

UNIOESTE
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA -
NÍVEL MESTRADO

HAMILTON SANTANA

**IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DO NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA
[*Heterodera glycines* (Ichinohe)] A PARTIR DE POPULAÇÕES DE
CAMPO E ISOLADOS MONOCÍSTICOS E RESISTÊNCIA DE
CULTIVARES COMERCIAIS À RAÇA 3**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON/PR
AGOSTO/2007

HAMILTON SANTANA

**IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DO NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA
[*Heterodera glycines* (Ichinohe)] A PARTIR DE POPULAÇÕES DE
CAMPO E ISOLADOS MONOCÍSTICOS E RESISTÊNCIA DE
CULTIVARES COMERCIAIS À RAÇA 3**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Nível Mestrado, para obtenção do título de Mestre.

ORIENTADOR: PROF. DR. CLEBER
FURLANETTO

**MARECHAL CÂNDIDO RONDON/PR
AGOSTO/2007**

PÁGINA DE APROVAÇÃO

SUBSTITUIR PELA ATA

AGRADECIMENTO

À Deus, por ter me proporcionado a oportunidade e me amparado durante as dificuldades e necessidades para mais esta etapa.

À COODETEC, por ter me proporcionado condições para a realização deste curso.

À UNIOESTE, pela realização deste curso.

Ao corpo docente do Centro de Ciências Agrárias, *Campus* de Marechal Cândido Rondon.

Aos Professores pelo empenho, dedicação e compreensão a mim dispensadas durante todo o curso.

Ao Professor e orientador Cleber Furlanetto, pela pronta dedicação, amizade, empenho, e valiosas sugestões que tornaram possíveis a elaboração deste trabalho.

Aos colegas mestrandos, pelo incentivo, companheirismo e paciência ao compreenderem nossas dificuldades e diferenças. Em especial agradeço ao colega Ely Pires, pelo companheirismo, incentivo e colaborações irrestritas.

A todos os colaboradores da Universidade, pela presteza e apoio durante a realização dos trabalhos.

Aos colegas de trabalho, pela compreensão e ajuda em minhas ausências para este curso.

À colega de trabalho Patrícia Moretti Franco da Cruz, pelo apoio e dedicação na condução dos trabalhos em laboratório e casa de vegetação.

A todos os colegas do laboratório de fitopatologia da COODETEC, pelo apoio e disposição para a realização dos trabalhos.

Aos meus familiares, pelo incentivo e pela compreensão durante minhas ausências para aulas, trabalhos e estudos.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	10
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 SOJA: HISTÓRICO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	12
2.2 NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA – NCS	13
2.2.1 Sintomatologia	15
2.2.2 Biologia e Ciclo de Vida do Nematóide do Cisto da Soja	15
2.2.3 Métodos de Controle	18
2.2.3.1 Rotação de culturas	18
2.2.3.2 Controle Genético	19
2.2.4 Determinação de Raças do NCS	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 OBTENÇÃO DE POPULAÇÕES DO NCS	22
3.2 EXTRAÇÃO DE CISTOS DE AMOSTRAS DE SOLO	23
3.3 PREPARO DO SUBSTRATO, TRATOS CULTURAIS E AMBIENTE	23
3.4 OBTENÇÃO DE POPULAÇÕES E ISOLADOS MONOCÍSTICOS DE <i>H. glycines</i>	23
3.5 EXTRAÇÃO DE CISTOS DE RAÍZES DE SOJA	25
3.6 PREPARO DA SOLUÇÃO DE INÓCULO E INOCULAÇÃO	26
3.7 IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS FISIOLÓGICAS DE <i>H. glycines</i>	27
3.8 REAÇÃO DE CULTIVARES COMERCIAIS DE SOJA À RAÇA 3 DE <i>H. glycines</i>	28

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 DETERMINAÇÃO DE RAÇAS FISIOLÓGICAS DE <i>H. glycines</i>	30
4.2 REAÇÃO DE CULTIVARES COMERCIAIS DE SOJA À RAÇA 3 DE <i>H. glycines</i>	34
5 CONCLUSÃO	36
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida do Nematóide de Cisto da Soja (NCS) <i>Heterodera glycines</i> (Ichinohe.)	17
Figura 2. Tubetes de 20 X 5 cm para semeadura e deposição de inóculo.	24
Figura 3. Recipiente plástico contendo areia para suporte de tubetes.....	24
Figura 4. Cuba de aço inoxidável com água para acondicionamento de recipientes plásticos	25
Figura 5. Ovos viáveis de <i>H. glycines</i> observados ao microscópio ótico em aumento de 40 X.....	25
Figura 6. Béquer e placa de contagem de cistos com cistos recém extraídos.....	26
Figura 7. Recipiente plástico contendo plantas de soja, no momento da inoculação, inóculo depositado por conta gotas em orifícios próximos ao sistema radicular das plantas.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição das raças de <i>H. glycines</i> no Brasil.....	14
Tabela 2. Cultivares de soja com resistência ao NSC para várias regiões do Brasil	20
Tabela 3. Populações e isolados monocísticos estabelecidos em casa-de-vegetação	22
Tabela 4. Esquema de identificação de raças de <i>H. glycines</i> , proposto por RIGGS a SCHIMITT (1988).....	27
Tabela 5. Características dos cultivares comerciais de soja submetidos a teste de resistência à raça 3 de <i>H. glycines</i>	29
Tabela 6. Número de cistos e percentagem de infecção por planta diferenciadora da população de Cruz Alta/RS.....	31
Tabela 7. Número de cistos e percentagem de infecção por planta diferenciadora de Porto Mendes/PR.....	31
Tabela 8. Número de fêmeas e cistos por planta diferenciadora e percentagem de infecção de isolados monocísticos de Cruz Alta/RS	33
Tabela 9. Número de fêmeas e cistos e percentagem de infecção por planta diferenciadora de isolados monocísticos de Porto Mendes/PR.....	33
Tabela 10. Número de fêmeas e cistos e percentagem de infecção por planta diferenciadora de isolados monocísticos de Novo Horizonte/PR	33
Tabela 11. Reação de cultivares comerciais e de plantas de soja hospedeiro-diferenciadoras a uma população de <i>H. glycines</i> pertencente à raça 3	35

RESUMO

IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DO NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA [*Heterodera glycines* (Ichinohe)] A PARTIR DE POPULAÇÕES DE CAMPO E ISOLADOS MONOCÍSTICOS E RESISTÊNCIA DE CULTIVARES COMERCIAIS À RAÇA 3.

O nematóide de cisto é um dos principais patógenos da cultura da soja a nível mundial. No Brasil, este nematóide encontra-se disseminado em praticamente todas as regiões produtoras de soja, sendo responsável por perdas de produtividade variáveis, dependendo do nível de infestação a campo. No Paraná, esta espécie encontra-se amplamente distribuída, tendo sido relatada em 11 municípios somente da região oeste do estado. A determinação de raças fisiológicas de *H. Glycines* é de fundamental importância para a recomendação de cultivares de soja resistentes a este patógeno. Objetivou-se com o presente trabalho, estudar a variabilidade genética presente em populações policísticas de *H. glycines* coletadas a campo, através da identificação de raças fisiológicas de populações monocísticas, a partir de testes em plantas hospedeiro-diferenciadoras. Objetivou-se também testar a reação de cultivares comerciais de soja à raça 3 de *H. glycines*. Populações de campo e isolados monocísticos de *H. glycines*, provenientes dos municípios de Cruz Alta (RS), Porto Mendes (PR) e Novo Horizonte (PR), foram multiplicados em plantas de soja “CD 202”. Plantas hospedeiro-diferenciadoras e cultivares comerciais de soja foram semeados em tubetes, inoculados no estágio V1 com 5.000 ovos e J2 e mantidos em casa-de-vegetação com temperatura variando de 28 a 30 °C. Os testes em casa-de-vegetação seguiram o delineamento inteiramente casualizados com sete repetições. A identificação de raças fisiológicas foi realizada em duas populações de campo e nove isolados monocísticos e o teste de resistência em 18 cultivares comerciais. As avaliações foram feitas aos 28 dias após a inoculação com base no Índice de Parasitismo (IP). O IP foi calculado em função do número de fêmeas e cistos encontrados nas diferenciadoras e cultivares testados em relação ao padrão de suscetibilidade e multiplicado por 100. Os testes em plantas diferenciadoras com isolados monocísticos revelou a presença das raças 2, 5 e 6 para Porto Mendes, 3 e 6 para Cruz Alta e 5 e 6 para Novo Horizonte. Populações de campo revelaram a presença da raça 6 para Porto Mendes e da raça 3 para Cruz Alta. A maioria dos cultivares comerciais testados foram resistentes à *H. glycines* raça 3, enquanto que a cv. Liderança e a CD 217 apresentaram-se suscetíveis. Os resultados mostraram que a identificação de raças a partir de isolados monocísticos de *H. glycines* auxilia na identificação da variabilidade genética presente em populações de campo, o que não é possível mediante a determinação de raças com base em populações policísticas obtidas a campo.

Palavras-chave: *Heterodera glycines*, raças fisiológicas, variabilidade genética, resistência genética.

ABSTRACT

RACE IDENTIFICATION OF THE SOYBEAN CYST NEMATODE (SCN) *HETERODERA GLYCINES* (ICHINOHE) FROM FIELD POPULATIONS AND MONOCYSTIC ISOLATES AND RESISTANCE OF COMMERCIAL CULTIVARS TO RACE 3.

The Cyst Nematode is one of the main soybean crop pathogens in the world levels. In Brazil, such nematode is spread throughout Brazilian regions in which soybean is grown and its damage for soybean crops is dependent on the infestation level on the field. In Paraná State, this species is widely distributed, and it has been reported in 11 counties in the western region. The physiological race determination in such species is fundamentally important for the recommendation of resistant soybean cultivars to *H. glycines*. This work aimed to study the genetic variability in *H. glycines* polycystic populations collected from infested areas, through the identification of physiological races in monocystic populations by tests in soybean differential plants. It was also aimed at testing the reaction of soybean commercial cultivars to *H. glycines* to race 3. Field population and monocystic isolates from *H. glycines*, collected in Cruz Alta (RS), Porto Mendes (PR) and Novo Horizonte (PR), were developed in "CD 202" soybean plants. Soybean differentials and soybean commercial cultivars were seeded in tubes, inoculated in the V1 stage with 5.000 eggs and J2 and kept in a greenhouse under temperature ranging from 28 to 30°C. The greenhouse essays followed a completely randomized design with seven replications. The physiological race identification was carried out with two field populations and nine monocystic isolates whereas the resistance test was developed on 18 commercial cultivars. The evaluation procedure was accomplished at 28 days apart the inoculation and based on the Parasitism Index (PI). The PI was calculated on the number of females and cysts found on the differentials and the cultivars tested in relation to the check cultivar "LEE". The tests in differential plants with monocystic isolates revealed the presence of the races 2, 5 and 6 to Porto Mendes, 3 and 6 to Cruz Alta and 5 and 6 to Novo Horizonte. Field populations showed the presence of race 6 in Porto Mendes and race 3 in Cruz Alta. Most of commercial cultivars tested were resistant to *H. glycines* race 3 while the cv. Liderança and the "CD 217" presented susceptibility. The results showed that the race identification from monocystic isolates assists in the identification of genetic variability in field populations of *H. glycines*, what is not possible according to the race scheme based in polycystic populations extracted from the soybean crop fields.

Key-words: *Heterodera glycines*, physiological races, genetic variability, genetic resistance.

1 INTRODUÇÃO

A soja *Glycine Max* (Merrill) é cultivada de norte a sul do Brasil, devido à sua alta produtividade e competitividade de mercado. Apesar de ser uma cultura altamente produtiva e amplamente adaptada às condições de clima e solo brasileiros, o monocultivo da soja produz aumento da incidência de doenças.

Dentre os patógenos que afetam a cultura da soja no Brasil, o Nematóide de Cisto da Soja (NCS), *Heterodera glycines* Ichinohe, merece destaque pelas perdas de produção causadas, capacidade de sobrevivência e facilidade de disseminação. Este nematóide encontra-se amplamente disseminado em áreas de produção de soja no Brasil.

Os métodos de controle mais viáveis para esta espécie são baseados em sistemas de rotação ou sucessão anual de culturas com gramíneas ou espécies não hospedeiras, além do uso de cultivares de soja resistentes.

O uso prolongado de uma mesma cultivar de soja resistente ou a utilização de sistemas de rotação/sucessão de culturas inadequados tem causado o surgimento de novas raças fisiológicas deste nematóide, em função da grande variabilidade genética encontrada em populações de campo.

A identificação de raças fisiológicas de *H. glycines* é fator fundamental antes de qualquer recomendação de controle com base em resistência genética.

Considerando o exposto acima, objetivou-se com o presente trabalho estudar a variabilidade genética de três populações de campo de *H. glycines* com base em testes em plantas diferenciadoras a partir de isolados monocísticos. Tendo em vista a constante quebra da resistência de cultivares comerciais a campo, objetivou-se também averiguar a resistência de alguns cultivares comerciais de soja frente a uma população de *H. glycines* raça 3.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SOJA: HISTÓRICO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

A soja, *Glycine max* Merrill, é uma planta oleaginosa originária da China, pertencente a família das leguminosas, de reprodução autógama. Apesar de sua região de origem estar entre 35 a 45 graus de latitudes, é de fácil adaptabilidade para as mais diversas regiões (SHOEMAKER et al., 1992).

No continente asiático, a soja é encontrada em países como China, Japão e Coreia. Devido à sua adaptabilidade e importância econômica, a soja expandiu-se do continente asiático para a Europa e Américas do Norte e do Sul (CARVALHO, 1999).

No Brasil, a soja foi introduzida em 1882 na Bahia, chegando a São Paulo em 1892 e no Rio Grande do Sul em 1928. Graças a programas de melhoramento genético, é atualmente cultivada de norte a sul do Brasil, sendo encontrada em todos os Estados da região Sul, Sudeste e Centro-Oeste, além da Bahia, Tocantins, Rondônia e Pará, (SCHUSTER, 1999). No entanto, a primeira grande expansão da soja no Brasil ocorreu na década de 70 com um aumento 25,9% na produção, passando de 1,3 para 8,8 milhões de hectares plantados (DIAS et al., 2007)

Dentre os países de maior produção de soja no mundo encontram-se os Estados Unidos da América, com 85,5 milhões de toneladas, ficando o Brasil em segundo lugar com 50,3 milhões de toneladas, e uma área plantada de 23,1 milhões de hectares (CONAB, 2006).

O estado do Mato Grosso é o maior produtor de soja do Brasil com 16,92 milhões de toneladas e 6 milhões de ha plantados, seguido pelo estado do Paraná, segundo maior produtor brasileiro de soja, com uma produção de 9,3 milhões de toneladas e 4 milhões de hectares plantados (EMBRAPA Soja 2006).

Os elevados índices produtivos da soja nem sempre são expressos a campo, pois a cultura sofre forte redução na produtividade devido à incidência de fitopatógenos. São vários os agentes fitopatogênicos causadores de doenças em

soja no Brasil e no mundo, os quais levam a perdas de produção e danos às plantas afetadas, com destaque para os nematóides (YORINORI, 2000).

Dentre as espécies de nematóides que afetam a cultura da soja no Brasil e no mundo, o Nematóide de Cisto da Soja (NCS), *H. glycines*, é como um dos mais importantes, tanto pela extensão das áreas afetadas quanto pelas perdas de produção ocasionadas (ALMEIDA et al., 1997). Estima-se que a área afetada com este nematóide seja superior a 2,5 milhões de hectares (DIAS et al., 2007) com prejuízos da ordem de 133,2 milhões de dólares somente na safra 1999/2000 (YORINORI, 2000).

2.2 NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA – NCS

O NCS foi relatado pela primeira vez no Japão em 1915, tendo sido posteriormente encontrado nos Estados Unidos, União Soviética, China, Coreia, Taiwan e Colômbia (MENDES, 1993).

No Brasil, o primeiro relato desta espécie ocorreu nos estados de Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul, na safra 1991/92 (MENDES & DICKSON, 1993). Posteriormente, *H. glycines* foi relatado nos estados de São Paulo (NOEL et al., 1994) e no Rio grande do Sul e Paraná (CARVALHO, 1999).

Atualmente o NCS encontra-se disseminado em mais de 109 municípios brasileiros distribuídos em diferentes estados. No Paraná, somente na região Oeste, este nematóide é encontrado em 11 municípios (FRANZENER, et al., 2005).

Desde a sua descoberta, o NCS vem se disseminando muito rapidamente e, em determinados casos, inviabilizando o cultivo da soja em solos com alta infestação. Em regiões de cerrado, o crescimento populacional é mais acentuado devido às condições de solo e clima favoráveis (SILVA, 2006).

No Brasil, na safra 1991/92, a estimativa da área afetada com o NCS era de 10 mil hectares passando para 1,7 milhões de hectares na safra 1997/98 (EMBRAPA, 1998b), atualmente encontra-se disseminado pelos estados brasileiros Como: Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, São Paulo, Rio Grande do sul e Tocantins (Tabela 1), com uma área afetada de mais de 2,5 milhões de hectares (DIAS et al., 2007).

As perdas de produção em áreas infestadas são dependentes do nível de infestação, podendo atingir 100% (EMBRAPA, 1995). Em lavouras de soja sem

danos aparentes, os rendimentos de cultivares suscetíveis têm sido, em média, 400 Kg/ha menores que aqueles apresentados por cultivares resistentes (GARCIA et al., 2005).

Níveis de dano mais acentuados, causados pelo NCS, são geralmente observados em solos com baixa fertilidade e manejo incorreto como a adoção de sistemas de rotação/sucessão de culturas ineficiente (ROCHA et al., 2006).

Tabela 1. Distribuição das raças de *H. glycines* no Brasil. Fonte: Embrapa Soja (2006).

Município	Estado	Raças	Município	Estado	Raças
Formosa do Rio Preto	BA	3	Água Clara	MS	3 e 9
Campo A. de Goiás	GO	14	Alcinópolis	MS	14
Catalão	GO	3	Camapuã	MS	6
Chapadão do Céu	GO	3, 4, 5, 6, 9 e 14	Chapadão do Sul	MS	4, 5, 6 e 14
Gemeleira de Goiás	GO	3	Costa Rica	MS	6, 10 e 14
Ipameri	GO	3 e 6	Sonora	MS	3 e 9
Luziânia	GO	3	Araguari	MG	3
Jataí	GO	4, 6, 9 e 14	Coromandel	MG	3
Mineiros	GO	3, 6 e 14	Indianópolis	MG	3
Rio Verde	GO	3 e 10	Iraí de Minas	MG	3
Perolândia	GO	14	João Pinheiro	MG	3
Serranópolis	GO	14	Monte Carmelo	MG	3
Maranhão	GO	9	Nova Ponte	MG	3
Balsas	GO	9	Patos de Minas	MG	3
Alto Garças	MT	3 e 14	Pedrinópolis	MG	3
Alto Taquari	MT	3, 4, 10, 14	Perdizes	MG	3
Campo Verde	MT	1, 2, 3 e 5	Presidente Olegário	MG	3
Campos de Júlio	MT	5, 6 e 9	Romaria	MG	3
Campo N. do Parecis	MT	3 e 9	Santa Juliana	MG	3
Decolândia	MT	3	Uberaba	MG	3 e 6
Diamantino	MT	3	Uberlândia	MG	3
Dom Aquino	MT	2, 3 e 5	Bela Vista do Paraíso	PR	3
Guiratinga	MT	3 e 14	Congonhinhas	PR	3
Itiquira	MT	3	M. Candido Rondon	PR	3
Jaciara	MT	2 e 5	Sertaneja	PR	3
Juscimeira	MT	2 e 3	Tupãssi	PR	3
Nova Mutum	MT	3	Assis	SP	3
Nova Ubitatã	MT	3	Cândido Mota	SP	3
Pedra Preta	MT	2	Florínea	SP	3
Primavera do Leste	MT	1, 2, 3 e 5	Tarumã	SP	3
Santo Antônio do Leste	MT	3	Cruzeiro do Sul	RS	3 e 6
Sapezal	MT	3, 5 e 6	Coimbra	RS	3
Sorriso	MT	1, 2, 3, 4+, 5, 14 e 14+	São Miguel das Missões	RS	3
Tangará da Serra	MT	1, 3 e 4	Dianópolis	TO	1
Tapurah	MT	6			

2.2.1 Sintomatologia

H. glycines, é o nematóide causador da doença conhecida como “nanismo amarelo da soja” (BALDWIN & MUNDO-CAMPO, 1991).

Por ser um nematóide endoparasita sedentário, promove alterações morfológicas nas raízes parasitadas, as quais sofrem redução na translocação de água e nutrientes, levando à formação de sintomas reflexos na parte aérea como nanismo, deficiência mineral, folha carijó, amarelecimento de folhas, queda precoce de vagens e pobre enchimento de grãos (DA SILVA, et al. 2006).

Os sintomas diretos causados por *H. glycines* podem ser observados pelo aumento da proliferação de raízes secundárias e ausência ou redução da nodulação por bactérias simbióticas (TODD & PEARSON, 1988). Em locais onde a população do patógeno é muito alta, também pode ocorrer morte prematura de plantas (BRITO et al., 1999)

Sinais do patógeno podem ser visualizados no sistema radicular com a presença de fêmeas de cor branca a creme e/ou cistos de coloração marrom escuro. Os cistos são invariavelmente encontrados em solos próximos à rizosfera de plantas infectadas (RIGGS & WRATHER, 1992).

2.2.2 Biologia e Ciclo de Vida do Nematóide de Cisto da Soja

H. glycines é um nematóide pertencente à ordem Tylenchida e família Heteroderidae. (WRATHER, et al., 1984).

Cada fêmea madura produz de 200 a 600 ovos viáveis, dos quais uma parte é depositada no solo ou na superfície da raiz parasitada, enquanto os demais permanecem retidos no interior das fêmeas, as quais quando mortas se transformam em cistos (YOUNG, 1987). Os ovos retidos no interior dos cistos podem permanecer viáveis por até oito anos, enquanto que aqueles depositados no solo são protegidos por uma massa gelatinosa, a qual é removida por água de chuva ou de irrigação, permitindo a eclosão dos mesmos, caso a temperatura do solo seja favorável (CARES & BALDWIN, 1995).

Formas infestantes J2 eclodem dos ovos e são atraídas para as raízes de plantas hospedeiras por exsudatos radiculares. Ao encontrar uma raiz suscetível, as

formas J2 penetram nas raízes secundárias ou radicelas, geralmente pelo ápice, e migram até o cilindro central, estabelecendo sítios de alimentação próximos ao sistema vascular. Os sítios de alimentação são denominados de sincício, os quais são formados pela junção de até 100 células individuais (WRATHER, et al., 1984).

Como a maioria das espécies fitoparasitas, *H. glycines* sofre 4 ecdises até atingir o estágio adulto, sendo a primeira de J1 para J2, ainda no interior do ovo. Uma vez no interior da raiz, ocorrem mais duas ecdises até o estágio J4 (último estágio imaturo). A quarta ecdise culmina com a formação do estágio adulto, macho ou fêmea. As fêmeas tornam-se agigantadas, sedentárias e de formato limoniforme, enquanto que os machos tornam-se vermiformes e móveis, abandonando a raiz no estágio adulto em busca de fêmeas para reprodução (SCHMITT & BARKER, 1985).

A reprodução em *H. glycines* é anfimítica, gerando uma grande variabilidade genética, evidenciada pela presença de raças fisiológicas. Durante o crescimento dos juvenis, este nematóide vai gradativamente forçando o rompimento do córtex e da epiderme da radicela infectada, expondo cada vez mais a parte posterior do seu corpo. Quando completamente desenvolvidas, as fêmeas apresentam quase todo o corpo fora da raiz, mantendo-se presas pela região esofagiana e apresentando cor branca ou amarelada (CARES & BALDWIN, 1995).

Os cistos são formados devido à compressão progressiva dos órgãos internos das fêmeas, causada pela retenção de ovos, levando-as à morte. (FERRAZ & MONTEIRO, 1995). Os cistos podem ser encontrados aderidos às raízes ou dispersos no solo, apresentando-se de cor marrom-escura, sendo muito resistentes a estresses edafo-climáticos, além de servir de proteção aos ovos contra inimigos naturais (EMBRAPA, 2007).

Os juvenis recém eclodidos escapam dos cistos através de área translúcida ao redor da vulva, chamada “fenestra”, onde a camada de tecido é mais fina e pode ser rompida (FERRAZ & MONTEIRO, 1995).

Os machos de *H. glycines* têm o corpo alongado, desprovido de bolsa de cópula e não apresentam hábito alimentar fitoparasita. São formados sob condições de estresse, quando juvenis salsichóides de 4º estágio sofrem reversão sexual, tornando-se vermiformes. Essa complexa metamorfose habilita os machos a saírem das raízes parasitadas e fecundarem fêmeas maduras, as quais expõem a parte posterior do corpo para fora da raiz (CARES & BALDWIN, 1995).

O ciclo de vida de *H. glycines* (Figura 1) é de aproximadamente um mês, mas dependendo das condições ambientais pode ser acelerado ou retardado, podendo ocorrer de três a seis gerações desta espécie em um único ciclo de soja, dependendo da cultivar utilizada. Em se tratando de cultivares suscetíveis pode ocorrer até 5 ciclos do NCS em um só cultivo destas cultivares. Em solos com umidade e temperaturas de 21 a 23°C, o ciclo completa-se dentro de 21 a 24 dias, sendo que o desenvolvimento pode ser mais rápido em temperaturas de 28 a 31°C. Temperaturas inferiores a 10°C e superiores 34°C são desfavoráveis ao desenvolvimento desta espécie (FERRAZ & MONTEIRO, 1995).

O NCS apresenta uma ampla gama de hospedeiros, porém quase que restrita à família Fabaceae (RIGGS, 1992), podendo haver alguns poucos representantes de outras famílias como hospedeiros. ROSSI (2001) iniciou trabalhos de caracterização do círculo de hospedeiros deste nematóide, apontando suscetibilidade em diversas culturas econômicas como feijão e ervilha, além de plantas daninhas.

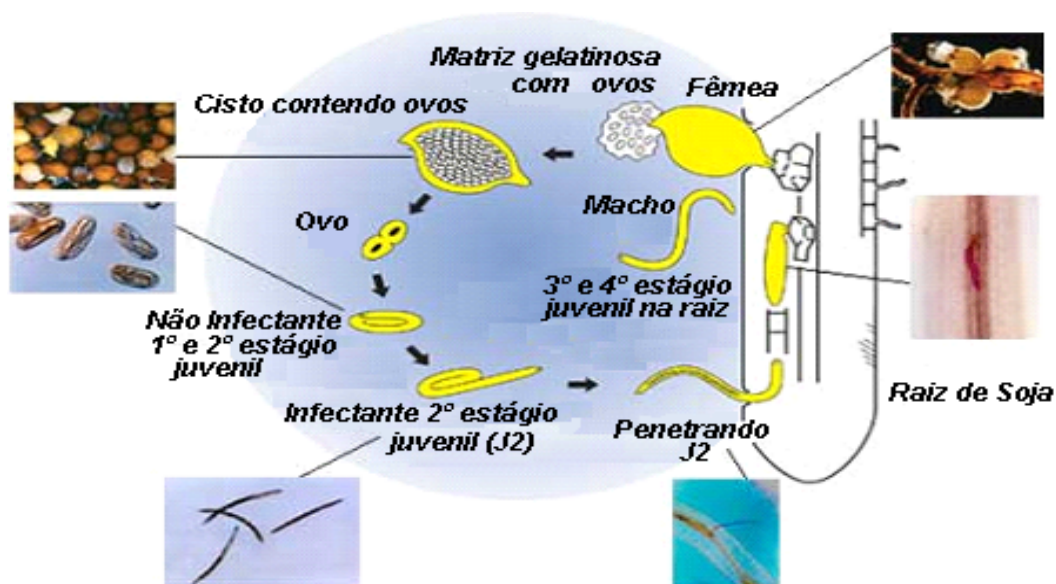


Figura 1. Ciclo de vida do Nematóide de Cisto da Soja (NCS) *Heterodera glycines* (Ichinohe).

2.2.3 Métodos de Controle

A resistência de plantas de soja ao nematóide de cisto pode ser melhorada com um manejo adequado do solo, mantendo-se os teores de matéria orgânica e de saturação de bases dentro dos padrões recomendados, através de uma adubação equilibrada, além de suplementação nutricional e plantio em solos com boa permeabilidade (ROCHA, 2006). Dentre os métodos de controle existentes, a rotação/sucessão de culturas com gramíneas e com espécies não hospedeiras e o controle genético através do uso de cultivares de soja resistentes são os mais viáveis no controle de *H. glycines*. Além destes, o plantio em áreas isentas do patógeno, aliado ao controle do tráfego de implementos agrícolas, o controle de plantas daninhas e de hospedeiros alternativos, são medidas que quando adotadas, auxiliam no controle deste nematóide (EMBRAPA, 2006).

2.2.3.1 Rotação de culturas

A rotação de culturas com gramíneas como milho, sorgo, arroz, trigo, aveia, cana e pastagens em geral, é altamente recomendável no controle do NCS. Além das gramíneas, culturas como algodão, girassol e amendoim são também recomendadas (YORINORI, 2000).

A adoção do sistema de rotação, na maioria das vezes, esbarra na viabilidade econômica das culturas em determinadas regiões. A rotação de verão, com espécies não hospedeiras reduz a população deste nematóide a níveis toleráveis mesmo para cultivares de soja suscetíveis (EMBRAPA, 2006).

A sobrevivência de *H. glycines* em plantas daninhas e em soja “tigüera”, fazem com que a rotação de culturas seja imprescindível no controle deste nematóide (DIAS, et al. 2004).

Sistemas de rotação voltados ao controle do NCS são dependentes da quantidade de inóculo a campo e da aceitabilidade por parte do produtor. Segundo dados da Coodetec (2004), sistemas de rotação para áreas infestadas com *H. glycines* devem ser baseados na intercalação de culturas não hospedeiras com variedades resistentes por cinco cultivos consecutivos, retornando com uma cultivar suscetível no sexto cultivo, prolongando a vida útil dos cultivares resistentes.

2.2.3.2 Controle Genético

Dentre os métodos de controle existentes para o NCS, a utilização de cultivares resistentes tem sido adotada em todo o mundo, em função da viabilidade econômica e eficiência (NIBLACK et al., 2002).

No Brasil, a maioria dos cultivares comerciais de soja apresentam resistência apenas à raça 3 de *H. glycines* (Tabela 2). Atualmente cerca de 30 cultivares resistentes ao NCS estão indicados para cultivo em diferentes regiões do Brasil, mas muitos deles com área de abrangência restrita (EMBRAPA, 2007)

No caso do emprego de cultivares de soja resistentes, não se deve repetir o mesmo cultivar por mais de um ciclo vegetativo, devido à forte pressão de seleção sobre o patógeno, a qual inevitavelmente levará à quebra da resistência da cultivar utilizada (SCHUSTER, 1999).

Um exemplo de cultivar resistente a maioria das raças de *H. glycines*, com exceção da raça 4⁺ e 9⁺, porém não adaptada para as regiões de cultivo de soja do Brasil é a “Hartwig” (DIAS et al., 1998).

A estratégia mais utilizada para a incorporação de resistência genética em soja tem sido feita através da seleção de plantas obtidas do cruzamento de linhagens adaptadas com cultivares ou linhagens exóticas como “Peking” progenitora de: Sharkey, Forrest, Centennial, Padre, Stonewall, Kilby, Custer, Gordon, Thjomas, etc, “PI 88788” progenitora de: bedford, Leflore, Linford, Fayestte, Epps, Nathan, Avery, etc, “PI 90763” progenitora de Cordell e “PI 437654” (Hartwig) (EMBRAPA, 2006).

Tabela 2. Cultivares comerciais de soja com resistência ao NCS para várias regiões do Brasil.
Fonte: EMBRAPA SOJA, outubro de 2006.

Cultivar	Raças	Fonte de Resistência	Recomendação
BRS 321	1 e 3 – MR 14	Peking (Sharkey) e PI 437654 (Hartwig)	SC, PR, SP
BRS 262	3	Peking (Sharkey) e PI 437654 (Hartwig)	SP, PR
BRS 263 (Diferente)	1 e 3 – MR 14	Peking (Sharkey, Ferrest e Lancer) PI 437654 (Hartwig)	BA
BRS Invernada	1 e 3	Peking (Stonewall) PI 88788 e PI 209332 (Delsoy 4710)	PR, SP
BRS Jiripoca	1 e 3 –MR 5 e 14	Peking (Sharkey) e PI 437654 (Hartwig)	MT
BRS Piraíba	1 e 3	PI 437654 (Hartwig), Peking e PIs 90763 e 88788 (Cordell)	MT
BRSGO Araçu	1 e 3	Peking (Sharkey)	DF, GO, MG, MT
BRSGO Chapadões	1, 2, 3, 4, 5, e 14	PI 437654 (Hartwig)	DF, GO, MG, MT, TO
BRSGO Edéia	3	Peking (Thomas)	DF, GO, MG
BRSGO Iara	3	Peking (Sharkey)	DF, GO, MG
BRSGO Ipameri	3 e 14	PI 88788 e Peking (Lefrore)	BA., DF, GO, MG, MT, TO
BRSGO Raíssa	3	Peking (Sharkey)	BA, DF, GO, MG, MS
BRSMG Liderança	3	Peking (Centennial)	BA, DF, GO, MG, MT, SP
BRSMG 250 (Nobreza)	1 e 3	PI88788 (Avery) e Peking (Shaakey, Pdre e Stonewall)	BA, DF, GO, MG, MT, SP
BRSMG 251 Robusta)	3	PI88788 (Avery) e Peking (Shaakey, Pdre e Stonewall)	BA, DF, GO, MG, MT
BRSMT Pintado	1 e 3 – MR 5, 6, 9 e 14	Peking (Sharkey) e PI 437654 (Hartwig)	DF, GO, MG, MT
CD 217	3		DF, GO, MG, MS, MT, PR, RS
CS 801	3	Peking e PI 437654 (BRSMT Pintado)	DF, GO, MG, MS, PR, SP
FMT Cachara	1 e 3	Peking (Sharkey) e PI 437654 (Hartwig)	MT
FMT Matrinxã	1 e 3 – MR 14	Peking (Sharkey) e PI 437654 (Hartwig)	MT
FMT Tabarana	1 e 3	Peking (Centennial)	MT
FMT Tucunaré	1 e 3 – MR 14	Peking (Sharkey) e PI 437654 (Hartwig)	DF, MG, GO, MT
Foster (IAC)	1 e 3	Peking	SP
M-Soy 7901	3	Peking (Coker 6727)	DF, GO, MG, MS, SP
M-Soy 8001	1 e 3	Peking (Coker 6738)	DF, GO, MG, MS, SP
M-Soy 8200	3	Peking (Kilby)	DF, GO, MG, MS, MT SP
M-Soy 8400	3	Peking (Coker 6738)	DF, GO, MG, MS, MT, SP
M-Soy 8757	1 e 3	Peking (Coker 6738)	DF, GO, MG, MS, MT
P 98N31	1 e 3		
P 98N41	1 e 3		DF, GO, MG, MS, MT
P 98N71	1, 3 e 5		BA, DF, GO, MG, MS, MT, TO
P 98N82			BA, DF, GO, MG, MS, MT, TO
TMG 113RR	1 e 3	Peking e PI 437654	MT
TMG 115RR	1 e 3 – MR 14	Peking e PI 437654	MT
TMG 117RR	3		MT
TMG 121RR	1 e 3 – MR 14	Peking e PI 437654	MT
UFV 2010	3	PI 437654 (Hartwig)	MG
UFV 2011	3	PI 437654 (Hartwig)	MG
V-Max	3 e 14	PI 88788	MS, PR, SP

2.2.4 Determinação de Raças do NCS

Em 1962, ROSS verificou a existência de variabilidade fisiológica entre populações de *H. glycines*. GOLDEN *et al.* (1970), propuseram um esquema de caracterização de raças com base em quatro plantas de soja diferenciadoras (Pickett 71, Pekin, PI 88788 e PI 90763) e um padrão de suscetibilidade (Lee) com a identificação de 4 raças de *H. glycines*.

RIGGS & SCHMITT (1988) propuseram um modelo mais completo, envolvendo a identificação de 16 raças de *H. glycines* com base nas mesmas plantas hospedeiro-diferenciadoras propostas por GOLDEN *et al.* (1970) e em um índice de fêmeas (IF). O IF proposto foi calculado com base no número de fêmeas e cistos produzidos por raiz de planta diferenciadora e dividido pelo número de fêmeas e cistos produzidos na cultivar Lee (padrão de suscetibilidade), tendo sido consideradas resistentes (-) as diferenciadoras com $IF \leq 10\%$ e suscetíveis (+) aquelas com $IF > 10\%$.

Devido às constantes variações encontradas na determinação de raças fisiológicas de *H. glycines* e relativas às diferentes condições de laboratório, estudos objetivando a padronização dos métodos experimentais foram propostos (RIGGS & SMITH, 1991; WANG ET AL., 1998).

NIBLACK *et al.* (2002) relataram que o esquema de raças proposto por GOLDEN *et al.* (1970) e RIGGS & SMITH (1988) não é mais adequado à diferenciação de raças de *H. glycines* devido à grande variabilidade genética desenvolvida ao longo dos anos por este nematóide. Estes autores propuseram um novo esquema de classificação para raças de *H. glycines* com base em linhas indicadoras, utilizadas na classificação do tipo HG (H= Heterodera; G= *glycines*) de populações geneticamente distintas. Neste esquema foram mantidos os genótipos PI 548402 (Pecking), PI 88788 e PI 90763 e acrescidos de PI 437654, PI 209332, PI 89772 e PI 548316. Como padrão de suscetibilidade foi escolhido o genótipo Lee 74.

No Brasil, ROCHA *et al.* (2004) testaram o efeito da época de avaliação na determinação de raça e tipo HG incompleto para *H. glycines*, concluindo que diferentes épocas de avaliação (35 e 42 dias) proporcionaram diferentes identificações de raça e tipo HG. Em função disto, as avaliações devem ser padronizadas evitando-se erros de interpretação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Fitopatologia da Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola em Cascavel, PR, em parceria com o laboratório de Nematologia da UNIOESTE, campus de Marechal Cândido Rondon, PR. As etapas seguidas para a realização deste estudo estão discriminadas abaixo.

3.1 OBTENÇÃO DE POPULAÇÕES DO NCS

As populações do NCS utilizadas neste estudo foram obtidas a partir de amostras enviadas ao laboratório de Nematologia da UNIOESTE. Populações policísticas obtidas de cistos extraídos de amostras de campo e/ou isolados monocísticos produzidos estão descritos na Tabela 3. Das populações estabelecidas, apenas aquelas pertencentes aos municípios de Cruz Alta/RS, Porto Mendes/PR e Novo Horizonte/PR foram utilizadas para testes de identificação de raças em plantas hospedeiro-diferenciadoras.

Tabela 3 – Populações e isolados monocísticos estabelecidos em casa-de-vegetação.

População	Local	Populações policísticas	Isolados monocísticos
1	Porto Mendes - PR	1	11
3	Cruz Alta - RS	1	12
5	NovoHorizonte	0*	14

*Ausência de cistos viáveis em população policística de campo para testes de identificação de raça.

3.2 EXTRAÇÃO DE CISTOS DE AMOSTRAS DE SOLO

Amostras de solo de 200 cc foram homogeneizadas em recipiente plástico com capacidade para 10 litros de água e a solução obtida passada em peneira de 20 mesh sobre peneira de 60 mesh. O material retido na peneira de 60 mesh foi recolhido em béquero, com o auxílio de um pisquete com água. A solução do béquero foi vertida em papel de filtro, acomodado no interior de um funil de porcelana ligado a uma bomba de vácuo, para a filtração do líquido. O material retido no papel de filtro foi observado em microscópio estereoscópio para a coleta de cistos viáveis.

3.3 PREPARO DO SUBSTRATO, TRATOS CULTURAIS E AMBIENTE

Para os ensaios em casa-de-vegetação foram utilizados tubetes de 20 X 5 cm com capacidade para 200g de substrato (Figura 2). Os tubetes foram preenchidos com composto de areia estéril solo, na proporção 1:1. Após o preenchimento, os tubetes foram acondicionados em recipientes plásticos de 20 litros de capacidade e preenchidos com areia estéril (Figura 3). Após terem sido acondicionados nos baldes, os tubetes foram semeados com duas sementes, deixando-se apenas uma planta por tubete. Após a semeadura, os recipientes foram acondicionados em cuba metálica contendo água ao nível da areia, a qual possibilita que o substrato permaneça a uma temperatura constante de aproximadamente 28°C (Figura 4). A cuba metálica foi instalada em casa-de-vegetação com temperatura controlada sendo que a água da cuba variou de 25 a 30 °C. O substrato dos tubetes foi mantido úmido com o auxílio de um pisquete.

3.4 OBTENÇÃO DE POPULAÇÕES E ISOLADOS MONOCÍSTICOS DE *H. glycines*

Os cistos extraídos de amostras de solo foram depositados em lâmina de vidro contendo uma gota de água estéril, cobertos com lamínula e pressionados com o auxílio de um estilete até a liberação dos ovos. Isolados monocísticos foram estabelecidos a partir de cistos individuais conforme exposto acima. A viabilidade dos ovos foi observada em microscópio ótico em aumento de 40X. Ovos viáveis

foram inoculados em tubetes contendo uma planta de soja da cv. CD 202 (cultivar suscetível a todas as raças) com duas folhas definitivas (Figura 5).



Figura 2. Tubetes de 20 X 5 cm para semeadura e deposição de inóculo.



Figura 3. Recipiente plástico contendo areia para suporte de tubetes.



Figura 4. Cuba de aço inoxidável com água para acondicionamento de recipientes plásticos.



Figura 5. Ovos viáveis de *H. glycines* observados ao microscópio ótico em aumento de 40 X.

3.5 EXTRAÇÃO DE CISTOS DE RAÍZES DE SOJA

Raízes de plantas de soja foram extraídas dos tubetes inoculados e lavadas em água corrente sobre peneiras de 25 e 60 mesh. Os cistos retidos na peneira de 60 mesh foram recolhidos em bquer com o auxílio de um pissete com água. A solução contida no bquer foi transferida para tubos Falcon de 50 ml e centrifugada em centrífuga de mesa a 2400 rpm por 5 minutos, com posterior descarte do líquido

sobrenadante. Em seguida, o precipitado foi homogeneizado em solução de sacarose a 61,5% e centrifugado a mesma rotação por 1 minuto. Após a centrifugação, o líquido sobrenadante foi transferido para um béquer (Figura 6), para posterior contagem ou inoculação.

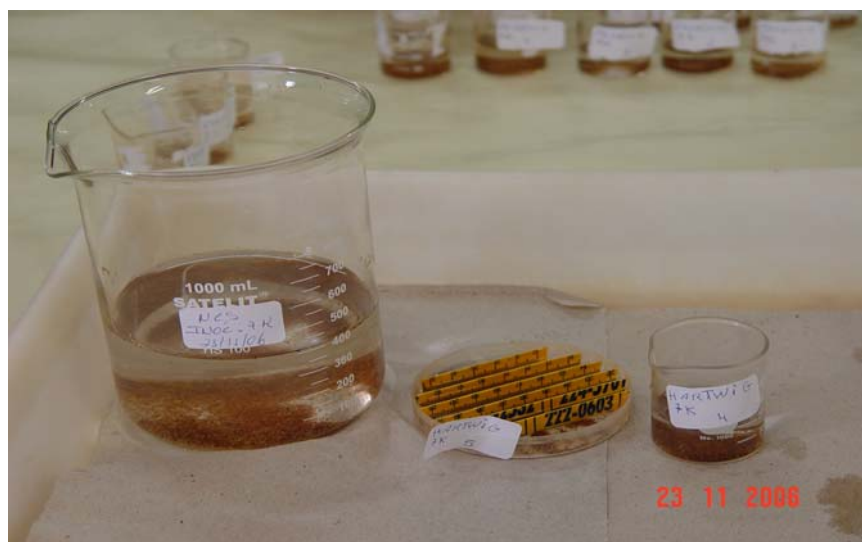


Figura 6. Béquer e placa de contagem de cistos com cistos recém extraídos.

3.6 PREPARO DA SOLUÇÃO DE INÓCULO E INOCULAÇÃO

Os cistos extraídos foram macerados em peneira de 60 mesh sobre peneira de 500 mesh com o auxílio de um pistilo estéril, e em seguida lavados com jato forte de água. Os ovos ou “J2” retidos na peneira de 500 mesh foram transferidos para um béquer com o auxílio de um pisquete com água.

A quantificação dos ovos foi feita em lâmina de Peters com o auxílio de um microscópio ótico em aumento de 40X. O inóculo foi padronizado para 1.667 ovos por ml. Foram inoculados 3 ml de solução por planta totalizando 5000 ovos. O inóculo foi aplicado em 3 orifícios distintos, sendo 1 ml por orifício, e próximo ao sistema radicular das plantas (Figura 7). Os orifícios foram fechados após a inoculação e os tubetes irrigados após 24 horas da inoculação.



Figura 7. Recipiente plástico contendo plantas de soja, no momento da inoculação. Inóculo depositado por conta gotas em orifícios próximos ao sistema radicular das plantas.

3.7 IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS FISIOLÓGICAS DE *H. glycines*

Para a determinação de raças fisiológicas de *H. glycines* seguiu-se a metodologia proposta por Riggs & Smith (1988) (Tabela 4), tendo-se utilizado as diferenciadoras Peking, Pickett, PI88788 e PI 90763 como fontes de resistência, além da cultivar Lee como padrão de suscetibilidade, acrescida da cultivar Hartwig, padrão de resistência a todas as raças descritas. O índice de parasitismo (IP) foi calculado através da fórmula:

$$IP = \frac{\text{Nº de fêmeas e cistos na cultivar diferenciadora}}{\text{Nº de fêmeas e cistos na cultivar Lee}} \times 100$$

Para o cálculo do Índice de Parasitismo (IP), considerou-se como reação positiva (+) quando o número de fêmeas e cistos era superior ou igual a 10% daquele observado para o cultivar Lee, e negativo (–) quando este número era inferior a 10% (Tabela 4).

Os ensaios de casa-de-vegetação foram realizados com 6 tratamentos e 5 repetições, sendo que cada repetição foi representada por uma planta, de acordo com o item 3.3.

Tabela 4. Esquema de identificação de raças de *H. glycines*, proposto por RIGGS & SCHIMITT (1988).

RAÇA	PI – 88788	PI - 90763	PEKING	PICKETT	LEE
1	+	-	-	-	+
2	+	-	+	+	+
3	-	-	-	-	+
4	+	+	+	+	+
5	+	-	-	+	+
6	-	-	-	+	+
7	+	+	-	-	+
8	-	+	-	-	+
9	-	-	+	+	+
10	-	+	-	+	+
11	+	-	+	-	+
12	-	+	+	-	+
13	-	-	+	-	+
14	-	+	+	+	+
15	+	+	-	+	+
16	+	+	+	-	+

3.8 REAÇÃO DE CULTIVARES COMERCIAIS DE SOJA À RAÇA 3 DE *H. glycines*

Com o objetivo de se comprovar a resistência de cultivares comerciais de soja à raça 3 de *H. glycines*, foram testados 16 cultivares de soja frente a uma população de *H. glycines* originária de Londrina/PR (Tabela 5).

Tabela 5. Características dos cultivares comerciais de soja submetidos ao teste de resistência à raça 3 de *H. glycines*. Fonte: EMBRAPA (2006).

Cultivar	Ciclo	Empresa	Recomendação
Pintado	Semitardia (126 – 145 dias)	EMBRAPA	DF,GO,MG,MT
Liderança	Médio (111-115 dias)	EMBRAPA	BA,DF,GO,MG,MT,SP
Msoy 8400	Médio (111-115 dias)	MONSANTO	DF,GO,MG,MS,MT,SP
Msoy 7901	Semiprecoce (101-110 dias)	MONSANTO	DF,GO,MG,MS,SP
Msoy 8757	Semitardia (126 – 145 dias)	MONSANTO	DF,GO,MG,MS,MT
Msoy 8329	-----	MONSANTO	-----
Tabarana	Semeadura 15/11 = 129 dias	FMT	MT
Tucunaré	Semeadura 15/11 = 116 dias	FMT	DF,MG,GO,MT
Matrinxã	Semiprecoce (101-110 dias)	FMT	MT
TMG 117RR	Semiprecoce (101-110 dias)	FMT	-----
TMG 115RR	Semeadura 28/11 = 122 dias	FMT	-----
TMG 113RR	Semeadura 28/11 = 117 dias	FMT	-----
P98N71	Semitardia (126 – 145 dias)	PIONEER	BA,DF,GO,MG,MS,MT,TO
P98N82	Semitardia (126 – 145 dias)	PIONEER	BA,DF,GO,MG,MS,MT,TO
P98N41	Semiprecoce (101-110 dias)	PIONEER	DF,GO,MG,MS,MT
CD 217	Precoce (até 125 dias)	COODETEC	DF,GO,MG,MS,MT,PR,RS

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO DE RAÇAS FISIOLÓGICAS DE *H. glycines*

Foram identificadas as raças 3 e 6 de populações de *H. glycines* coletadas em campos de produção dos municípios de Cruz Alta e Porto Mendes, respectivamente (Tabelas 6 e 7). De acordo com RIGGS & SMITH (1988) a raça 3 é definida pelo IP positivo apenas para a cv. Lee, enquanto que a raça 6 apresenta IP positivo para as cvs. Lee e Pickett 71, fato este obtido no teste de raças realizado para ambas as populações.

Os resultados dos testes em plantas hospedeiro-diferenciadoras, obtidos a partir de isolados monocísticos, mostraram que houve variação de raça entre isolados de uma mesma população (Tabelas 8, 9 e 10). Observa-se na tabela 8 que dos cinco isolados testados para Cruz Alta, quatro foram identificados como pertencentes à raça 3, a qual foi originalmente identificada na população de campo (Tabela 6), e um à raça 6. Já na população de Porto Mendes, previamente identificada como raça 6 (Tabela 7), dois isolados apresentaram-se como raça 2, outros dois como raça 6 e um como raça 5 (Tabela 9). Os dados contidos na Tabela 10 para a população de Novo Horizonte, confirmam a variabilidade encontrada nos testes anteriores, tendo-se detectado as raças 5 e 6 em quatro isolados testados.

Tabela 6. Número de cistos e percentagem de infecção por planta diferenciadora da população de Cruz Alta/RS.

Diferenciadoras	Hartwig		PI 88788		PI 90763		Pecking		Pickett 71		Lee	
Repetições	Cistos	%	Cistos	%	Cistos	%	Cistos	%	Cistos	%	Cistos	%
1	0	0	4	2	4	2	0	0	0	0	191	100
2	31	13	2	1	1	0	0	0	0	0	239	100
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	192	100
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	149	100
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	186	100
Total	31		6		5		0		0		957	
% Infecção	3,24		0,63		0,52		0,00		0,00		100	
Resultado – Raça 3												

Tabela 7. Número de cistos e percentagem de infecção por planta diferenciadora de Porto Mendes/PR.

Diferenciadoras	Hartwig		PI 88788		PI 90763		Pecking		Pickett 71		Lee	
Repetições	Cisto	%	Cisto	%	Cisto	%	Cisto	%	Cisto	%	Cisto	%
1	0	0	0	0	4	2	12	6	94	47	198	100
2	0	0	0	0	1	1	6	7	127	143	89	100
3	0	0	0	0	12	12	0	0	109	108	101	100
4	0	0	0	0	6	2	2	1	74	28	263	100
5	---	0	0	0	2	1	4	2	78	44	178	100
Total	0		0		25		24		482		829	
% Infecção	0,00		0,00		3,02		2,90		58,14		100	
Resultado - Raça 6												

Os testes realizados em plantas hospedeiro-diferenciadoras, a partir de isolados monocísticos, contribuíram para um melhor entendimento da variabilidade genética presente em populações de campo, a qual não pôde ser observada em testes de raças a partir de populações policísticas coletadas a campo. De acordo com TRIANTAPHYLLOU (1975a), populações de *H. glycines* apresentam variações quantitativas em sua composição gênica a campo. A pressão de seleção imposta pelo uso prolongado de uma mesma cultivar de soja provoca a alteração da frequência gênica original, culminando com a mudança da raça fisiológica prevalente (SCHMITT & NOEL, 1984; TRIANTAPHYLLOU, 1975b).

Nas tabelas 8 a 10 observa-se que a variabilidade encontrada a campo é representada por diferentes raças de *H. glycines*, sendo uma predominante e as outras secundárias e com frequência variada. Desta forma, para a maioria dos

casos, a quebra de resistência está relacionada ao aumento das frequências alélicas de outras raças, as quais sofreram aumento populacional provocado por uma seleção direcional.

Neste caso, o conhecimento prévio da raça prevalecente, bem como das raças secundárias e sua frequência é de muita utilidade para a adoção de métodos de controle com base na rotação de cultivares de soja com genes de resistência vertical.

Dias et al. (1998) relatou a quebra da resistência da cv. Hartwig, resistente a todas as raças do NCS caracterizadas pelo esquema proposto por RIGGS & SMITH (1988), em Sorriso - MT, por duas raças denominadas de 4⁺ e 14⁺.

Sistemas de rotação/sucessão anual de culturas são essenciais para o manejo de áreas infestadas com *H. glycines*, uma vez que possibilitam a manutenção de populações abaixo do nível de dano econômico (CARES & BALDWIN, 1995). Sendo assim, dentro de um manejo da cultura da soja visando o controle de *H. glycines*, a adoção de sistemas de rotação/sucessão anual de culturas com gramíneas (milho, sorgo, trigo, aveia) é o ideal, uma vez que este nematóide não parasita esta família de plantas (FRANZENER et al., 2005). Além disso, outras culturas como algodão e girassol também poderiam ser utilizadas dentro de um sistema de rotação com soja, principalmente para áreas não infestadas com outros nematóides como *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis* e *Pratylenchus brachyurus* (ASMUS, 2004; FRANZENER et al., 2005).

Os resultados apresentados nas Tabelas 6 a 10, mostram a importância da determinação de raças de populações originais de campo e também de isolados monocísticos. A identificação de raças a partir de populações de campo determina qual a população prevalecente em cada área infestada. No entanto, a identificação de raças a partir de isolados monocísticos, permite o conhecimento da variabilidade genética presente em cada população, auxiliando na escolha de cultivares de soja a serem adotadas dentro de um manejo do NCS.

Tabela 8. Número de fêmeas e cistos por planta diferenciadora e percentagem de infecção de isolados monocísticos de Cruz Alta/RS.

Diferenciadoras		Hartwig		PI 88788		PI 90763		Pecking		Pickett 71		Lee	
Rep.	Isolado	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	Raça
5	A	5	3,4	9	5,9	2	1,6	2	1,6	158	109	145	6
5	B	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0,5	93	3
5	C	10	9,5	1	0,9	1	0,9	2	3,6	2	3,6	108	3
5	D	45	28	1	0,6	0	0	1	0,6	3	1,8	163	3
5	E	1	0,8	1	0,8	1	0,8	1	0,8	0,0	0	128	3

Tabela 9. Número de fêmeas e cistos e percentagem de infecção por planta diferenciadora de isolados monocísticos de Porto Mendes/PR.

Diferenciadoras		Hartwig		PI 88788		PI 90763		Pecking		Pickett 71		Lee	
Rep..	Isolado	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	Raça
5	A	0	0	0	0	5	3	5	3	96	57	166	6
5	B	7	1	66	9,8	5	0,7	45	6,6	263	38,9	676	6
5	C	1	0,4	39	25,6	4	2,6	3	1,9	105	68,6	153	5
5	D	3	1,3	33	12,6	1	0,3	51	19,5	123	47	261	2
5	E	15	28,8	19	36,5	1	1,9	9	17,3	9	17,2	52	2

Tabela 10. Número de fêmeas e cistos e percentagem de infecção por planta diferenciadora de isolados monocísticos de Novo Horizonte/PR.

Diferenciadoras		Hartwig		PI 90763		PI 88788		Pecking		Pickett 71		Lee	
Rep.	Isolado	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	%	Média Cisto	Raça
1	A	1,1	0,4	1,6	0,6	56,2	21,9	2,4	0,9	211	82,5	355,6	5
2	B	0,6	0,1	0,6	0,6	28,6	8,1	14,8	4,2	199,3	56,6	351,8	6
3	C	0,2	0,0	2,8	0,5	22,8	4,3	1,2	0,2	345,3	65,1	530,4	6
4	D	8,8	1,5	2,0	0,4	190,6	35,9	25,8	4,9	357	67,3	571,4	5

4.2 REAÇÃO DE CULTIVARES COMERCIAIS DE SOJA À RAÇA 3 DE *H. glycines*

Dos cultivares de soja comerciais testados, apenas CD 217 e Liderança mostraram-se suscetíveis à raça 3 de *H. glycines*, permanecendo as demais cultivares dentro do padrão de resistência proposto por RIGGS & SMITH (1988) com $IP \leq 10\%$ em relação à cv. Lee, para as sete repetições testadas (Tabela 11).

A cv. Liderança é recomendada para plantio em áreas de cerrado, sendo cultivada em diferentes estados brasileiros como BA, DF, GO, MG, MT e SP. Já a cv. CD 217 é recomendada para cultivo em todas as regiões produtoras de soja do Brasil, incluindo áreas de cerrado (DIAS et al., 2007).

Tendo em vista que a raça 3 do NCS está disseminada em todas as regiões produtoras de soja do Brasil, os dados obtidos neste trabalho necessitam de confirmação uma vez que não há qualquer relato de quebra de resistência a campo desses materiais (DIAS et al., 2007).

Assevera-se ainda o fato de que os testes para a seleção de cultivares ou linhagens de soja resistentes a raças de *H. glycines*, ou mesmo àqueles envolvendo a determinação de raças fisiológicas, apresentam grande variabilidade e são dependentes das condições a que são submetidos (NIBLACK et al., 2006).

Como exemplos de variação comumente presente em testes de casa-de-vegetação encontram-se a desuniformidade genética das sementes utilizadas, pureza do inóculo e metodologia utilizada envolvendo a temperatura na qual planta e inóculo são submetidos, época de avaliação, entre outros (WANG et al., 1998; RIGGS & SMITH, 1991).

Sendo assim, novos testes deverão ser efetuados, tanto em casa-de-vegetação quanto a campo, com o objetivo de se testar novas fontes de sementes dos cultivares Liderança e CD 217. No entanto, não está descartada a possibilidade da quebra da resistência desses cultivares para a população testada neste estudo, uma vez que os outros cultivares confirmaram a recomendação quanto à resistência, tendo sido mantidos sob as mesmas condições.

Uma outra hipótese para a quebra da resistência dos cultivares comerciais testados seria que, apesar de ter-se inoculado uma população pertencente à raça 3 de *H. glycines*, a frequência alélica desta população pode ser diferente da frequência alélica das populações anteriormente testadas para a recomendação das cultivares. Neste caso, a identificação de raça pelo tipo HG explicaria a diferença encontrada, já

que, dentro de uma mesma raça 3 pelo tipo HG, há a possibilidade de detecção de 16 formas variantes.

Tabela 11. Reação de cultivares comerciais e de plantas de soja hospedeiro-diferenciadoras a uma população de *H. glycines* pertencente à raça 3.

Variedade	Nº. total de cistos e fêmeas	% de infecção
Lee	583	100
CD 202	1016	174,27
Hartwig	6	1,29
PI 88788	14	2,40
PI 90763	1	0,17
Peking	4	0,68
PI 437654	0	0
Pintado	4	0,68
Liderança	672	115,26
Msoy 8400	6	1,29
Msoy 7901	2	0,34
Msoy 8757	13	2,22
Msoy 8329	56	9,6
Tabarana	9	1,54
Tucunare	0	0
Matrinxã	0	0
TMG 117RR	7	1,20
TMG 115RR	0	0
TMG 113RR	0	0
FFFFP98N71	0	0
P98N82	1	0,17
P98N41	1	0,17
Bad Ford	2	0,34
Centennial	3	0,51
CD217	227	38,93

5 CONCLUSÃO

Os resultados apresentados neste trabalho permitiram as seguintes conclusões:

- A identificação de raças fisiológicas a partir de isolados monocísticos de *H. glycines* permitiu um melhor entendimento da variabilidade genética presente a campo.
- A identificação de raças fisiológicas de *H. glycines* a partir de populações policísticas de campo, permitiu a detecção da raça prevalecente para cada amostra analisada.
- Com exceção das cvs. Liderança e CD 217, as demais cultivares comerciais mostraram ser resistentes à população de *H. glycines* raça 3 testada neste estudo.
- Novos ensaios envolvendo as cvs. Liderança e CD 217 deverão ser efetuados para se comprovar a suscetibilidade apresentada neste trabalho.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDELNOOR, R. V.; DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V; MARIN, R. R. Caracterização molecular de populações do nematóide-de-cisto-da-soja com diferentes índices de parasitismo na cultivar Hartwig. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 36, n. 2, p. 1-11, 2001.

ASMUS, G.L. Ocorrência de Nematóides Fitoparasitos em Algodoeiro no Estado de Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 77-86, 2004.

ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V. & HENNING, A. A. **Doenças da soja (*Glycine Max* L.)**. In: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamim Filho, A.; Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. 3ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 642-675, 1997.

BALDWIN, J.G. & MUNDO-OCAMPO, M. **Heteroderinae, cyst and non-sist-forming nematodes**. In: Nickle, W.R. manual of agricultural nematology. New York, Marcel Dekker, p. 275-362, 1991.

BRITO, C. H. de; SEDIYAMA, T; POZZA, E. A; DIAS, W. P, Níveis de inóculo e época para avaliações de *H. Glycines* (Ichinohe) em soja. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, p. 836-840, 1999.

CARES, J.E. & BALDWIN, J.G. Nematóides formadores de cistos do gênero *Heterodera*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 3, p. 29-84, 1995.

CARVALHO, V. de P., Identificação de marcadores moleculares para a resistência ao Nematóide de Cisto da Soja [*Heterodera glycines* (Ichinohe)], Dissertação apresentada ao programa Genética e Melhoramento da Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1999.

CONAB. Soja: Área e produção das safras paranaense e brasileira 2003/04 e 2004/05.

CONAB. Soja – Brasil: série histórica de área áreas plantadas, safras 1976/77 a 2006/07 em mil hectares. Brasília, 2006. Disponível em [:http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra2/sojaSerieHist.xls](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra2/sojaSerieHist.xls).

COODETEC, Cooperativa Central de Pesquisa Agrícola, Nematóide de Cisto da Soja Manejo Integrado, Cascavel, 2004.

DA SILVA, J.A.L.; NETO, L.M.O; CARVALHO, E.M.S. **Levantamento da ocorrência do Nematóide de Cisto da Soja (*Heterodera glycines*) em áreas de cultura de soja (*Glycine Max*) no cerrado do Piauí**. Universidade Federal do Piauí, comunicado técnico n. 6, p.1-4, 2006

DIAS, W. P; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Nematóides de importância para a soja no Brasil. **Boletim de Pesquisa de Soja**, FUNDAÇÃO MT, Ed. Central de textos, Rondonópolis – MT, p.173-178, 2007.

DIAS, W. P; SILVA, J. F. V.; KIIHL, R.A. S.; HIROMOTO, D.M. & ABDELNOR, R.V. Quebra de resistência da cv. Hartwig por população de campo do nematóide do cisto da soja (*Heterodera glycines*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 6, p. 971-974, 1998.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Recomendações técnicas par a cultura da soja na região central do Brasil 1995/1996, (EMBRAPA-CNPSO Documentos, 88),149p.,1995

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Resultados de pesquisas da Embrapa soja 1997, (EMBRAPA-CNPSO Documentos, 118). Londrina, 268 p 1998b.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Tecnologia de produção de Soja Paraná 2007, Sistema 10 de Produção, Londrina, 217p., ISSN 1677-8499, n.10, 2006.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Soja, Tecnologia de produção de Soja Região central do Brasil 2007, Sistema 11 de Produção, Londrina, 225p., p. 65-89, ISSN 1677-8499, n.10, 2006.

FERRAZ, L.C.C.B. & MONTEIRO, A.R. Nematóides. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. Manual de Fitopatologia. vol. 1, 3ª ed., São Paulo, Agronômica Ceres, p. 168-201, 2005.

FRANZENER, G.; UNFRIED, J.R.; STANGARLIN, J.R. & FURLANETTO, C. Nematóides formadores de galha e de cisto patogênicos à cultura da soja em municípios do oeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 261-265, 2005.

GARCIA, A.; SILVA, J.F.V.; LONIEN, G.; PEREIRA, J.E. Avaliação de perdas causadas pelo nematóide de cisto através da comparação de rendimento entre cultivares resistentes e suscetíveis, **Anais do Congresso Brasileiro de Nematologia**, 25 2005. Piracicaba, SP, ESALQ/USP, p 109, 2005.

GOLDEN, A.M.; EPPS, J.M.; RIGGS, R.D.; DUCLOS, L.A.; FOX, J.A.; BERNARD, R.L.; Terminology and identity of infraspecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Plant Disease Reporter**, v. 54, p. 544-546, 1970.

MENDES, M.L. and DICKSON, D.W. Detection of *Heterodera glycines* on soybean in Brazil. **Plant Disease**, v. 77(5), p. 499-500, 1993.

NIBLACK, T.L.; ARELLI, P.R.; OPPERMAN, C.H.; ORF, J.H.; SCHMITT, D.P.; SHENNON, J.G.; TYLKA, G.L., A revised Classification Scheme for Genetically Diverse Populations of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 34, nº 4, p. 279-288, 2002

NIBLACK, T.L.; LAMBERT, K. N.; & TYLKA, G.L. A Model Plant Pathogen from the Kingdom Animalia: *Heterodera glycines*, the Soybean Cyst Nematode. **Annual Review Phytopathology**, v. 44, p. 283-303, 2006.

NOEL G.R.; EDWARDS, D.I. Population development of *Heterodera glycines* and soybean yield in soybean-maize rotation following introduction into a noninfested field. **Journal of nematology**. V. 28:3, p. 335-342, 1996.

NOEL, G.R.; MENDES M.L.; MACHADO, C.C. Distribution of *Heterodera glycines* races in Brazil. **Nematropica**, v. 24, p. 63-68, 1994

RIGGS, R.D. & SCHMITT, D.P.; Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*, **Journal of Nematology**, v. 20, n. 3, p. 392-395, 1988.

RIGGS, R.D. & SCHMITT, D.P.; Optimization of the *Heterodera glycines* race test procedure. **Journal of Nematology**, v. 23, p. 149-154, 1991.

RIGGS, R.D. & Wrather, A. J.; Biology and Manegement of the Soybean Cyst Nematode, **The American Phytopathological Society**, p. 15-23, 1992

ROCHA, M.R.; ANDERSON, T.; WELACKY, T. Effect of harvest Timing on *Heterodera glycines* Race and HG Type Characterization. **Nematologia Brasileira**, v. 28(2), p. 167-171.

ROCHA, M.R.; CARVALHO, Y.; CORRÊA, G. C.; CATTINI, G.P.; RAGAGNIN, O. Efeito da textura dosolo sobre População de *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**. Brasília, v. 30(1), p. 11-15, 2006

ROSS, J.P. Physiological strains of *Heterodera glycines*. **Plant Disease Reporter**, v. 46 p. 766-769, 1962.

ROSSI, C.E. & FERRAZ, L.C.C.B. **Efeitos de diferentes plantas hospedeiras sobre a morfometria de uma população Brasileira de Hetrodera glycines**, Centro Experimental do Instituto Biológico, São Paulo, v. 68, n1, p. 95-102, 2001.

SCHMITT, R.D.; BARKER, K.R. Plant-parasitic nematodes on soybean in North Carolina. The North Carolina Agricultural Extension Service, 8p. 1985.

SCHMITT, D.P. & NOEL, G.R., **Nematodes parasites of soybean**. In: Nickle, W.R. (Ed.), Plant and insect nematodes. New York, Marcel Dekker, p. 13-59, 1984.

SCHUSTER, I. Identificação de QTL para a Resistência ao Nematóide de Cisto da Soja e a capacidade de Combinação de Genitores. **Tese de doutorado**. Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG, 85 p., 1999.

SCHUSTER, I.; VIEIRA, E.S.N.; SANTANA, H.; SINHORATI, D.; SILVA, R.B. & OLIVEIRA, M.A.R. Fluxo gênico em soja na região oeste do Paraná. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 515-520 , 2007.

SHOEMAKER, R.C.; GUFFY,R.D.; LORENZEN, L.L.; SPESHT, J.E. Molecular genetic mapping of soybean: map utilization. **Crop Science**., v. 32: p. 1091-1098, 1992.

TODD, T.C. & PEARSON, C.A.S. Establishment of *Heterodera glycines* in three soil types. **Ann. Appl. Nematology**, v. 2, p. 57-60, 1988

TRANTAPHYLLOU, A.C., Genetic structure of races of *Heterodera glycines* and inheritance of ability to reproduce on resistant soybeans. **Journal of Nematology**, v. 7, p. 356-364, 1975a.

TRANTAPHYLLOU, A.C. Oogenesis and the chromosomes of twelve bisexual species of *Heterodera* (Nematoda: Heteroderidae). **Journal of Nematology**, v.7, p. 34-40, 1975b.

WANG, S. RIGGS, R.D. & CRIPPEN, D. Soil infestation density affects tge results of *Heterodera glycines* race tests. **Journal of Nematology**, v. 30, p. 553-562, 1998.

WRATHER, J.A.; ANAND, S.C. & DROPKIN, V.H. Soybean cyst nematode control. **Plant Dis.** V. 68 p. 829-833, 1984

YORINORI, J.T. Soja (*Glycine max* (L.) Merrill). **Controle de Doenças.** In: Ribeiro do Vale, F.X. & Zambolim, L. Controle de Doenças de Plantas – Grandes Culturas. Viçosa, Minas Gerais, UFV, v. 2, p. 953-1024, 1997.

YORINORI, J.T. **Riscos de surgimento de novas doenças na cultura da soja.** In: Congresso de Tecnologia e competitividade da soja no mercado global. Fundação MT, Cuiabá, p. 165-169, 2000.

YOUNG, L.D. **Effects of soil disturbance on reproduction of *Heterodera glycines***, **Journal of Nematology.** v. 19, p. 141-142, 1987. in: RIGGS, R.D. and WRATHER, J.A. Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, p. 27-36, 1992