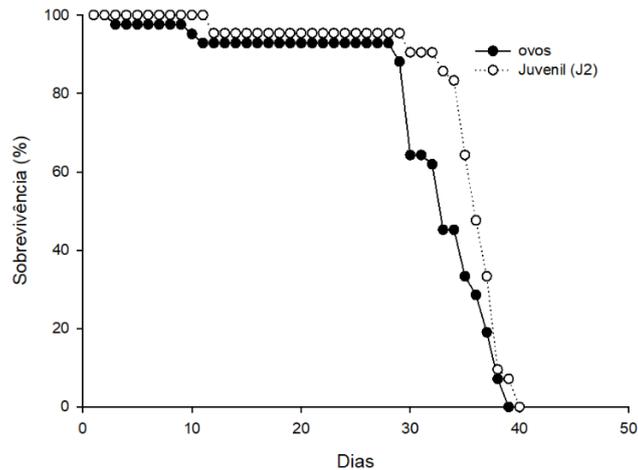


Figura 2. Curva de sobrevivência de *Protogamasellopsis zaheri* alimentado com ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de *Heterodera glycines*.

4 DISCUSSÃO

Os resultados do estudo indicaram que *P. zaheri* foi capaz de se alimentar de alguns estádios de NCS, além de se desenvolver e se reproduzir com ovos e J2 desse nematoide como alimento. Para o experimento, as presas foram oferecidas em uma configuração que certamente não é representativa em condição de campo. Assim, os resultados obtidos no estudo não podem ser extrapolados para concluir sobre a capacidade do predador em controlar o NCS. No entanto, é o primeiro passo para essa determinação.

Os resultados sugeriram que os cistos de NCS não são adequados para alimentação do predador, como indicado pelas baixas oviposição e sobrevivência quando os cistos foram oferecidos como alimento. Os cistos têm sido citados como resistentes à deterioração e dessecação, bem como à ação de inimigos naturais (Turner e Subbotin, 2013). O predador foi observado caminhando sobre os cistos e tocando-os com os palpos e com o primeiro par de pernas, possivelmente tentando se alimentar, mas a camada subcristalina dos cistos parece ter dificultado o acesso do predador aos ovos do nematoide.

Ainda, foi mostrado que quando outros estádios de NCS estão prontamente disponíveis, *P. zaheri* foi capaz de se alimentar deles, completando o ciclo de vida quando alimentado com ovos e J2. Pelo que se conhece sobre a biologia do NCS, parece que os ovos, J2 e até fêmeas poderiam estar disponíveis ao ataque de

predadores, pois ficam expostos nas raízes, além de J2 estarem expostos no solo, pois essa a fase de dispersão deste nematoide.

Os resultados sugeriram que o predador também foi capaz de se alimentar de fêmeas adultas de NCS, pois sua taxa de sobrevivência foi de 100% com essa presa, uma taxa significativamente maior do que no tratamento do controle negativo (sem alimento). No entanto, a cutícula das fêmeas de NCS parece ter dificultado a alimentação do predador, impedindo sua oviposição. Cada fêmea de NCS produz 300-400 ovos (Moens et al., 2018), e cerca de um terço destes são depositados fora de seu corpo em uma matriz gelatinosa, e os ovos restantes são retidos dentro dela, que mudam de cor passando de amarelo para marrom escuro à medida que as fêmeas envelhecem e morrem; esses ovos poderiam ser livremente atacados pelos predadores. Os demais ovos são protegidos dentro dos cistos (Turner e Subbotin, 2013).

Os ácaros Rhodacaridae são conhecidos por habitarem as camadas abaixo da superfície do solo (Castilho et al., 2015). A morfologia desses ácaros, mais finos e com escudo dorsal dividido (Castilho et al., 2012), facilita sua locomoção no solo, pelo menos nos primeiros centímetros abaixo da superfície, e principalmente em solos menos compactados. Mas resta saber até que ponto estes predadores podem se aprofundar no solo, em comparação com o NCS.

Os resultados não apontaram o NCS como fonte alimentar preferencial entre as presas oferecidas. Em vez disso, *T. putrescentiae* e o nematoide de vida livre parecem ser mais preferidos pelo predador, permitindo maior oviposição deste. Mas esse resultado era esperado, pois este predador era criado com *T. putrescentiae* e o nematoide de vida livre como alimentos. Assim, é possível que a exposição prévia do NCS ao predador por algum tempo o tornasse um alimento mais favorável.

Em vários estudos de laboratório, altas taxas de oviposição foram obtidas por diferentes predadores alimentados com *T. putrescentiae* (Castilho et al., 2015; Moraes et al., 2015; Azevedo et al., 2015; Moreira e Moraes, 2015), embora alguns predadores não aceitaram este ácaro como presa, como algumas espécies do gênero *Euseius* (Acari: Phytoseiidae) (Barbosa e Moraes, 2015). A aceitabilidade de *T. putrescentiae* por vários predadores edáficos é digna de nota, visto que este é um ácaro de grãos armazenados, e não de solo. Em outras palavras, *T. putrescentiae* é um alimento

alternativo para esses predadores, e algumas espécies do mesmo grupo ao qual pertence este ácaro (Astigmatina) têm sido usadas comercialmente para a produção de ácaros predadores.

A alta oviposição em *R. axei* por predadores das famílias Laelapidae e Macrochelidae (Mesostigmata) também foi demonstrada em estudos de laboratório (Moreira et al., 2015; Azevedo et al., 2018). A contínua exposição desse nematoide de vida livre no ambiente, além do fato de não possuir fase resistente, torna-o adequado para o ataque de predadores. Vale a pena considerar que a inclusão do nematoide de vida livre não impediu que os predadores se alimentassem do NCS, conforme observado no tratamento 6 do presente estudo, no qual *P. zaheri* foi visualizado se alimentando em alguns estádios do NCS.

Estudos anteriores também mostraram que o uso de nematoides de vida livre como alternativa aos ácaros predadores pode favorecer o controle da presa, incluindo fitonematoides, como *M. incognita* (Azevedo et al., 2019, 2020). No campo, esses nematoides de vida livre podem servir como alimento alternativo para ácaros predadores, na ausência da praga, favorecendo o desenvolvimento e a reprodução do predador, e permitindo que ele esteja presente no momento em que a praga a ser controlada aparece. Conseqüentemente, a liberação simultânea de predadores e do nematoide de vida livre foi concebida como uma estratégia positiva.

O presente estudo é o primeiro a demonstrar a capacidade de um ácaro rodacarídeo, *P. zaheri*, de preda o NCS. Esses resultados justificam a realização de pesquisas posteriores para avaliar sua eficiência em condições de casa de vegetação e campo, considerando a importância econômica da soja e do NCS.

REFERÊNCIAS

Azevedo LH, Emberson RM, Esteca FCN, Moraes GJ (2015) Macrochelid mites (Mesostigmata: Macrochelidae) as biological control agents. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds.) **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. London: Springer, p. 103-132.

Azevedo LH, Ferreira MP, Castilho RC, Cançado PHD, Moraes GJ (2018) Potential of *Macrocheles* species (Acari: Mesostigmata: Macrochelidae) as control agents of harmful flies (Diptera) and biology of *Macrocheles embersoni* Azevedo, Castilho & Berto on *Stomoxys calcitrans* (L.) and *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Biological Control** 128:1-8.

Azevedo LH, Leite LG, Chacon-Orozco JG, Moreira MFP, Ferreira MP, Gonzalez-Cano LM, Borges V, Rueda-Ramirez D, Moraes GJ, Palevsky E (2019) Free living nematodes as alternative prey for soil predatory mites: an interdisciplinary case study of conservation biological control. **Biological Control** 132:128-134.

Azevedo LH, Moreira MFP et al (2020) Combined releases of soil predatory mites and provisioning of free-living nematodes for the biological control of root-knot nematodes on 'Micro Tom tomato'. **Biological Control** 146:1-10.

Back MA, Haydock PPJ, Jenkinson P (2002) Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soil borne pathogens. **Plant Pathology** 51:683-697.

Barbosa MFC, Moraes GJ (2016) Potential of astigmatid mites (Acari: Astigmatina) as prey for rearing edaphic predatory mites of the families Laelapidae and Rhodacaridae (Acari: Mesostigmata). **Experimental and Applied Acarology** 69:289-296.

Castilho RC, Moraes GJ, Silva ES, Silva LO (2009) Predation potential and biology of *Protogamasellopsis posnaniensis* Wisniewski & Hirschmann (Acari: Rhodacaridae). **Biological Control** 48:164-167.

Castilho RC, Moraes GJ, Halliday B (2012) Catalogue of the mite family Rhodacaridae Oudemans, with notes on the classification of the Rhodacaroidea (Acari: Mesostigmata). **Zootaxa** 3471:1–69.

Castilho RC, Venancio R, Narita JPZ (2015) Mesostigmata as biological control agents, with emphasis on Rhodacaroidea and Parasitoidea. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds.) **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Florida: Springer, p. 1–31.

Chen SY, Porter PM, Orf JH, Reese CD, Stienstra WC, Young ND, Walgenbach DD, Schaus PJ, Arlt TJ, Breitenbach FR (2001) Soybean cyst nematode population development and associated soybean yields of resistant and susceptible cultivars in Minnesota. **Plant Disease** 85:760-766.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) (2020) **Boletim da safra de grãos**. 10º Levantamento - Safra 2020/21. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos/boletim-da-safra-de-graos> Acesso em: 20 out. 2020.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) (1997) **Nematoide de cisto da soja**. Londrina: Embrapa – Soja, 7p.

Freire RAP, Moraes GJ (2007) Mass production of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Acari: Laelapidae). **Syst Appl Acarol** 12:117-119.

Furtado IP, Moraes GJ, Kreiter S, Tixer MS, Knapp M (2007) Potencial of a Brazilian population of the predatory mite *Phytoseiulus longipes* as a biological control agent of *Tetranychus evansi* (Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae). **Biol Control** 42:139-147.

Games PA, Howell JF (1976). Procedimentos de comparação múltipla emparelhada com N's desiguais e / ou variâncias: um estudo de Monte Carlo. **Journal of Educational Statistics** 1:113-125.

Jenkins WR (1964) Rapid centrifugal-flotation for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter** 48:338.

Long JS, Ervin LH (2000) Using Heteroscedasticity Consistent Standard Errors in the Linear Regression Model. **The American Statistician** 54:217-224.

Machado ACZ, Silva SA, Ferraz LCCB (2019) **Métodos em nematologia agrícola**. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 184p.

Maia AHN, Luiz AJB, Campanhola C (2000) Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: computational aspects. **Journal of Economic Entomology** 93:511–518.

Manwaring M, Nahrung HF, Wallace H (2020) Attack rate and prey preference of *Lasioseius subterraneus* and *Protogamasellus mica* on four nematode species. **Exp Appl Acarol** 80:29–41.

Moens M, Perry RN, Jones JT (2018) Cyst nematodes – life cycle and economic importance. In.: Perry RN, Moens M, Jones JT (Eds.). **Cyst Nematodes**. Wallingford: CABI International, p. 1–26.

Moore WF, Bost SC, Brewer FL, Dun RA, Endo BY, Grau CR, Hardman LL, Jacobsen BJ, Leffel R, Newman MA, Nyvall RF, Over-street C, Parks CL (1984) **Soybean cyst nematode**. Washington: Soybean Industry Resource Committee, 23p.

Moraes GJ, Venancio R, Santos VL, Paschoal AD (2015) Potential of Ascidae, Blattisociidae and Melicharidae (Acari: Mesostigmata) as biological control agents of pest organisms. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Florida: Springer. p. 33-75.

Moreira GF, Moraes GJ (2015) The potential of free-living laelapid mites (Mesostigmata: Laelapidae) as biological control agents. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Florida: Springer, p. 77–102.

Niblack TL, Arelli PR, Noel GR, Opperman CH, Orf JH, Schmitt DP, Shannon JG, Tylka GL (2002) A Revised Classification Scheme for Genetically Diverse Populations of Heterodera glycines. **Journal of nematology** 34:279–288.

Nicol JM, Turner SJ, Coyne DL, Den Nijs L, Hockland S, Tahna Maafi Z (2011) Current nematode threats to world agriculture. In.: Jones J, Gheysen G, Fenoll C (Eds.). **Genomics and molecular genetics of plant–nematode interactions**. London: Springer, p. 21–44.

Prado TJ (2018) **Biologia e potencial do ácaro predador *Protogamasellopsis zaheri* (Mesostigmata: Rhodacaridae) como agente de controle do nematoide de galha *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae)**. 32 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Unesp, Jaboticabal.

Raina A, Danish M, Khan S, Sheikh H (2019) Role of biological agents for the management of plant parasitic nematodes. In.: Kumar P, Tiwari AK, Kamle M, Abbas Z, Singh P (Eds.). **Plant pathogens: detection and management for sustainable agriculture**. Flórida: CRC, p. 181-226.

Riggs RD, Hamblen ML, Slack DA (1981) Intraspecies variation in reaction to hosts in Heterodera glycines populations. **Journal of Nematology** 13:171-179.

Riggs RD, Schmitt DP (1988) Complete Characterization of the Race Scheme for *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology** 20:39-395.

SAS Institute (2015) **User`s Guide**. Cary, NC: SAS Institute Inc.

SBN (Sociedade Brasileira de Nematologia) (2018). Disponível em: <https://nematologia.com.br/> Acesso em: 24 nov. 2020.

Stirling GR (1991) **Biological control of plant parasitic nematodes**: Progress, problems and prospects. Wallingford: CAB International, 282p.

Stirling GR, Stirling AM, Walter DE (2017) The mesostigmatid mite *Protogamasellus mica*, an effective predator of free-living and plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology** 49:327-333.

Trudgil DL, Blok VC (2001) Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology** 39:53-77.

Turner SJ, Subbotin SA (2013) Cyst nematodes. In.: Perry RA, Moens M (Eds.). **Plant Nematology**. 2. ed. Wallingford, UK: CABI, p. 109–43.

USDA. **World Agricultural Supply and Demand Estimates**. Disponível em: <file:///C:/Users/laris/Downloads/102020production.pdf> Acesso em: 19 out. 2020.

Yang S, Wang D, Chen C, Ling Xu C, Xie H (2020) Evaluation of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) for controlling the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae). **Science Report** 10:5645.

CAPÍTULO 3 – Potencial de ácaros predadores no controle do nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines* (Nematoda: Heteroderidae), em plantas de soja em casa de vegetação

RESUMO – O nematoide de cisto da soja (NCS) é um dos fitonematoides que atacam a cultura da soja, causando altas perdas de produtividade. Devido ao ataque destrutivo a planta, e seu progressivo aumento em aéreas inicialmente não infestadas, diferentes estratégias de controle são empregadas, como rotação de culturas, cultivo de cultivares resistentes, controle químico e o controle biológico. Conhecendo o potencial de ácaros edáficos predarem fitonematoides, com resultados promissores em laboratório, o presente estudo teve como objetivo geral avaliar a eficiência de *Protogamasellopsis zaheri* (Mesostigmata: Rhodacaridae) e *Stratiolaelaps scimitus* (Mesostigmata: Laelapidae) no controle de NCS em testes de casa de vegetação, além de determinar se o nematoide de vida livre (NVL) poderia ser utilizado para melhorar a eficácia do predador *P. zaheri*. Os testes foram realizados em três fases experimentais: 1) até os 40 dias após o plantio; 2) até os 70 dias após o plantio; 3) até a colheita. Em todas as fases experimentais foram analisadas as densidades populacionais do NCS e parâmetros biométricos das plantas, seguidos de parâmetros de produtividade no estágio de maturação fisiológica dos grãos. Na primeira fase experimental, foi observada uma eficiência de controle de cistos viáveis acima de 60% para os tratamentos com ácaros edáficos. Em terceira fase experimental, em relação a produtividade da soja, o tratamento com a liberação de *P. zaheri* suplementado com NVL ficou entre os melhores resultados, enquanto no controle do NCS, a liberação *P. zaheri* sem NVL foi mais eficiente. Os resultados indicam potencial de predação dos ácaros edáficos como ferramentas de controle do NCS, com destaque para *P. zaheri*.

Palavras-chave: Controle biológico; Mesostigmata; *Protogamasellopsis zaheri*; *Stratiolaelaps scimitus*.

CHAPTER 3 – Potential of predatory mites to control the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* (Nematoda: Heteroderidae), in greenhouse soybean plants

ABSTRACT – The soybean cyst nematode (NCS) is one of the nematodes that attack the soybean crop, causing high productivity losses. Due to the destructive attack on the plant, and its progressive increase in areas initially not infested, different control strategies are employed, such as crop rotation, cultivation of resistant cultivars, chemical control and biological control. Knowing the potential of soil mites to prey on nematodes, with promising results in the laboratory, the present study aimed to evaluate the efficiency of *Protogamasellopsis zaheri* (Mesostigmata: Rhodacaridae) and *Stratiolaelaps scimitus* (Mesostigmata: Laelapidae) in the control of NCS in semi-tests field, in addition to determining whether the free-living nematode (NVL) could be used to improve the effectiveness of the predator *P. zaheri*. The tests were carried out in three experimental phases: 1) up to 40 days after planting; 2) up to 70 days after planting; 3) until harvest. In all experimental phases, the NCS population densities and biometric parameters of the plants were analyzed, followed by productivity parameters at the physiological maturation stage of the grains. In the first experimental phase, an efficiency of control of viable cysts above 60% was observed for treatments with edaphic mites. In the third experimental phase, regarding soybean yield, the treatment with the release of *P. zaheri* supplemented with NVL was among the best results, while in the control of NCS, the release of *P. zaheri* without NVL was more efficient. The results indicate that soil mites are good tools to control NCS, with emphasis on *P. zaheri*.

Keywords: Biological control, Mesostigmata, *Protogamasellopsis zaheri* and *Stratiolaelaps scimitus*

1 INTRODUÇÃO

Dentre os cereais mais cultivados no mundo, a soja se destaca por seu alto valor proteico e por ser matéria prima de diferentes produtos, tanto na alimentação humana, quanto animal (LiJuan et al., 2010; Singh e Shivakumar, 2010). No mercado internacional tem-se um crescente aumento de preços e demanda por esta *commoditie*, por isso, o desafio em aumentar a produtividade no campo a cada safra. Entretanto, inúmeros patógenos e pragas atacam esta cultura, impedindo maiores produtividades (Wrather e Koenning, 2009).

Os fitonematoides são pragas de solo que causam perdas econômicas significativas (Raina et al., 2019), dependendo de suas infestações e a espécie em questão. A cultura da soja pode ser atacada por diferentes espécies de fitonematoides, como os nematoides-de-galha, *Meloidogyne* spp. (Meloidogynidae), o nematoide-das-lesões, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) (Pratylenchidae), e o nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines* (Ichinohe) (Heteroderidae) (Grigolli et al., 2014; Raina et al., 2019).

O NCS é um dos fitonematoides mais agressivos e de difícil controle na cultura (Wrather e Mitchum, 2010). O seu ataque ocorre quando o juvenil de segundo estágio (J2), fase infectante e livre no solo, penetra nas raízes e se fixa as células, formando um sítio de alimentação chamado de sincício, desse modo, afetando os processos fisiológicos da planta diretamente relacionados a absorção de água e nutrientes das plantas (Barker et al., 1998; Niblack, 2005; Chen et al., 2011), causando clorose e nanismo nas plantas (Wrather e Mitchum, 2010).

Devido ao ataque destrutivo a planta, e seu progressivo aumento em áreas inicialmente não infestadas, diferentes estratégias de controle são empregadas, como rotação de culturas, cultivo de cultivares resistentes, controle químico e o controle biológico (Niblack, 2005). O controle biológico de fitonematoides pode ter como agente de controle bactérias, fungos e ácaros predadores. Os agentes de controle biológicos conseguem reduzir a população em diferentes estádios de desenvolvimento do NCS, como ovos no processo de inibição de eclosão no interior do cisto, fêmeas, cistos e juvenil (J2) (Chen, 2004;

Chen e Lui, 2005), entretanto, o J2 é a fase em que a maioria das estratégias de controle agem, incluindo os ácaros predadores (Capítulo 2 desta Dissertação).

O ácaro predador edáfico *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Mesostigmata: Laelapidae) é um dos mais estudados visando o controle biológico de diferentes pragas de solo ou que passam uma fase da vida no solo (Freire et al., 2007; Cabrera et al., 2005; Castilho et al., 2009b; Barbosa e Moraes, 2016; Rondeau et al., 2018; Yang et al. 2020; Azevedo et al., 2020). No Brasil, na Europa e no EUA é comercializado para o controle de fungus gnat, *Bradysia* spp. (Diptera: Sciaridae), e de tripes (Thysanoptera) (Van Lenteren, 2012; Van Lenteren et al., 2018; Castilho et al., 2019).

Alguns estudos com *S. scimitus* têm visado o controle de fitonematoides. Yang et al. (2020) e Azevedo et al. (2020) verificaram a eficiência deste ácaro predador sobre *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) em espinafre e tomate, respectivamente. Além disso, Azevedo et al. (2020) verificaram que a liberação do ácaro predador junto com nematoide de vida livre, para servir como um suplemento alimentar, pode auxiliar na eficiência do controle de *M. incognita*.

O ácaro *Protogamasellopsis zaheri* Abo Shnaf, Castilho e Moraes (Mesostigmata: Rhodacaridae) também demonstrou resultados promissores em teste de predação, parâmetros biológicos e em ensaios “in vitro” de eficiência no controle de *M. incognita* (Prado, 2018). Além de fitonematoides, *P. zaheri* preda diferentes organismos que ocorrem no solo, como tripes, ácaros Astigmatina e nematoide de vida livre (Castilho et al., 2009a). Em teste em casa de vegetação com a cultura da soja e infestação de *P. brachyurus*, verificou-se uma diminuição de até 65% deste fitonematoide com a liberação de *P. zaheri* (Castilho, s.d.). Bioensaios realizados em laboratório com *P. zaheri* demonstrou que este ácaro predador preda principalmente ovos e J2 do NCS, com maior oviposição, sem interferência nos parâmetros biológicos e reprodutivos quando analisados a tabela de fertilidade para essas presas, sendo assim considerado como um possível agente de controle desta praga (Capítulo 2 desta Dissertação).

Portanto, conhecendo sobre o potencial destes ácaros edáficos em predarem fitonematoides, com resultados promissores em laboratório, o presente estudo teve como objetivo geral avaliar a eficiência de *P. zaheri* e *S. scimitus* no controle de NCS em testes de casa de vegetação, além de

determinar se o nematoide de vida livre poderia ser utilizado para melhorar a eficácia do predador *P. zaheri*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Colônias

Espécimes de *P. zaheri* e *S. scimitus* foram obtidos de colônias estabelecidas em 2005 na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), com ácaros coletados em Piracicaba, estado de São Paulo, a partir de compostos comumente usados na produção de cogumelos e em vasos de feijão, respectivamente. As colônias foram criadas em unidades semelhantes às descritas por Freire e Moraes (2007), a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $95 \pm 5\%$ UR e no escuro, e alimentada com o ácaro *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Astigmatina: Acaridae), e com o nematoide de vida livre *Rhabditella axei* (Cobbold) (Nematoda: Rhabditidae).

Tyrophagus putrescentiae foi alimentado com ração comercial para cães (Deli Dog ®) em unidades separadas semelhantes às descritas por Freire e Moraes (2007). Uma colônia do nematoide *R. axei* foi mantida em uma unidade de criação composta potes de plástico na qual pedaços de vagens de feijão comum, *Phaseolus vulgaris* L., e um pequeno volume de água destilada eram adicionados semanalmente, para manter as vagens embebidas e apodrecendo.

O inóculo de NCS foi obtido de uma colônia mantida pelo Laboratório de Nematologia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, estado de São Paulo. A colônia foi estabelecida com nematoides coletados em 2011 em Primavera do Leste, estado de Mato Grosso, Brasil, e mantidos em vasos de soja suscetível (cultivar PY95R45) em casa de vegetação. Essa população foi caracterizada como pertencente à raça 3 (Riggs e Schmitt, 1988).

Para o início da multiplicação de *H. glycines* utilizado neste experimento foi coletado solo de diferentes vasos estoque do Laboratório de Nematologia. Para a obtenção dos ovos, forma inoculada, foi utilizado primeiramente a metodologia de extração de cisto em solo seco. Após a secagem do solo, foi utilizado 50 cm³ de solo e adicionado água até completar dois litros, a solução foi homogeneizada e permaneceu em decantação por cinco minutos, e o cisto

(precipitado) foi vertida em peneira 200 mesh (75 μm). Em seguida, os cistos foram esmagados para a extração dos ovos com o auxílio de um tubo de ensaio de vidro e coletados em um conjunto de peneira de 200 mesh (75 μm), aninhada sobre uma peneira de poro de 500 mesh (. Após a extração dos ovos, Calin foi adicionado na proporção (1 g: 100 mL), recolhido na centrífuga por 5 min a 1.750 rpm. Após esse processo, o sobrenadante foi descartado e uma solução de sacarose (400 g de açúcar em 750 mL de água) foi adicionada; o material foi levado novamente para a centrífuga por um período de 1 minuto a 1.750 rpm, recuperando agora o sobrenadante em uma peneira 500 mesh (25 μm) (Jenkins, 1964). Para determinar o volume que continha 5.000 ovos de NCS, a densidade foi avaliada em cinco diferentes amostras.

2.2 Experimento em casa de vegetação

O experimento foi realizado em casa de vegetação do setor de Fitossanidade da FCAV/UNESP. Em casa de vegetação, em condições ambientais não controladas, no dia 05 de fevereiro de 2020, foram semeadas quatro plantas de soja suscetível ao NCS (cultivar PY95R45) em vasos de 8000 cm^3 . O substrato utilizado para a realização do experimento e desenvolvimento da cultura correspondia a uma mistura de uma parte de solo (Latosolo Vermelho-Escuro) para três partes de areia, esterilizado em autoclave, e mantidos em repouso por 48 horas após a esterilização. Após o repouso foi adicionado ao substrato 300 $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ de NPK 08-28-16. Diariamente as plantas foram irrigadas com o auxílio de uma mangueira sobre baixa pressão. A temperatura máxima e mínima do experimento foram $29,2\pm 0,19$ e $16,9\pm 0,23$, respectivamente. Os elementos meteorológicos utilizados neste trabalho, foram extraídos de um conjunto de dados pertencentes ao acervo da área de Agrometeorologia do Departamento de Ciências Exatas – FCAV/UNESP.

Durante o experimento foram realizadas aplicações de produtos químicos para o controle de insetos pragas e doenças. Para evitar os efeitos negativos destes produtos químicos na fauna do solo, os vasos foram cobertos por EVA antes de cada aplicação e removido um dia depois.

Cinco dias após o plantio, todas as plantas semeadas foram inoculadas com cinco mil ovos de *H. glycines*, e em seguida, o solo foi coberto com palha

simulando o plantio direto, ocorrente em grandes áreas cultivadas no Brasil. Para avaliar o potencial dos ácaros predadores no controle do NCS foram estabelecidos cinco tratamentos:

- 1) Sem nenhum tipo de controle (Testemunha)
- 2) Liberação de *P. zaheri*
- 3) Liberação de *P. zaheri* + NVL (nematoide de vida livre)
- 4) Liberação de *S. scimitus*
- 5) Aplicação de fluopiram 500 g/L (100 mL de produto comercial/100 kg de semente).

No mesmo dia da inoculação única de NCS, iniciou a liberação dos ácaros predadores e ao longo do experimento foram liberados 30 ácaros predadores por planta a cada 7 dias, totalizando em 450 ácaros por tratamento liberados em 15 etapas. Para a liberação de *P. zaheri* foram colocados os ácaros em placas de petri e deixados próximos as plantas de soja, a fim de proporcionar o caminhamento livremente dos ácaros, para o *S. scimitus* foram colocados em ponteira de pipeta de 1 microlitro e colocados próximos as plantas para que ocorresse o caminhamento natural.

No tratamento em que foi utilizado NVL, foram inoculados cerca de 10.000 indivíduos em 2 mL de meio por planta, três vezes por semana. A aplicação do produto químico também foi realizada no mesmo dia da inoculação do NCS. O produto fluopiram está registrado no Ministério da Agricultura e do Abastecimento (MAPA) para *P. brachyurus*, porém em fase de registro temporário especial para o NCS.

O experimento foi conduzido do início de fevereiro até o final de maio de 2020. As liberações de ácaros edáficos predadores foram realizadas até o final de abril, três semanas antes do término do experimento, seguindo metodologia de Azevedo et al. (2020), mas o fornecimento de NVL com seu meio de cultura continuou até o final do experimento.

Os testes foram realizados em três fases experimentais: 1) até os 40 dias após o plantio; 2) até os 70 dias após o plantio; 3) até a colheita. A unidade experimental foi constituída por cada planta de soja, semeados nas condições descritas acima. Para cada fase experimental foram realizados quatro blocos ao acaso, sendo que cada bloco continha dois vasos com quatro plantas cada. Em

todas as fases experimentais foram analisadas as densidades populacionais do NCS e parâmetros biométricos das plantas, seguidos de parâmetros de produtividade no estágio de maturação fisiológica dos grãos.

Na fase experimental 1, as plantas de soja foram colhidas quando estavam com 40 dias após o plantio e neste período as variáveis agronômicas analisadas foram: comprimento de raiz (cm), massa de raiz (g), diâmetro de colo de colmo (mm), altura da parte área (cm), peso úmido da parte área (cm) e peso seco da parte área (cm). As variáveis nematológicas foram: análise de cisto e J2 no solo, e análise de ovos e demais formas do NCS na raiz. E para a contagem de ácaros foi realizada a extração após o solo ser colocado em funil de Berlese.

Na fase experimental 2, as plantas de soja foram colhidas quando estavam com 70 dias após o plantio e neste período as variáveis agronômicas analisadas foram: comprimento de raiz (cm), peso de raiz (g), diâmetro de colmo (mm), altura da parte área (cm), peso úmido da parte área (cm), peso seco da parte área (cm), contagem de vagens por planta; peso úmido de vagens/planta (g), peso seco de vagens/planta (g). As variáveis nematológicas foram: análise de cisto e J2 no solo, e análise de ovos e demais formas do NCS na raiz. E para a contagem de ácaros foi realizada a extração após o solo ser colocado em funil de Berlese.

Na fase experimental 3, as plantas de soja foram colhidas quando estavam em maturação fisiológica plena, para assim, analisar parâmetros agronômicos e eficiência dos ácaros edáficos sobre o fitonematoides. As variáveis agronômicas analisadas foram: comprimento de raiz (cm), peso de raiz (g), diâmetro de colo de colmo (mm), altura da parte área (cm), peso úmido da parte área (cm), peso seco da parte área (cm), número de vagens/planta, número de vagens com três, dois e um grão/planta; peso úmido de vagens/planta; peso seco de vagens/planta e peso de grãos/planta. As variáveis nematológicas foram: análise de cisto e J2 no solo, e análise de ovos e demais formas do NCS na raiz. E para a contagem de ácaros foi realizada a extração após o solo ser colocado em funil de Berlese.

2.3 Descrição de metodologias avaliadas

2.3.1 Análises biométricas da soja

Para a avaliação do comprimento de raiz (cm), foram retiradas as plantas de soja dos vasos com cuidado, destorroando o solo aderido e em seguida, lavadas cuidadosamente em água corrente e secas em papel absorvente; para medir o comprimento de raiz foi utilizado uma trena métrica de 5 metros. Após a medição das raízes, as mesmas foram pesadas em balança semi-analítica e reservadas para realização da análise nematológica.

O diâmetro de colo de colmo (mm) foi determinado utilizando um paquímetro digital. A altura de planta foi determinada utilizando uma trena métrica de 5 metros medindo-se do nível do solo até a última folha da planta.

A parte aérea das plantas foram separadas das raízes e encaminhadas ao laboratório para a pesagem do peso úmido em balança semi-analítica. Em seguida, foram acondicionadas em sacos de papel kraft e postas em estufa à temperatura de 65 °C, até atingirem peso constante, para a obtenção do peso seco da parte aérea.

Os parâmetros de número de vagens por planta e número de vagens com um, dois e três grãos foram estabelecidos a partir de contagem individual de tais variáveis por planta. O peso úmido de vagens foi determinado a partir da retirada de todas as vagens das hastes de soja, seguida por identificação e pesagem em balança semi-analítica. Em seguida, as vagens por planta foram acondicionadas em sacos de papel kraft e postas em estufa temperatura de 65°C, até atingirem peso constante, para a obtenção do peso seco de vagens.

Após este procedimento, foi realizado o debulhamento manualmente dos grãos de soja e realizados a pesagem em balança analítica, seguida de verificação de umidade dos grãos em medidor de umidade de grãos portátil, para posteriormente ser realizada a produtividade de grãos com umidade corrigida para 14%, como segue fórmula abaixo:

$$MC = \frac{(100 - UI) \times MI}{100 - UC}$$

Onde: MC – massa corrigida;

MI – massa inicial;

UI = umidade inicial;

UC = umidade corrigida.

Os resultados de produtividade são apresentados em $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ e $\text{sc}\cdot\text{ha}^{-1}$.

2.3.2 Análises nematológicas

Para avaliação de fêmeas de NCS nas raízes foi retirada as plantas de soja dos vasos com cuidado, destorroando o solo aderido e em seguida, lavadas cuidadosamente em água corrente e secas em papel absorvente; após este procedimento foi realizada a contagem de fêmeas de cisto por raiz com auxílio de um microscópio estereoscópio (Machado et al., 2019).

Para a extração de cistos no solo foi realizada a metodologia de extração de cistos a partir de amostras secas. Para isso, foi coletado 100 cm^3 de solo por amostra, sendo deixados secar a sombra por um período de 24 a 48 horas. Após este período foi transferido a amostra de solo a um béquer de dois litros, completando o volume com água, seguido de homogeneização e vertendo o material em suspensão em um conjunto de peneira de $25\text{ }\mu\text{m}$ pore (200 mesh). No final da extração os cistos foram contados em microscópio estereoscópio (Machado et al., 2019).

A extração de nematoide no solo foi realizada pela metodologia de flutuação-centrifugação proposta por Jenkins (1964). Foram coletados 100 cm^3 de solo por amostra e homogeneizado em 500 mL de água. Em seguida a suspensão foi vertida em um conjunto de peneira de 100 mesh ($150\text{ }\mu\text{m}$ pore) sobre 500 mesh ($25\text{ }\mu\text{m}$ pore). O material retirado na peneira de 500 mesh foi transferido para tubo de centrifuga e em seguida levados a centrifuga por 5 min a 1.750 rpm. Após esse processo, o sobrenadante foi descartado e uma solução de sacarose (400 g de açúcar em 750 mL de água) foi adicionada; o material foi levado novamente para a centrífuga por um período de 1 minuto a 1.750 rpm, recuperando agora o sobrenadante em uma peneira de 500 mesh ($25\text{ }\mu\text{m}$ pore). No final a amostra foi analisada e contabilizada em microscópio biológico binocular.

A extração de nematoide na raiz foi realizada pela metodologia de trituração seguida de flotação e centrifugação proposta por Coolen e D'Herde

(1972). Após a coleta de raízes do solo, as mesmas foram lavadas cuidadosamente com auxílio de água corrente e secas em papel absorvente. Em sequência foram cortadas em pedaços de 1,0 cm e colocadas em liquidador com adição de água, para a trituração, por um período de um minuto aproximadamente. Após a trituração, a suspensão foi vertida em um conjunto de peneira de 100 mesh (150 μ mpore) sobre 500 mesh (25 μ mpore). O material retirado na peneira de 500 mesh (25 μ mpore) foi transferido para tubo de centrifuga e em seguida levados a centrifuga por 5 min a 1.750 rpm. Após esse processo, o sobrenadante foi descartado e uma solução de sacarose (400 g de açúcar em 750 mL de água) foi adicionada; o material foi levado novamente para a centrífuga por um período de 1 minuto a 1.750 rpm, recuperando agora o sobrenadante em uma peneira de 500 mesh (75 μ mpore). No final a amostra foi analisada e contabilizada em microscópio biológico binocular.

2.3.3 Número de ácaros

Para a avaliação do nível populacional de ácaros edáficos foram coletados 500 cm³ de solo homogeneizado. Nas fases experimentais foram retiradas oito amostras por tratamento, e na fase experimental 3, 16 amostras por tratamento. As amostras foram encaminhadas ao laboratório para a extração dos ácaros em funis de Berlese durante sete dias, sendo os ácaros retidos em recipiente contendo álcool etílico 70% (Oliveira et al., 2001). Após este período foi realizada a contagem dos ácaros edáficos em microscópio estereoscópio.

2.3.4 Análise estatística

Os dados foram observados e retirados os “outliers”, sendo submetidos aos testes de Bartlett para verificação de homocedasticidade (PROC GLM) e ao teste de normalidade Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE), e quando os mesmos não apresentaram estas premissas foram transformados ($\sqrt{x + 0,5}$). Subsequente, os dados foram conduzidos a análise de variância (PROC ANOVA). As médias quando significativas foram comparadas pelo teste de Tukey (P > 0,05), sendo realizadas as análises pelo software SAS® 9.3 (SAS INSTITUTE, 2015).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Fase experimental 1

Na fase experimental 1 (40 dias após o plantio), foram observadas diferenças entre os parâmetros biométricos da planta de soja entre os tratamentos avaliados, principalmente em relação a testemunha (Tabela 1). As plantas da testemunha apresentaram menores valores em todos os parâmetros avaliados, exceto para altura de plantas, indicando que o NCS prejudicou o desenvolvimento fisiológico inicial da cultura.

Na variável altura de planta, o tratamento com nematicida Fluopiram 500 SC apresentou um menor porte ($F=3,23$; $P=0,0236$). Apesar de não ter apresentado fitotoxicidade e influência na emergência de plântulas, houve apenas um retardo de crescimento na parte aérea da planta. Possivelmente a planta despreendeu energia para o desenvolvimento radicular, onde observa-se que o nematicida apresentou diferença significativa perante os outros tratamentos neste período inicial da cultura ($F=17,38$; $P<0,001$), com valores superiores.

Tabela 1. Média (\pm EP) de altura de plantas (AP), diâmetro de colo de colmo (DCC), comprimento de raiz (CR) e peso de raiz (PR) aos 40 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	AP (cm)	DCC (mm)	CR (cm)	PR (g)
1 Testemunha	29,6 \pm 1,4 ¹ ab	3,7 \pm 0,1 ¹ b	46,8 \pm 1,0 ^{1,2} b	17,5 \pm 0,5 ^{1,2} c
2 Pz	32,0 \pm 1,2 a	4,9 \pm 0,2 a	58,0 \pm 0,5 a	21,0 \pm 2,1 bc
3 Pz + Ra	31,5 \pm 0,8 a	5,0 \pm 0,2 a	42,7 \pm 1,3 b	17,0 \pm 0,6 c
4 Ss	31,4 \pm 0,9 a	4,7 \pm 0,2 a	48,4 \pm 1,8 b	29,0 \pm 1,8 a
5 Fluopiram 500 SC	26,4 \pm 1,8 b	5,1 \pm 0,2 a	57,6 \pm 2,6 a	24,9 \pm 1,4 ab
F	3,23	7,43	17,38	13,41
Pr > F	0,0236	0,0002	<0,001	<0,001

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ²Dados transformados.

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

Em relação ao peso radicular houve diferenças significativas entre os tratamentos ($F= 13,41$; $P<0,001$), sendo observado maior desenvolvimento de

radicelas no tratamento em que foi liberado o ácaro predador *S. scimitus*, com menor desenvolvimento de radicelas na testemunha e quando liberados *P. zaheri* suplementados com NVL. Acredita-se que o NVL foi fonte inicial de alimento para *P. zaheri*, visto que, é uma fonte usual em criação laboratorial (Azevedo et al., 2019), buscando em um segundo momento pelo NCS.

Em estudos laboratoriais de predação com o ácaro *P. zaheri*, suplementado com NVL, sobre diferentes estádios de desenvolvimento de NCS, observou-se o desenvolvimento biológico do predador e oviposição. Esses fatores indicaram a predação (Capítulo 2).

O peso úmido ($F=1,41$; $P=0,2342$) e seco da parte área ($F=1,85$; $P<0,140$) não sofreram influências neste primeiro momento de avaliação perante as infestações de NCS. Os danos do NCS são observáveis na parte área, principalmente na fase reprodutiva (Wrather e Mitchum, 2010), visto que, na fase vegetativa da soja ocorre o completo desenvolvimento radicular, desprendendo deste modo energia e nutrientes para o desenvolvimento radicular, onde é cessado na fase reprodutiva, a qual, inicia-se a de produção dos grãos (Neumaier, 2000), facilitando observações visuais de injúrias causadas principalmente em altas infestações (Wrather e Mitchum, 2010).

O número de cistos viáveis no solo foi diferente entre os tratamentos ($F=5,07$; $P=0,025$) (Tabela 2), com eficiência de controle acima de 60% para os tratamentos com ácaros edáficos, com acréscimo de 6% de eficiência de controle quando o predador foi suplementado NVL. Esse melhor resultado com a utilização de NVL foi similar ao de outros estudos com ácaros predadores (Azevedo et al., 2019; Azevedo et al., 2020).

Tabela 2. Média (\pm EP) do número de cistos viáveis em 100 cm³ de solo (N°CVS) e porcentagem de eficiência de controle de cistos viáveis em 100 cm³ de solo (ECCVS) aos 40 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	N°CVS	ECCVS
1 Testemunha	3,0 \pm 0,4 ^{1,2} b	
2 Pz	1,0 \pm 0,3 a	62%
3 Pz + Ra	0,7 \pm 0,3 a	69%
4 Ss	0,7 \pm 0,3 a	75%
5 Fluopiram 500 SC	1,2 \pm 0,3 ab	56%
F	5,07	
Pr > F	0,0025	

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

Os níveis totais de NCS em raízes apresentaram diferença significativa entre os tratamentos ($F=19,37$; $P<0,0001$) (Tabela 3), com os melhores resultados de controle nos tratamentos com liberações apenas de predadores ou aplicação do produto químico. Entretanto, o tratamento com ácaro predador *P. zaheri* suplementado com NVL teve infestações nas raízes semelhante a testemunha. Esse resultado soma-se ao que ocorreu com o peso radicular da soja, o qual os tratamentos apresentaram resultados semelhantes, e reforça a ideia de que NVL foi fonte inicial de alimento para *P. zaheri*, com este buscando em um segundo momento pelo NCS.

Contudo, pode-se afirmar a alimentação de *P. zaheri* sobre NCS, no tratamento com suplementação de NVL, uma vez que houve reduções de cisto viáveis. Esse fator auxilia na redução da população de NCS, pois este não consegue completar seu ciclo de desenvolvimento.

Tabela 3. Média (\pm EP) do número total de *H. glycines* em 10 g de raiz (N°T), porcentagem de eficiência de controle total de *H. glycines* por 10g de raiz (ET) e do número total de *H. glycines* por raiz total (N° THGTR) aos 40 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	N° T	ET %	N° THGTR
1 Testemunha	172,2 \pm 34,7 ^{1,2b}		300,0 \pm 50,3 ^{1,2c}
2 Pz	52,1 \pm 9,4 a	64,1% ³	102,4 \pm 16,7 bc
3 Pz + Ra	121,8 \pm 13,8 b	15,2%	203,3 \pm 20,3 ab
4 Ss	55,7 \pm 6,1 a	61,4%	155,3 \pm 11,0 ab
5 Fluopiram	62,0 \pm 3,8 a	52,8%	144,4 \pm 18,6 a
F	19,37		8,35
Pr > F	<0,0001		0,0001

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

Em relação a população total de J2 do NCS no solo, esta foi maior apenas no tratamento com liberação de *S. scimitus* (F=7,06; P<0,0003) (Tabela 4). Este resultado indica que com 40 dias após o plantio da soja, nem os ácaros predadores nem o produto químico foram eficientes no controle de J2 do NCS.

Tabela 4. Média (\pm EP) do número de juvenil (J2) de *H. glycines* em 100 cm³ de solo (N° JS), porcentagem de eficiência de controle de juvenil de *H. glycines* em 100 cm³ de solo (ECJS), número de nematoide de vida livre em 100 cm³ de solo (N° NVLS) e número de ácaros em 500 cm³ de solo (N° AS) 40 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	N°JS	ECJS%	N° NVLS	N°AS
1 Testemunha	328 \pm 29,7 ¹ a		11,5 \pm 6,4 ^{1,2} b	0,3 \pm 0,1 b
2 Pz	273 \pm 28,1 a	14%	99,0 \pm 18,6 a	4,0 \pm 0,6 a
3 Pz + Ra	290 \pm 44,9 a	4%	109,0 \pm 12,8 a	9,1 \pm 2,7 a
4 SS	483,5 \pm 27,9 b	0%	24,0 \pm 8,6 b	4,9 \pm 1,2 a
5 Fluopiram 500 SC	312,5 \pm 25,5 a	0%	16,0 \pm 4,3 b	0,1 \pm 0,1 b
F	6,93		18,94	14,67
Pr > F	0,0003		<0,0001	<0,0001

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

Em todos os tratamentos foram observados NVL, mesmo não tendo sido liberados, e ainda confirmado em análises de solo sua ausência no início do experimento. A fonte destes NVL pode ter sido a água de irrigação.

O número de ácaros recuperados no solo apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($F=14,67$; $P<0,0001$). Nos tratamentos, testemunha e Fluopiram 500 SC não ocorreu a liberação de ácaros, entretanto, houve a recuperação de *S. scimitus*. O ácaro *S. scimitus* geralmente fica na rizosfera do solo, ou seja, mais próximo às raízes na primeira parte do solo (Enkegaard et al., 1997; Cabrera et al., 2005), diferentemente do *P. zaheri* que se aprofunda mais no solo (Castilho et al., 2009a). Por isso, acredita-se que por serem mais ativos, os *S. scimitus* tenham se locomovido para outros tratamentos.

3.2 Fase experimental 2

Nos parâmetros biométricos da soja com setenta dias de cultivo após o plantio ocorreram diferenças significativas apenas no peso de raízes ($F=2,06$; $P=0,1076$), e no peso úmido ($F=4,72$; $P=0,0038$) e seco da parte aérea ($F=3,30$; $P=0,0214$) (Tabela 5).

Tabela 5. Média (\pm EP) de peso de raiz (PR), peso úmido parte aérea (PPA) e peso seco parte aérea (PSA) aos 70 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	PR (g)	PPA (g)	PSA (g)
1 Testemunha	19,5 \pm 2,9 ^{1,2} b	19,4 \pm 0,8 ¹ b	4,6 \pm 0,4 ¹ b
2 Pz	28,6 \pm 4,4 ab	21,8 \pm 1,5 ab	6,0 \pm 0,6 ab
3 Pz + Ra	39,6 \pm 7,7 a	26,0 \pm 1,3 a	6,8 \pm 0,4 a
4 Ss	28,5 \pm 7,1 ab	21,6 \pm 1,3 ab	5,8 \pm 0,4 ab
5 Fluopiram 500 SC	28,1 \pm 3,5 ab	18,4 \pm 1,6 b	5,0 \pm 0,5 ab
F	2,06	4,72	3,30
Pr > F	0,1076	0,0038	0,0214

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ²Dados transformados.

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

O tratamento com o ácaro *P. zaheri* + NVL proporcionou maior peso de raízes e formação de radicelas. Acredita-se que esteja relacionado a suplementação de NVL, pois ao liberar o NVL no solo na solução que o contem possui restos de vagem de feijão branco que proporciona um aumento da matéria orgânica no meio, e secundariamente aeração no solo e formação de radicelas. Pode-se observar que a testemunha obteve um menor peso de raiz, podendo ser associado a degradação de raízes causado pelo NCS. Além disso, a testemunha foi a que sofreu maiores perdas no peso úmido e seco da parte área, também indicando os danos provocados pelo NCS.

Na avaliação aos setenta dias após o plantio observou diferença significativa entre os tratamentos para o número de cistos viáveis no solo ($F=23,76$; $P<0,0001$) (Tabela 6). Os tratamentos com maior eficiência de controle foram os que utilizaram o produto químico e o ácaro predador *P. zaheri*, suplementado ou não com o NVL. O Fluopiram 500 SC tem uma longevidade ampla no solo e bons resultados de controle para *P. brachyurus* (Marini et. al., 2019), deste modo, o produto permaneceu em ação no solo.

Tabela 6. Média (\pm EP) de número de cisto viável em 100 cm³ de solo (N°CVS) e porcentagem de eficiência de controle de cisto viável em 100 cm³ de solo (ECCVS) aos 70 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	N°CVS	ECCVS
1 Testemunha	23,2 \pm 1,9 ^{1,2} c	
2 Pz	6,0 \pm 1,3 ab	70% ³
3 Pz + Ra	6,7 \pm 1,3 ab	71%
4 Ss	10,7 \pm 1,3 b	42%
5 Fluopiram 500 SC	3,0 \pm 1,1 a	86%
F	23,76	
Pr > F	<0,0001	

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

As infestações de NCS nas raízes de soja, com setenta dias após o plantio, não tiveram diferença significativa entre os tratamentos empregados para o controle do NCS, diferindo apenas da testemunha ($F=6,38$; $P=0,0006$) (Tabela 7). Assim, o emprego de ácaros predadores edáficos proporcionaram

um bom controle. No presente estudo os tratamentos com ácaros edáficos foram comparados com um tratamento químico, com um amplo período residual e longevidade no solo.

Tabela 7. Média (\pm EP) do número total de *H. glycines* em 10 g de raiz (N° TR), porcentagem de eficiência de controle total de *H. glycines* por 10g de raiz (ECTR), do número total de *H. glycines* por raiz total (N° THGTR) e eficiência de controle total de *H. glycines* por raiz total (ECTHGTR) aos 70 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	N° TR	ECTR	N° THGTR	ECTHGTR%
1 Testemunha	1906,4 \pm 340,1 ^{1,2b}		3104,4 \pm 239,5 ^{1 b}	
2 Pz	992,6 \pm 174,1 a	37,9% ³	2507,6 \pm 243,8 ab	12,9% ³
3 Pz + Ra	646,6 \pm 55,9 a	56,6%	2541,5 \pm 251,9 ab	14,1%
4 Ss	888,2 \pm 140,1 a	53,6%	2000,1 \pm 209,1 a	33,3%
5 Fluopiram 500 SC	734,9 \pm 144,4 a	51,1%	1795,9 \pm 193,8 a	39,6%
F	6,38		5,03	
Pr > F	0,0006		0,0026	

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

O nível de J2 de NCS no solo apresentou diferença significativa entre os tratamentos ($F=1,27$; $P=0,2996$) (Tabela 8), observando-se que o controle químico teve uma população menor de J2, quando comparados com os tratamentos com ácaros predadores. Esse fator pode estar atrelado ao período residual do produto químico.

Em relação ao total de NCS nas raízes e solo, houve diferença significativa entre os tratamentos ($F= 0,0214$; $P=<0,0001$). Observa-se que, resumindo estes resultados, o químico apresentou menor população do NCS, em comparação aos ácaros predadores. *Protogamasellopsis zaheri* quando suplementado com NVL apresentou menor população de NCS do que quando liberado sozinho.

Tabela 8. Média (\pm EP) de juvenil de *H. glycines* em 100 cm³ de solo (N° JS), porcentagem de eficiência de controle de juvenil de *H. glycines* em 100 cm³ de solo (ECJS), número total de diferentes estádios de desenvolvimento de *H. glycines* em 100cm³ de solo e em 10g de raiz (N° HGSR), eficiência de controle do total de diferentes estádios de desenvolvimento de *H. glycines* em 100cm³ de solo e em 10g de raiz (ECHGSR) aos 70 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	N° JS	ECJS	N° HGSR	ECHGSR
1 Testemunha	679,8 \pm 88,3 ^{1,2} b		2586,3 \pm 302,6 ¹ c	
2 Pz	778,7 \pm 108,0 b	0% ³	1771,3 \pm 230,8 bc	28% ³
3 Pz + Ra	642,2 \pm 153,7 b	0%	1373,9 \pm 159,2 ab	48%
4 Ss	420,5 \pm 26,7 ab	30%	1308,7 \pm 156,2 ab	51%
5 Fluopiram 500 SC	185,5 \pm 21,1 a	69%	920,4 \pm 161,01a	59%
F	10,50		9,07	
Pr > F	<0,0001		<0,0001	

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05); ²Dados transformados ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

Os NVL novamente foram encontrados em todos os tratamentos (F= 12,89; P<0,0001) (Tabela 9), mesmo tendo sido liberado apenas em um deles. O tratamento suplementado semanalmente com o NVL apresentou maiores indivíduos avaliados em comparação aos demais.

O número de ácaros edáficos encontrados nos tratamentos apresentou diferenças significativas (P=8,56; P= <0,0001). Como na avaliação aos 40 dias após o plantio, aos 70 dias também foram observados indivíduos de *S. scimitus* na testemunha e no tratamento com Fluopiram 500 SC.

Tabela 9. Média (\pm EP) do número de nematoide de vida livre em 100 cm³ de solo (N° NVLS), e do número de ácaros em 500 cm³ de solo (N° AS) aos 70 dias após o plantio (DAP) de soja.

Tratamentos	N° NVLS	N° AS
1 Testemunha	52,5 \pm 14,4 ^{1,2} bc	1,7 \pm 0,5 ^{1,2} bc
2 Pz	99,0 \pm 18,6 ab	5,3 \pm 1,3 a
3 Pz + Ra	109,0 \pm 12,8 a	2,5 \pm 0,2 a
4 Ss	24,0 \pm 8,6 c	1,9 \pm 0,1 ab
5 Fluopiram 500 SC	16,0 \pm 4,3 c	1,1 \pm 0,1 c
F	12,89	8,56
Pr > F	<0,0001	<0,0001

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ²Dados transformados ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

3.3 Fase experimental 3

Nos parâmetros biométricos da soja no final do ciclo e da colheita, foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos avaliados para altura de planta ($F=2,47$; $P=0,0516$) e peso de raiz ($F= 5,39$; $P= 0,007$) (Tabela 10) com maiores valores na testemunha.

O número de vagens por planta e peso úmido de vagem por planta não diferiram entre os tratamentos. Porém, observou-se diferença significativa para a variável peso de vagem seca por planta ($F=3,12$; $P=0,0198$), sendo os tratamentos com liberação de *S. scimitus* ou *P. zaheri* + NVL, além do controle químico, com maiores valores para esta variável. Como observado ao longo do estudo, o controle químico além de apresentar maior eficiência nas avaliações realizadas, apresentou maior rendimento de vagens.

Tabela 10. Média (\pm EP) de altura de plantas (AP), peso de raiz (PR), na colheita da cultura da soja (R8).

Tratamentos	AP (cm)	PR (g)	PSVP
1 Testemunha	48,9 \pm 1,2 ¹ a	11,5 \pm 1,7 ^{1,2} a	9,1 \pm 0,4 ¹ b
2 Pz	42,9 \pm 1,7 b	6,3 \pm 0,5 b	8,6 \pm 0,5 b
3 Pz + Ra	48,2 \pm 1,5 ab	6,1 \pm 0,7 b	9,3 \pm 0,5 ab
4 Ss	46,0 \pm 1,9 ab	6,9 \pm 0,4 b	9,3 \pm 0,4 ab
5 Fluopiram 500 SC	45,4 \pm 1,0 ab	7,1 \pm 0,7 b	10,7 \pm 0,4 a
F	2,47	5,39	3,12
Pr > F	0,0516	0,0007	0,0198

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05); ²Dados transformados.

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

Nas variáveis número de vagens com um, dois e três grãos, e número de grãos por planta, não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 11). Porém, foi observada diferença no peso de grãos por planta (corrigido a umidade a 14%) e nas estimativas de produção em quilos e sacas por hectare (F=3,78; P=0,0074), com maior produção no tratamento com controle químico e com liberação de *P. zaheri* + NVL. Os resultados inferem que as diferenças na produção entre os tratamentos estão intrinsecamente relacionadas ao enchimento dos grãos. Por isso, o transporte de energia e nutrientes de alguns tratamentos foram afetados influenciando o enchimento de grãos, fator atrelado pelas injúrias que o NCS causa às raízes de soja, dificultando e/ ou bloqueando os recursos energéticos às partes aéreas, devido ao parasitismo do fitonematoide.

Tabela 11. Média (\pm EP) do peso de grãos por planta corrigido a 14% de umidade (PGP), estimativa de produtividade em kg ha⁻¹, corrigido a 14% de umidade (EP) e estimativa de produtividade em sc ha⁻¹, corrigido a 14% de umidade (EP) na colheita da cultura da soja (R8).

Tratamentos	PGP (g)	EP (kg ha ⁻¹)	EP (sc ha ⁻¹)
1 Testemunha	8,0 \pm 0,4 ¹ b	2985,4 \pm 172,5 ¹ b	49,7 \pm 2,9 ¹ b
2 Pz	7,8 \pm 0,3 b	2881,5 \pm 111,6 b	48,0 \pm 1,8 b
3 Pz + Ra	8,7 \pm 0,6 ab	3244,8 \pm 234,2 ab	54,1 \pm 3,9 ab
4 Ss	8,2 \pm 0,5 b	3058,1 \pm 196,4 b	50,9 \pm 3,3 b
5 Fluopiram 500 SC	10,2 \pm 0,4 a	3770,0 \pm 164,9 a	62,8 \pm 2,7 a
F	3,78	3,78	3,78
Pr > F	0,0074	0,0074	0,0074

¹ Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05).

O tratamento *P. zaheri* + NVL foi similar ao controle químico, mostrando que a relação entre ácaro predador *P. zaheri* e NVL no sistema cultivado se torna positivo produtividade da cultura, indo de encontro ao proposto por Azevedo et al. (2019) e Azevedo et al. (2020). Apesar de não ter realizado análises qualitativas com os grãos, os resultados biométricos que inferem que as diferenças de produtividade estavam no peso dos grãos, nos leva a entender que houve diferenças qualitativas entre os tratamentos. Assim, o emprego de ácaros predadores edáficos pode proporcionar um controle do NCS e uma boa produção de grãos de soja.

O produto químico Fluopiram 500 SC já demonstrou boa eficiência em estudos laboratoriais para o NCS (Faske e Hurd, 2015), em campo para o nematoide das lesões na cultura da soja (Marini et al., 2019) e para o nematoide de galha em tomate em casa de vegetação (Xiaoxue et al., 2019). Além disso, também foi eficiente no controle de *P. brachyurus*, causando acréscimos de produtividade na cultura da soja (Marini et al. 2019). Esse produto pode causar paralisia em até duas horas nas espécies de *M. incognita* e *R. reniformis* em mesmas doses das empregadas no presente estudo (Faske e Hurd, 2015).

O número de cistos viáveis no solo foi diferente entre os tratamentos (F=37,10; P<0,0001) (Tabela 12). Dos agentes de controle biológico, o ácaro *P. zaheri* apresentou maior eficiência de controle do cisto. No entanto, o tratamento Fluopiram 500 SC foi o que apresentou maior eficiência de controle (57%).

Tabela 12. Média (\pm EP) de número de cistos viáveis em 100 cm³ de solo (N°CVS) e porcentagem de eficiência de controle de cistos viáveis em 100 cm³ de solo (ECCVS) na colheita da cultura da soja (R8)

Tratamentos	N°CVS	ECCVS
1 Testemunha	162,5 \pm 3,7 ^{1,2} d	
2 Pz	96,1 \pm 6,4 b	40% ³
3 Pz + Ra	117,6 \pm 8,1 bc	28%
4 Ss	128,6 \pm 5,0 cd	20%
5 Fluopiram 500 SC	68,6 \pm 4,4 a	57%
F	37,10	
Pr > F	<0,0001	

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

Na avaliação da população total de NCS nas raízes, observou-se diferenças significativas entre os tratamentos (F=4,22; P=0,0039) (Tabela 13). Entre os tratamentos estudados, o químico e o agente *P. zaheri* apresentaram as maiores eficiências de controle perante os demais, indo de encontro aos resultados encontrados para cistos viáveis no solo. Deste modo, a eficiência de redução de cisto viáveis está extremamente associada às populações nas raízes e as novas reinfestações.

Tabela 13. Média (\pm EP) do número total de *H. glycines* em 10 g de raiz (N° TR), porcentagem de eficiência de controle total de *H. glycines* por 10g de raiz (ECTR), do número total de *H. glycines* por raiz total (N° THGTR) e eficiência de controle total de *H. glycines* por raiz total (ECTHGTR) na colheita da cultura da soja (R8).

Tratamentos	N° TR	ECTR	N° THGTR	ECT HGTR
1 Testemunha	4419,4 \pm 580,8 ^{1,2} b		4243,7 \pm 487,5 ^{1,2} c	
2 Pz	2155,4 \pm 295,7 a	37% ³	1284,4 \pm 174,4 a	65% ³
3 Pz + Ra	3961,9 \pm 540,6 b	0%	2180,0 \pm 274,4 ab	29%
4 Ss	4832,6 \pm 630,8 b	0%	3364,6 \pm 287,0 bc	2%
5 Fluopiram 500 SC	3412,7 \pm 482,7 ab	0%	1924,6 \pm 188,1 ab	42%
F	4,22		17,43	
Pr > F	0,0039		<0,0001	

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; *Ss* – *Stratiolaelaps scimitus*; *Ra* – *Rhabditella axei*.

Na avaliação da população de J2 no solo, os menores índices foram encontrados na testemunha (Tabela 14). Porém, quando somados as populações de J2 do solo e as demais fases que estão nas raízes, os melhores resultados foram encontrados novamente no tratamento com liberação do *P. zaheri* sem suplementação do NVL.

Tabela 14. Média (\pm EP) de juvenis J2 de *H. glycines* em 100 cm³ de solo (N° JS), porcentagem de eficiência de controle de juvenis J2 de *H. glycines* em 100 cm³ de solo (ECJS%), número total de diferentes estádios de desenvolvimento de *H. glycines* em 100cm³ de solo e em 10g de raiz (N° HGSR), eficiência de controle do total de diferentes estádios de desenvolvimento de *H. glycines* em 100cm³ de solo e em 10g de raiz (ECHGSR%) na colheita da cultura da soja.

Tratamentos	N° JS	ECJS	N° HGSR	ECHGSR
1 Testemunha	257,5 \pm 35,0 ^{1,2} a		4676,9 \pm 592,6 1 ² b	
2 <i>Pz</i>	288,1 \pm 32,5 ab	0% ³	2443,5 \pm 293,1 a	33% ³
3 <i>Pz</i> + <i>Ra</i>	640,6 \pm 31,7 bc	0%	4593,4 \pm 560,3 b	0%
4 <i>Ss</i>	508,6 \pm 63,0 bc	0%	4700,4 \pm 587,2 b	0%
5 Fluopiram 500 SC	471,2 \pm 49,9 c	0%	3538,0 \pm 350,2 ab	0%
F	12,37		3,52	
Pr > F	<0,0001		0,0109	

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ($P > 0,05$); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; *Ss* – *Stratiolaelaps scimitus*; *Ra* – *Rhabditella axei*.

Para as populações de ácaros no solo observa-se diferenças significativas entre os tratamentos estudados ($F=31,67$; $P<0,0001$) (Tabela 15). Nos tratamentos testemunha e fluopiram 500 SC, onde não foram realizadas liberações de ácaros, novamente estes foram encontrados.

Tabela 15. Média (\pm EP) do número de nematoide de vida livre em 100 cm³ de solo (N° NVLS), e do número de ácaros em 500 cm³ de solo (N° AS) na colheita da cultura da soja.

Tratamentos	N° NVLS	N° AS
1 Testemunha	262,5 \pm 28,4 ^{1,2} a	4,2 \pm 0,8 ^{1,2} b
2 Pz	219,2 \pm 40,9 ab	13,0 \pm 1,3 a
3 Pz + Ra	125,6 \pm 19,9 b	10,6 \pm 0,9 a
4 Ss	204,6 \pm 46,1 ab	10,7 \pm 1,4 a
5 Fluopiram 500 SC	139,3 \pm 23,2 b	0,8 \pm 0,2 c
F	3,31	31,67
Pr > F	0,0149	<0,0001

¹Médias \pm erro padrão seguidas de mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey (P > 0,05); ²Dados transformados; ³Eficiência de controle calculada segundo Abbot (1925).

Pz – *Protogamasellopsis zaheri*; Ss – *Stratiolaelaps scimitus*; Ra – *Rhabditella axei*.

Os ácaros predadores têm apresentado bons resultados nos estudos de potencial de predação de pragas (Castilho et al. 2009; Castilho et al. 2015; Stirling et al. 2017; Azevedo et al. 2019; Yang et al., 2020; Azevedo et al. 2020). Esses predadores geralmente são generalistas, se alimentando de diferentes organismos presentes no solo como NVL (Castilho et al., 2009a; Moreira et al., 2015; Azevedo et al. 2018; Azevedo et al., 2019; Azevedo et al. 2020), diferentes espécies de fitonematoides (Oliveira et al., 2007; Karagoz et al. 2007; Stirling et al., 2017; Prado, 2018; Yang et al., 2020; Azevedo et al. 2020), larvas de moscas (Castilho et al., 2009b; Azevedo et al., 2018).

Por isso, uma estratégia pode ser sua liberação nas áreas de cultivo com histórico do NCS nos períodos de entressafra e não necessariamente ser liberado de modo inundativo apenas durante a safra. Neste período de entressafra, o ácaro predador poderia se alimentar de outras presas, como NVL. Com isso, espera-se que a médio e longo prazo, o controle biológico com ácaros predadores pode ser uma estratégia vantajosa, além de diminuir os impactos causados pelo abusivo uso do controle químico.

Apesar do trabalho ser conduzido neste primeiro momento com inoculações de ácaros na área de modo inundativo, mais pesquisas avaliando uma curva dose resposta são necessárias para entender o tipo de resposta funcional dos ácaros em relação ao NCS, além de estudos ecológicos com os principais organismos edáficos que ocorrem em sistemas de cultivo de soja. Por

fim, estabelecermos linhas de controle biológico com ácaros edáficos sobre diferentes condições no agroecossistema, subsequente avaliando casos isolados para recomendações de tipos de controle biológico.

REFERÊNCIAS

Abbatiello MJ (1965) A culture chamber for rearing soil mites. **Turttox News** 43:162-164.

Azevedo LH, Ferreira MP, Campos Castilho R, Cançado PHD, Moraes GJ (2018) Potential of *Macrocheles* species (Acari: Mesostigmata: Macrochelidae) as control agents of harmful flies (Diptera) and biology of *Macrocheles embersoni* Azevedo, Castilho e Berto on *Stomoxys calcitrans* (L.) and *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). **Biological Control** 128:1-8.

Azevedo LH, Leite LG, Chacon-Orozco JG, Moreira MFP, Ferreira MP, Gonzalez-Cano LM, Borges V, Rueda-Ramirez D, Moraes GJ, Palevsky E (2019) Free living nematodes as alternative prey for soil predatory mites: Na interdisciplinary case study of conservation biological control. **Biological control** 132:128-134.

Azevedo LH, Moreira MFP (2020) Combined releases of soil predatory mites and provisioning of free-living nematodes for the biological control of root-knot nematodes on 'Micro Tom tomato'. **Biological Control** 146:1-10.

Barbosa MFC, Moraes GJ (2016) Potential of astigmatid mites (Acari: Astigmatina) as prey for rearing edaphic predatory mites of the families Laelapidae and Rhodacaridae (Acari: Mesostigmata). **Experimental & Applied Acarology** 69:289-296.

Barker KR, Pederson GA, Windham GL (1998) **Plant and nematode interaction**. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 771p.

Cabrera AR, Cloyd RA, Zaborski ER (2005) Development and reproduction of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) with fungus gnat larvae (Diptera: Sciaridae), potworms (Oligochaeta: Enchytraeidae) or *Sancassania* af. *sphaerogaster* (Acari: Acaridae) as the sole food source. **Experimental & Applied Acarology** 36:71-81.

Castilho RC, Moraes GJ, Silva ES, Silva LO (2009a) Predation potential and biology of *Protogamasellopsis posnaniensis* Wisniewski & Hirschmann (Acari: Rhodacaridae). **Biological Control** 48:164-167.

Castilho RC, Moraes GJ, Silva ES, Freire RAP, Eira FC (2009b) The predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* as a control agent of the fungus gnat *Bradysia matogrossensis* in commercial production of the mushroom *Agaricus bisporus*. **International Journal of Pest Management** 55:181-185.

Castilho RC, Venancio R, Narita JPZ (2015) Mesostigmata as biological control agents, with emphasis on Rhodacaroidea and Parasitoidea. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms**. Florida: Springer, p. 1-31.

Castilho RC, Azevedo EB, Paula FF, Prado TJ, Barros ARA, Azevedo LH (2019) Ácaros predadores: uso no controle biológico de pragas e parasitos. In: Castilho RC, Rezende GF, Nascimento J, Rossi GD (Eds.) **Tópicos em Entomologia Agrícola XII**. Jaboticabal, Multipress, pp. 117–133.

Chen SY (2004) Management with biological methods. In.: Schmitt DP, Wrather JA, Riggs RD (Eds.). **Biology and management of soybean cyst nematode**. 2. ed. Missouri, USA: Schmitt & Associates of Marceline, p. 207-242.

Chen SY, Liu XZ (2005) Control of the soybean cyst nematode by the fungi *Hirsutella rhossiliensis* and *Hirsutella minnesotensis* in greenhouse studies. **Biological Control** 32:208-219.

Chen S, Kurle J, Malvick D, Potter B, Orf J (2011) **Soybean cyst nematode management guide**. University of Minnesota Extension. Disponível em: <http://www.extension.umn.edu/agriculture/soybean/soybeancyst-nematode/EFANS-Soybean-SoybeanCystNematode-WebQuality.pdf> Acesso em: 25 out. 2020.

Coolen WA, D'Herde CJ (1972) **A method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue**. Bélgica: State Nematology and Entomology Research Station, 77p.

Dunn RA (1969) Extraction of cysts of *Heterodera glycines* from soils by centrifugation in high density solutions. **Journal of Nematology** 1:7.

Enkegaard A, Sardar MA, Brodsgaard HF (1997) The predatory mite *Hypoaspis miles*: biological and demographic characteristics on two prey species, the mushroom sciarid fly, *Lycoriella solani*, and the mould mite, *Tyrophagus putrescentiae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 82:135–146.

Faske TR, Hurd K (2015) Sensitivity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* to fluopiram. **Journal of Nematology** 47:316-21.

Freire RAP, Moraes GJ (2007) Mass production of the predatory mite *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (Acari: Laelapidae). **Systematic and Applied Acarology** 12:117-119.

Freire RAP, Moraes GJ, Silva ES, Vaz AC, Castilho RC (2007) Biological control of *Bradysia matogrossensis* (Diptera: Sciaridae) in mushroom cultivation with predatory mites. **Experimental and Applied Acarology** 42:87-93.

Grigolli JFJ, Asmus GL (2014) Manejo de nematoides na cultura da soja. In.: Lourenção ALF, Grigolli JFJ, Melotto AM, Pitol C, Gitti DC, Roscoe R (Eds.). **Tecnologia e Produção: Soja 2013/2014**. Maracaju, MS: Fundação MS, p.194-203.

Jenkins WR (1964) Rapid centrifugal-flotation for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter** 48:692.

Karagoz M, Gulcu B, Cakmak I, Kaya HK, Hazir S (2007) Predation of entomopathogenic nematodes by *Sancassania* sp. (Acari: Acaridae). **Experimental and Applied Acarology** 43:85-95.

Lijuan Q, Ruzhen C, Singh G (2010) **The origin and history of soybean**. The Soybean: Botany, Production and Uses, p. 1-23.

Machado ACZ, Silva SA, Ferraz LCCB (2019) **Métodos em nematologia agrícola**. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 184p.

Marahatta SP, Wang KH, Sipes BS, Hooks CR (2012) Effects of the integration of sunn hemp and soil solarization on plant-parasitic and free-living nematodes. **Journal of Nematology** 44:72-79.

Marini PM, Souza S, Sulzbach F, Carregal LH (2019) Eficácia de Fluopiram 500 SC no controle de *Pratylenchus brachyurus* na cultura da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA. **Anais...** Caldas Novas, 2019.

Moreira GF, Moraes GJ (2015) The potential of free-living laelapid mites (Mesostigmata: Laelapidae) as biological control agents. In.: Carrillo D, Moraes GJ, Peña JE (Eds.). **Prospects for biological control of plant feeding mites and other harmful organisms.** Florida: Springer, p. 77–102.

Neumaier N, Nepomuceno AL, Farias JR, Oya T (2000) Estádios de desenvolvimento da cultura da soja. In.: Bonatto ER (Eds.). **Estresses em soja.** Passo Fundo: Embrapa Trigo, p. 19-44.

Niblack TL (2005) Soybean cyst nematode management reconsidered. **Plant Disease** 89:1020-1026.

Oliveira AR, Moraes GJ, Demétrio CGE, Nardo EAE (2001) **Efeito do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatilis* sobre Oribatida edáficos (Arachnida: Acari) em um campo de soja.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 32p.

Oliveira AR, Moraes GJ, Ferraz LCCB (2007) Consumption rate of phytonematodes by *Pergalumna* sp. (Acari: Oribatida: Galumnidae) under laboratory conditions determined by a new method. **Experimental and Applied Acarology** 41:183-189.

Prado TJ (2018) **Biologia e potencial do ácaro predador *Protogamasellopsis zaheri* (Mesostigmata: Rhodacaridae) como agente de controle do nematoide de galha *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Meloidogynidae).** 32 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Entomologia Agrícola) – Unesp, Jaboticabal.

Raina A, Danish M, Khan S, Sheikh H (2019) Role of biological agents for the management of plant parasitic nematodes. In.: Kumar P, Tiwari AK, Kamle M, Abbas Z, Singh P (Eds.). **Plant pathogens: detection and management for sustainable agriculture.** Flórida: CRC, 181-226.

Riggs RD, Schmitt DP (1988) Complete Characterization of the Race Scheme for *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology** 20:39-395.

Rondeau S, Giovenazzo P, Fournier V (2018) Risk assessment and predation potential of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) to control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bees. **PLOS ONE** 13 (12): e0208812.

SAS Institute (2015) **User`s Guide**. Cary, NC: SAS Institute Inc.

Singh G, Shivakumar B (2010) **2 the role of soybean in agriculture**. The Soybean: Botany, Production and Uses, 24p.

Stirling GR, Stirling AM, Walter DE (2017) The mesostigmatid mite *Protogamasellus mica*, an effective predator of free-living and plant-parasitic nematodes. **Journal of Nematology** 49:327-333.

Tihohod D (2000) **Nematologia Agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 372p.

Walter DE, Campbell NJH (2003) Exotic vs endemic biocontrol agents: would the real *Stratiolaelaps miles* (Berlese) (Acari: Mesostigmata: Laelapidae), please stand up. **Biological Control** 26:253-269.

Wrather JA, Koenning SR (2009) Effects of diseases on soybean yields in the United States 1996 to 2007. **Plant Health Progress** 10:1-7.

Wrather JA, Mitchum MG (2010) **Soybean cyst nematode**: Diagnosis and management. Columbia, Missouri, nos Estados Unidos. Extension Publications (MU).

Wu S, Gao Y, Xu X, Wang E, Wang Y, Lei Z (2014) Evaluation of *Stratiolaelaps scimitus* and *Neoseiulus barkeri* for biological control of thrips on greenhouse cucumbers. **Biocontrol Science Technology** 24:1110-1121.

Wu S, Zhang Z, Gao Y, Xu X, Lei Z (2016) Interactions between foliage- and soil-dwelling predatory mites and consequences for biological control of *Frankliniella occidentalis*. **Biological Control** 61:717-727.

Xiaoxue J, Jingjing L, Bei D, Huan Z, Shouan Z, Kang Q (2019) Evaluation of fluopiram for southern root-knot nematode management in tomato production in China. **Crop Protection** 122:84-89.

Yang S, Wang D, Chen C, Ling Xu C, Xie H (2020) Evaluation of *Stratiolaelaps scimitus* (Acari: Laelapidae) for controlling the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae). **Science Report** 10:5645.

CAPÍTULO 4 – Considerações Finais

O nematoide de cisto da soja (NCS) é considerado um dos principais patógenos que afetam a cultura da soja. Devido ao alto valor monetário e importância da cultura da soja no Brasil e no Mundo, plantios sucessivos ocorrem, porém, para conter as populações deste fitonematoide, diferentes estratégias devem ser empregadas. Uma delas é o emprego de controle biológico que vem sendo explorado ao longo dos últimos anos.

O emprego de ácaros predadores mostrou-se como uma ferramenta para o controle do NCS. No experimento em laboratório, foi constatado a predação de *P. zaheri* principalmente para os ovos e juvenil de segundo estágio de desenvolvimento (J2), além de não ter ocorrido alteração do desenvolvimento biológico do ácaro predador quando alimentado por estas duas diferentes presas.

Em adição, em condições de casa de vegetação houve redução populacional do NCS, principalmente do cisto, além de uma menor redução de produtividade quando comparados aos demais tratamentos, principalmente ao químico.

O presente estudo é o primeiro relato de predação de ácaros edáficos a NCS, com um ano de trabalho em condições de casa de vegetação. Deste modo, a importância da extensão da pesquisa, extrapolando para condições de campo, onde diferentes fatores podem ser avaliados para a validação e a aplicabilidade agrônômica de ácaros edáficos predadores no manejo do NCS.