

Efeito da densidade de inóculo sobre a população de *Heterodera glycines* em cultivares de soja resistentes e suscetível

Silva, J.O. ⁽¹⁾; Rocha, M.R. ⁽²⁾; Araújo, F.G. ⁽³⁾; Alves, G. C. S. ⁽³⁾; Barbosa, K. A. G. ⁽³⁾;

Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás

Email do orientado: juliana@agro.grad.ufg.br

Email do orientador: mara.rocha@pq.cnpq.br

Palavras - chave: nematóide de cisto da soja; *Glycine max*; densidade populacional

1- INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) é a mais importante oleaginosa cultivada no mundo, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial. A produção brasileira, até o início dos anos 80, concentrou-se na região Centro-Sul. A partir daí, a região Centro-Oeste teve um aumento significativo na participação da safra brasileira. O complexo soja colheu aproximadamente 75 milhões de toneladas na safra 2010/11, e o Brasil é o líder em exportações mundiais do produto, com aproximadamente 29 milhões de toneladas de grãos *in natura* (CONAB, 2010).

No Brasil, encontram-se aproximadamente 25 patógenos de importância econômica que atacam a cultura da soja. Em uma mesma lavoura podem ocorrer diversos tipos de doenças, em diferentes níveis de danos, variando de safra a safra. Os fitonematóides são organismos patogênicos que parasitam as raízes de diversas culturas de importância econômica, dentre elas, a soja. Estes fitoparasitas têm causado severas perdas nas culturas, em todo mundo, sendo isso bastante evidenciado nas últimas décadas. A magnitude dos danos que os nematóides causam nas plantas é bastante variável. Algumas plantas podem ser

Revisado pelo orientador

(1) Orientando - Estudante de Agronomia, Universidade Federal de Goiás

(2) Orientador – Prof. Dra., Universidade Federal de Goiás

(3) Doutorando em Agronomia - Universidade Federal de Goiás

altamente suscetíveis a determinado nematóide, como é o caso da cultura da soja exposta a populações de *Heterodera glycines*. Já outras plantas podem tolerar populações elevadas de nematóides sem sofrer danos expressivos.

O nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* (Ichinohe, 1952), foi observado pela primeira vez no Japão, sendo a doença causada por ele denominada “nanismo amarelo”, devido a ocorrência dos sintomas mais conspícuos nas plantas altamente infectadas (Sediyama et al., 2009) e se configura como uma das principais pragas da cultura da soja, devido aos prejuízos causados e pela sua facilidade de disseminação (Embrapa, 2006). Ele penetra nas raízes da planta de soja e dificulta a absorção de água e nutrientes condicionando porte e número de vagens reduzidas, clorose e baixa produtividade. Foi detectado pela primeira vez no Brasil na safra 1991/92. Segundo Embrapa (2010), atualmente o nematóide de cisto da soja está presente em 150 municípios de dez estados: Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Bahia, Tocantins e Maranhão.

A erradicação do *H. glycines*, nas áreas contaminadas, é praticamente impossível. Dessa forma, deve-se conviver com esse nematóide, adotando práticas culturais com o intuito de manter baixos os seus níveis populacionais (Dias et al., 2007). As principais medidas de controle são a rotação de culturas, o manejo de solo e a utilização de cultivares resistentes, sendo recomendado o emprego dessas três medidas de forma associada, para evitar a pressão de seleção sobre a população do nematóide.

Para o controle destes fitonematóides é recomendado que seja utilizado um conjunto de medidas, sendo a principal delas a prevenção. Como técnicas a serem integradas no manejo, tem-se recomendado o manejo adequado do solo, desinfecção de implementos agrícolas, rotação de culturas com plantas não hospedeiras, uso de cultivares resistentes e beneficiamento correto de sementes.

O uso de cultivares resistentes não deve ser utilizado de forma isolada, pois a densidade populacional pode influenciar muito na eficiência dessa alternativa de controle. Em áreas com alta população inicial o manejo deve ser iniciado com a rotação de culturas, com uma cultura não hospedeira, com o intuito de evitar a pressão de seleção e maximizar a eficiência dos genes de resistência disponíveis no mercado.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da densidade de inóculo sobre a população de *Heterodera glycines* em cultivares de soja resistente e suscetível, sob condições de casa de vegetação.

3 - MATERIAIS E MÉTODOS

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 (cultivares) x 4 (concentrações do inóculo) x 2 (avaliações – juvenis e fêmeas), com seis repetições, totalizando 144 vasos, sendo 72 vasos para a avaliação de juvenis e 72 vasos para avaliação da fêmeas.

Sementes das cultivares de soja resistentes (BRSGO 8860 RR, BRSGO Chapadões) e suscetível (BRS Valiosa RR) ao *H. glycines*, raça 3, foram semeadas em vasos de cerâmica contendo uma mistura estéril de areia e solo na proporção de 1:1. Os vasos ficaram em bancada imersos em areia, sob condições de casa de vegetação. Foram semeadas quatro sementes em cada vaso, e após a emergência desbastou-se três dessas plantas. Dois dias após essa operação, as plantas remanescentes foram inoculadas com 1.000, 2.500, 5.000 e 10.000 ovos e juvenis de segundo estágio (J2) de *H. glycines*, raça 3. Dez dias após a inoculação, as plantas foram retiradas dos vasos e assim distribuídas: a metade foi encaminhada para o laboratório para avaliação de juvenis e subsequente cálculo da taxa de sobrevivência; e a outra metade das plantas foram transplantadas para vasos contendo solo estéril onde permaneceram até a época da avaliação de fêmeas nas raízes.

Para cálculo da taxa de sobrevivência, as raízes foram coradas com a técnica que emprega o clareamento com NaOCl e coloração com fuccina ácida (Byrd et al., 1983). Os fragmentos radiculares foram embebidos, por quatro minutos, em uma solução a 1,5% de NaOCl, sendo posteriormente drenados e lavados para retirar todo o hipoclorito de sódio, e permaneceram embebidos em água por quinze minutos. Em seguida, adicionou-se 1 ml de corante em cerca de 30 mL de água e o material levado a fervura. O corante foi preparado diluindo-se 3,5 g de fuccina ácida em 250 mL de ácido acético (99,7%) e 750 mL de água destilada. Após a fervura, por aproximadamente dois minutos, os fragmentos radiculares foram drenados, deixados esfriar para evitar a formação de bolhas dentro do tecido radicular, e lavados em água corrente, para retirar o excesso de corante. Em seguida foram colocados para clarear em glicerina acidificada com duas gotas de ácido clorídrico e levados a fervura. Após o clareamento, os fragmentos foram colocados em glicerina e armazenados em geladeira para posterior quantificação.

As raízes coloridas foram colocadas em placas de Petri e o número de juvenis foram quantificados sob microscópio estereoscópico (aumento de 15x). O número de juvenis nas

raízes coradas e o número de fêmeas presentes nos sistemas radiculares das plantas mantidas nos vasos foram utilizados para calcular a taxa de sobrevivência.

$$\text{Taxa de sobrevivência} = \frac{\text{fêmeas presentes no sistema radicular} \times 100}{\text{número de juvenis nas raízes coradas}}$$

As plantas remanescentes nos vasos com solo estéril foram mantidas por mais 20 dias, após o transplante, para avaliação do número de fêmeas. Para avaliação do número de fêmeas, as plantas que permaneceram nos vasos foram retiradas, levadas ao laboratório e as raízes lavadas, sob jato forte de água, sobre um conjunto de peneiras de 20 mesh e 60 mesh. O material retido na peneira de 20 mesh foi descartado e o retido na peneira de 60 mesh foi recolhido e vertido em papel de filtro sobre uma calha telada (Andrade et al., 1995). O papel de filtro foi levado ao microscópio estereoscópico (aumento de 15x) para contagem do número de fêmeas. Após a quantificação, dez fêmeas foram separadas aleatoriamente e rompidas sobre um conjunto de peneiras de 100 mesh sobre outra de 400 mesh para obtenção de ovos. A suspensão contendo os ovos que ficaram retidos na peneira de 400 mesh, foi colocada em um Becker de 50 mL de capacidade. A suspensão foi homogeneizada e os ovos presentes em uma alíquota de 1 mL foram quantificados sob microscópio óptico (aumento 50x), com auxílio da câmara de Peters. O sistema radicular das plantas foi submetido à pesagem (peso fresco) e os resultados expressos em número de fêmeas por grama de raiz.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% e probabilidade.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em todas as concentrações de inóculo trabalhadas (1.000, 2.500, 5.000 e 10.000 ovos e J2) as cultivares BRSGO 8860 RR e BRSGO Chapadões, obtiveram menores números de fêmeas por grama de raiz que a cultivar BRS Valiosa RR (Tabela 1). Esse comportamento já era esperado uma vez que essas cultivares possuem genes de resistência ao *H. glycines*, raça 3, e apresentam resultados semelhantes em campo naturalmente infestado, mesmo em altas concentrações do nematóide (Dias et al., 2007).

Tabela 1. Número médio de fêmeas por grama de raiz nas cultivares de soja BRS Valiosa RR, BRSGO 8860 RR e BRSGO Chapadões, em diferentes concentrações de inoculo de *H. glycines*.

Concentrações Ovos e J2	Fêmeas por grama de raiz			Média
	BRS Valiosa RR	BRSGO 8860 RR	BRSGO Chapadões	
1.000	25,23 a B	1,64 a A	0 a A	8,95 a
2.500	50,49 a B	3,38 a A	0 a A	17,96 a
5.000	53,18 a B	2,43 a A	0,09 a A	18,57 a
10.000	228,79 b B	9,43 a A	0,09 a A	79,48 b
Média	89,422 B	4,22 A	0,05 A	
CV (%)		56,15		

Dados apresentados são originais. Para análise estatística os dados foram transformados em raiz quadrada de $x + 1$. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Nas cultivares BRSGO 8860 RR e BRSGO Chapadões o número de fêmeas por grama de raiz não diferiu em função das quatro doses de inóculo inicial utilizadas (Tabela 1). No entanto, para a cultivar BRS Valiosa, a concentração de inóculo de 10.000 ovos e J2, teve um número de fêmeas por grama de raiz superior as demais concentrações utilizadas. Koenning (2000) encontrou resultados semelhantes avaliando a cultivare suscetível ao *H. glycines*, Deltapine 105, e a resistente, Hartwig. Este autor observou que à medida que se aumentava a densidade populacional, a tendência era o aumento do número de fêmeas no sistema radicular da cultivar suscetível seguido de uma diminuição na produtividade.

O número de ovos por fêmea nas cultivares não diferiram em função das concentrações de inóculos empregadas no experimento. Comparando as cultivares em função das diferentes doses de inóculo observa-se que o número de ovos por fêmea nas cultivares BRS Valiosa RR e BRSGO 8860 RR não diferiram entre si. Essa variável também não diferiu entre as cultivares BRSGO 8860RR e BRSGO Chapadões para as concentrações de 5.000 e 10.000 ovos e J2 (Tabela 2).

Para cultivar BRSGO Chapadões foi encontrado número de ovos igual a zero nas concentrações de 1.000 e 2.500 ovos por planta. Esse valor não significa que as fêmeas não possuíam ovos, mas sim que não foram encontradas fêmeas nas amostras avaliadas (Tabela 1 e 2). A diferença no parasitismo de *H. glycines*, raça 3, nas cultivares resistentes é possível uma vez que os genes de resistência dessas duas cultivares não são oriundos da mesma fonte de resistência. A cultivar BRSGO 8860 RR têm sua resistência oriunda da diferenciadora PI 88788 enquanto que a cultivar BRSGO Chapadões é oriunda da PI 437654. Estudos

realizados por Luedders (1987) e Colgrove & Niblack (2005) demonstraram que a PI 88788 obtém maiores proporções de machos e fêmeas de *H. glycines* que a PI 437654, provavelmente em função do momento de ocorrência da reação de hipersensibilidade, que é o mecanismo de resistência presente.

Tabela 2. Número médio de ovos por fêmea nas cultivares de soja BRS Valiosa RR, BRSGO 8860 RR e BRSGO Chapadões, em diferentes doses de inoculo de *H. glycines*.

Concentrações Ovos e J2	Ovos/Fêmea			Média
	BRS Valiosa RR	BRSGO 8860 RR	BRSGO Chapadões	
1.000	46,15 a B	50,67 a B	0 a A	32,27 a
2.500	50,26 a B	23,60 a B	0 a A	24,62 a
5.000	42,42 a B	23,04 a AB	8,00 a A	24,48 a
10.000	54,05 a B	23,29 a AB	8,50 a A	28,62 a
Média	48,22 C	30,15 B	4,13 A	
CV (%)				46,39

Dados apresentados são originais. Para análise os dados foram transformados em raiz quadrada de $x + 1$. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

No tocante à taxa de sobrevivência, esta foi sempre superior na cultivar suscetível BRS Valiosa RR. Nas duas cultivares resistentes ao *H. glycines* avaliadas no experimento, a taxa de sobrevivência não diferiu em função das concentrações de inoculo. No entanto, na cultivar suscetível BRS Valiosa RR, a taxa de sobrevivência na menor concentração de inóculo utilizada, foi superior e diferiu estatisticamente das duas maiores concentrações de inoculo, 5.000 e 10.000 ovos e J2 (Tabela 3).

Tabela 3. Taxa de sobrevivência de fêmeas de *H. glycines* nas cultivares de soja BRS Valiosa RR, BRSGO 8860 RR e BRSGO Chapadões, em diferentes concentrações de inoculo.

Concentrações Ovos e J2	Taxa de Sobrevivência			Média
	BRS Valiosa RR	BRSGO 8860 RR	BRSGO Chapadões	
1.000	134,27 b B	3,61 a A	0 a A	45,96 a
2.500	85,69 ab B	12,41 a A	0 a A	32,70 a
5.000	38,13 a B	2,94 a A	0,28 a A	13,78 a
10.000	44,33 a B	9,53 a A	0,49 a A	18,12 a
Média	75,61 B	7,12 A	0,19 A	
CV (%)				59,07

Dados apresentados são originais. Para análise os dados foram transformados em raiz quadrada de $x + 1$. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e da mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Todos os sistemas radiculares foram infectados pelo nematóide, no entanto, as fêmeas só se desenvolveram significativamente no sistema radicular da cultivar suscetível. As taxas

de sobrevivência do nematoíde nas cultivares resistentes variaram de 0% a 12,4%, valores estes próximos aos encontrados por Colgrove & Niblack (2005) para as diferenciadoras PI 88788, PI 437654, PI 548402 e PI 90763, todas resistentes ao *H. glycines*, raça 3. Já para a cultivar BRS Valiosa RR, suscetível, as taxas de sobrevivência variaram de 44,32% a 134,26%. Esses valores corroboram os já encontrados por Evans & Fox (1977) e Colgrove & Niblack (2005) para a cultivar de soja utilizada como padrão de suscetibilidade Lee. Colgrove & Niblack (2005) encontraram taxas de sobrevivência variando de 41% a 112,0% para as diversas fontes de resistência testadas em seus experimentos. Halbrendt et al. (1992) relatam uma taxa de mortalidade variando entre 23% e 51% e afirmam ser normal uma alta porcentagem de mortalidade de juvenis.

5 – CONCLUSÕES

As cultivares de soja resistentes ao *H. glycines*, raça 3, BRSGO 8860 RR e BRSGO Chapadões apresentam menor número de fêmeas por grama de raiz quando comparadas com a cultivar suscetível BRS Valiosa RR.

A maior concentração de inoculo (10.000 ovos e J2) propicia aumento no número de fêmeas no sistema radicular da cultivar suscetível BRS Valiosa RR.

O número de ovos por fêmea não é influenciado pelas concentrações de inóculo.

A taxa de sobrevivência na cultivar suscetível, BRS Valiosa RR é superior à das cultivares resistentes BRSGO 8860 RR e BRSGO Chapadões.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, P. J. M.; ASMUS, G. L. Disseminação do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) pelo vento durante o preparo de solo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 1, p. 98-99, 1997.

BYRD, D.W., T. KIRPATRICK & K.R. BARKER. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. **Journal of Nematology**. Hanover, v. 15, n. 1, p. 142-143, 1983.

COLGROVE, A. L.; NIBLACK, T. L. 2005. The effect of resistant soybean on male and female development and adult sex ratios of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 37, n. 2, p. 161-167, 2005.

CONAB – COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira 2010/2011**. Disponível em: <
<http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1253&t=>> Acesso em: 9 de junho de 2011, 22:26.

DIAS, W.P.; SILVA, J.F.V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G.E.S. Biologia e controle do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). In: **Resultados de pesquisa da Embrapa Soja 2003: ecofisiologia, biologia molecular e nematóides**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. p. 32-37.

DIAS, W.P.; SILVA, J.F.V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G.E.S. Nematóides de importância para a soja no Brasil. In: **Boletim de Pesquisa de Soja 2007**. Rondonópolis: Fundação MT, 2007. n.11, p.173-184.

DIAS, W.P.; SILVA, J.F.V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. **Nematóides em soja: Identificação e controle**. Circular técnica, Londrina: Embrapa Soja, 2010.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2006. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2007**. Londrina, Embrapa – Soja. 2006. 225p. (Sistemas de Produção 11).

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2010. **Tecnologias de produção de soja - região Central do Brasil 2009 e 2010**. Londrina, Embrapa Soja, 2010. p. 262.

EVANS, D. M.; FOX, J. A. The sex ratio of *Heterodera glycines* at low population densities. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 9, n. 3, p. 207-210, 1977.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; ARIERA, C. R. D. **Manejo Sustentável de Fitonematóides**. Viçosa: UFV, 2010, 304p.

HALBRENDT, J. M.; LEWIS, S. A.; SHIPE, E. R. A technique for evaluating *Heterodera glycines* development in susceptible and resistant soybean. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 24, n. 1, p. 84-91, 1992.

KOENNING, S. R. Density-dependent yield of *Heterodera glycines* resistant and susceptible cultivars. **Supplement to the Journal of Nematology**, v. 32 (4S), p. 502-507, 2000.

LUEDDERS, V.D. Selection against *Heterodera glycines* males by soybean lines with genes for resistance. **Journal of Nematology**. Hanover, v. 19, n. 4, p. 459-462, 1987.

SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: MECENAS, 2009. 314p.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA. **O nematóide de cisto da soja: A experiência brasileira**. Jaboticabal, 1999. 132p.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372p.