

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

JULIANA EVANGELISTA DA SILVA ROCHA

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA AO FITONEMATÓIDE *Heterodera glycines*
RAÇA 3**

**Uberlândia - MG
Dezembro –2006**

JULIANA EVANGELISTA DA SILVA ROCHA

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA AO FITONEMATÓIDE *Heterodera glycines*
RAÇA 3**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Agronomia,
da Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Osvaldo Toshiyuki Hamawaki

**Uberlândia - MG
Dezembro -2006**

JULIANA EVANGELISTA DA SILVA ROCHA

**REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE SOJA AO FITONEMATÓIDE *Heterodera glycines*
RAÇA 3**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado ao curso de Agronomia,
da Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 06 de dezembro de 2006

Prof. Dr. Osvaldo Toshiyuki Hamawaki
Orientador

Prof. Dr. Maria Amelia dos Santos
Membro da Banca

Prof. Dr. Fernando César Juliatti
Membro da Banca

DEDICATÓRIA

Dedico essa minha conclusão de curso aos meus pais, que com certeza foram as pessoas que mais torceram por mim. Obrigada por todo o apoio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço o meu orientador, Osvaldo Toshiyuki Hamawaki pelos ensinamentos. Agradeço também a Professora Maria Amelia por toda a atenção, o carinho e a disponibilidade de sempre me ajudar. Não poderia deixar de citar alguns nomes de pessoas que estiveram comigo nesse projeto e sempre estiveram dispostos a me ajudar: Karen Rodriguês de Toledo Alvim, Marcelo Cunha Marquez, Rafael Prado Berbert e Vítor Honório Pinto. Obrigado a todos.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar linhagens de soja de ciclo precoce e tardio quanto à resistência ao nematóide de cisto *Heterodera glycines*, raça 3, em casa de vegetação e no campo em Iraí de Minas, MG. As sementes, oriundas de ensaios regionais, pertencem ao Programa de Melhoramento de Soja da UFU e pelo menos um dos parentais de todos os genótipos apresentam resistência ao nematóide de cisto raça 3. Em casa de vegetação, o experimento com ciclo precoce foi constituído por seis linhagens, uma cultivar suscetível (Conquista) e duas cultivares resistentes (MSOY8001 e MSOY 8400). O experimento no campo foi instalado em Iraí de Minas - MG, era composto por seis linhagens de ciclo precoce e sete de ciclo tardio, uma testemunha resistente ao nematóide de cisto (MSOY 8001) e uma testemunha suscetível (Conquista). O delineamento utilizado em todos os experimentos foi o inteiramente casualizado. Para determinar a reação dos genótipos quanto à multiplicação do nematóide de cisto, utilizou-se a média aritmética das fêmeas e dos cistos encontrados em cada parcela. Em casa de vegetação, quatro genótipos de ciclo precoce apresentaram-se como moderadamente resistente. No campo todos os genótipos apresentaram suscetibilidade ao nematóide de cisto raça 3. No entanto, os genótipos precoces de moderada resistência na casa de vegetação apresentaram menores níveis de suscetibilidade no campo.

Palavras chave: soja, *Heterodera glycines*, resistência

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	07
2 REVISÃO DE LITERATURA	09
2.1 Sintomatologia e danos	09
2.2 Métodos de controle	10
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Localização dos experimentos	13
3.2 Genótipos estudados	13
3.3 Preparo do solo e plantio	13
3.4 Caracterização experimental	13
3.5 Obtenção de inóculo e inoculação no ensaio de casa de vegetação	14
3.6 Condução do experimento em casa de vegetação	14
3.7 Avaliação do experimento em casa de vegetação	15
3.8 Amostragem no experimento de campo	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 Genótipos de ciclo precoce em casa de vegetação	17
4.2 Genótipos de ciclo tardio em casa de vegetação	18
4.3 Genótipos no campo	18
5 CONCLUSÕES	22
REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

A cultura da soja lidera o “ranking” brasileiro de commodities, sendo uma importante fonte de óleo e proteína. O Brasil é o maior produtor dessa leguminosa e um dos únicos países que tem ainda a possibilidade de incremento na área de plantio, pela grande disponibilidade de terras aptas ao cultivo dessa leguminosa, principalmente nas regiões Centro Oeste e Norte. Isto é possível devido aos trabalhos incessantes dos fitomelhoristas que vêm desenvolvendo cultivares que cada vez mais conquistam diferentes regiões, climas e condições fitossanitárias adversas. Essas cultivares possuem características que permitem o estabelecimento, desenvolvimento e produção adequadas em locais onde há presença dos fitonematóides.

O manejo exercido pelo homem, atua como agente gerenciador e modificador do sistema planta – ambiente, visando a melhor interação desse sistema, seja através da escolha da espécie ou cultivares melhores adaptadas ao ambiente, seja pela adequação (correção) do ambiente, quando este se apresenta com algum fator limitante à produção, desde que esse fator seja, economicamente, passível de melhoria (CÂMARA; HEIFFIG, 2000). O melhoramento vegetal assume papel de suma importância, pela procura por materiais mais produtivos, melhores qualidades químicas e físicas, resistentes ou tolerantes às pragas e às doenças, adaptados ao local de cultivo que vem de encontro com as expectativas do produtor que necessita mais do que nunca ser competitivo.

O nematóide de cisto da soja foi detectado pela primeira vez no Japão em 1915 (RIGGS, 1977). Somente em meados de 1960 foi que surgiu a primeira cultivar de soja resistente ao patógeno nos EUA (ROSS, 1962). Na América do Sul, foi constatado pela primeira vez na Colômbia. (NORTON et al., 1983). Noel (1992) menciona que em 1989 obteve evidências da presença desse nematóide na Argentina. Nos EUA desde sua detecção em 1954, é tido como um dos mais sérios problemas fitossanitários da cultura da soja. (WINSTEAD et al., 1955)

No Brasil, *Heterodera glycines*, foi detectada pela primeira vez na safra 91/92 de soja, em amostras de solo e raízes provenientes de Nova Ponte – MG (LIMA et al., 1992), Campo Verde – MT (LORDELLO et al., 1992) e Chapadão do Céu – GO (MONTEIRO; MORAES, 1992). Esse nematóide dispersou com rapidez, passando de uma área infestada de 10.000 há em 91/92 para aproximadamente 2 milhões de hectares em 97/98. O maior número de municípios com áreas infestadas ocorria no Centro Oeste brasileiro, em regiões dos Cerrados (SILVA, 1999). No Brasil já foram encontradas 11 raças demonstrando elevada variabilidade genética do nematóide no País.

Algumas estratégias, incluindo a rotação de culturas, o manejo do solo e a utilização de cultivares resistentes de soja, permitem reduzir as perdas causadas pelo nematóide do cisto da soja, sendo que o controle, freqüentemente, envolve combinação de medidas. Apesar de ser um método de controle econômico e eficiente, o uso de cultivares resistentes de maneira contínua pode provocar pressão de seleção de raças, devido à grande variabilidade genética do nematóide. O manejo mais racional é a alternância de cultivares resistentes, plantas não hospedeiras e com cultivares suscetíveis. Isso evitaria que o nematóide mude de raça e, assim, a resistência das cultivares estaria preservada. A rotação de soja com uma espécie não hospedeira, no verão, é o método que vem possibilitando a produção de soja nas áreas infestadas. O milho tem sido a espécie mais utilizada na rotação com a soja. O algodão, o arroz, a mamona, o girassol e a cana, desde que economicamente viáveis, também são boas opções. De modo geral, a substituição da soja, um ano por uma espécie não hospedeira, proporciona uma redução da população do NCS no solo suficiente para garantir o cultivo da soja por mais um ano, devendo-se continuar a rotação na seqüência, pois a população volta a crescer a níveis de risco.

No caso de cultivo de verão por dois ou mais anos consecutivos com espécies não hospedeiras, pode-se cultivar soja na área nos dois anos seguintes, sem risco de perda pelo NCS, se o pH do solo estiver nos níveis indicados para a região. Nesse caso, por medida de segurança, indica-se providenciar avaliação da população do nematóide no solo antes do segundo cultivo de soja. Com relação ao cultivo de inverno, em áreas infestadas pelo NCS, indica-se utilizar apenas as espécies não hospedeiras (gramíneas, crucíferas, girassol, mucunas, entre outras). O cultivo de espécies hospedeiras no inverno, tais como soja, feijão, tremoço e ervilha permitirá que a população do nematóide se mantenha alta. O NCS reproduz-se na soja germinada a partir de grãos perdidos na colheita (soja “guaxa” ou “tiguera”), aumentando o inóculo para a próxima safra. Portanto, não deve ser permitida a presença de “tiguera” em áreas infestadas.

O objetivo desse trabalho foi avaliar a reação de genótipos de soja do Programa de Melhoramento de Soja da UFU ao fitonematóide *Heterodera glycines*, raça 3, em casa de vegetação e campo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sintomatologia e danos

O nematóide de cisto da soja (NCS) é um dos principais patógenos da cultura pelos prejuízos que pode causar e pela facilidade de disseminação. Ele penetra nas raízes da planta de soja e interfere na absorção de água e nutrientes. Durante o desenvolvimento das plantas ocorre redução no porte de planta e número de vagens, clorose e conseqüentemente, baixa produtividade. Os sintomas aparecem em reboleiras e, em muitos casos, as plantas acabam morrendo. O sistema radicular fica reduzido e infestado por minúsculas fêmeas do nematóide com formato de limão ligeiramente alongado. Inicialmente de coloração branca, a fêmea, posteriormente, adquire a coloração amarela.

Após ser fertilizada pelo macho, cada fêmea produz 100 a 250 ovos, armazenando a maior parte deles em seu corpo. Apenas 1/3 dos ovos produzidos são liberados, os outros 2/3 ficam armazenados na fêmea para perpetuação da espécie. Quando a fêmea morre, seu corpo se transforma em uma estrutura dura, altamente resistente à deterioração e à dessecação e muito leve, que se desprende da raiz e fica no solo. Essa estrutura é chamada de cisto.

O cisto pode sobreviver no solo, na ausência de planta hospedeira, por mais de 8 anos, assim, é difícil eliminar o nematóide nas áreas onde ele ocorre. Em solo úmido, com temperatura de 20° a 30° C, os juvenis eclodem e, se encontrarem a raiz de uma planta hospedeira, penetram e o ciclo se completa em três a quatro semanas. A gama de espécies hospedeiras do NCS é limitada, destacando-se a soja, o feijão, a ervilha e o tremoço. A maioria dos hospedeiros de *Heterodera glycines* pertence à família Fabaceae, embora se distribuam também em outras famílias botânicas (BALDWIN; MUNDO O CAMPO, 1991; MOORE et al., 1984; RIGGS, 1992). Além dessas plantas cultivadas, plantas infestantes e ornamentais, também podem ser hospedeiras do NCS. A maioria das espécies cultivadas, tais como milho, sorgo, arroz, algodão, girassol, mamona, cana de açúcar, trigo, assim como as demais gramíneas, são resistentes. Não foram encontradas fêmeas de *Heterodera glycines*, em raízes de beldroega, botão de ouro, capim carrapicho, capim custódio, capim pé de galinha, capim rabo de raposa, caruru rasteiro, cheirosa, cordão de frade, corda de viola, fedegoso, feijão bravo, picão preto, serralha, tanchagem, malva branca, joá de capote, guanxuma e erva de botão (DIAS et al., 1995).

A disseminação do NCS se dá, principalmente, pelo transporte de solo infestado. Isso pode ocorrer através dos equipamentos agrícolas, das sementes mal beneficiadas que

contenham partículas de solo, pelo vento, pela água e até por pássaros que, ao coletar alimentos do solo, podem ingerir juntos os cistos. O cerrado brasileiro sofre a ação de fortes ventos e redemoinhos coincidentes com a época de preparo do solo. Análises nematológicas efetuadas no município de Cassilândia, MS, em uma lavoura de soja no primeiro ano de cultivo, margeada por pastagem e distante cerca de 60 km de outras áreas produtoras de soja, detectaram a presença do nematóide de cisto, numa população de 5 cistos /100 cm³ de solo. No município de Chapadão do Céu – GO, em lavoura no segundo ano de cultivo, após cerrado natural e ladeada por lavouras infectadas pelo nematóide de cisto da soja, detectaram –se 150 cistos /100 cm³ de solo. Essas observações reforçam a possibilidade de disseminação pelo vento de cistos de *Heterodera glycines* a curtas e a longas distâncias. Dessa forma, para proteger o solo da ação do vento, o plantio direto poderia atuar como um importante prática cultural para reduzir a disseminação do NCS (ANDRADE; ASMUS, 1996).

A semeadura direta reduz a disseminação dentro e entre propriedades, e mesmo entre regiões. A cobertura do solo com culturas e restos culturais durante todo o ano concorre para diminuir o transporte de partículas de solo e cistos pelo vento, fato que pode ocorrer intensamente no sistema convencional, principalmente em solo desnudo, durante operações de preparo do solo. O menor trânsito de máquinas, proporcionado pelo sistema de semeadura direta, também contribuem para reduzir a disseminação de cistos, por deslocar menos solos aderidos aos pneus e demais componentes das máquinas. É importante a conscientização dos produtores sobre a necessidade de se fazer boa limpeza nos equipamentos agrícolas, após terem sido utilizados em outras áreas, para evitar a contaminação da propriedade

O cultivo de gramíneas perenes (pastagens ou outras) numa pequena faixa de cada lado da estrada pode retardar a introdução do NCS nas lavouras próximas à estrada. A aquisição de sementes beneficiadas, isentas de partículas de solo, também é fundamental para evitar a entrada do nematóide.

O manejo mais adequado do solo (níveis mais altos de matéria orgânica, saturação de bases dentro do indicado para a região, parcelamento do potássio em solos arenosos, adubação equilibrada, suplementação com micronutrientes e ausência de camadas compactadas) ajuda a aumentar a tolerância da soja ao nematóide.

2.2 Métodos de controle

O limiar de dano para o nematóide de cisto em soja foi estabelecido por NOEL (1992) como sendo de 699 ovos e juvenis de 2º estágio ou 12 cistos viáveis/250 cm³ de solo. Estudos

realizados no Brasil, levam ao entendimento de que o nível populacional de dano do nematóide de cisto da soja esteja entre 1 e 5 cistos viáveis/100 cm³ de solo.

Uma vez introduzido numa área de cultivo, a convivência é a melhor estratégia, seja através de monitoramento periódico da área, ou através de intervenções, com o emprego de medidas de controle visando manter baixos os níveis populacionais do patógeno. O uso de variedades resistentes vem recebendo maior atenção, sendo o método mais eficiente e econômico (YORINORI, 1995). A busca pelo desenvolvimento de variedades resistentes ao NCS tem sido intensa. Todavia, essa tarefa tem sido dificultada em virtude da capacidade que esse patógeno possui de se modificar geneticamente, em função de sua reprodução por fecundação cruzada, desenvolvendo um número elevado de raças fisiológicas. A obtenção de genótipos resistentes ao NCS não poderia, em hipótese alguma, ignorar essa característica, sob pena de insucesso dos programas de melhoramento.

O controle do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) é bastante complexo. Métodos alternativos de controle têm sido propostos, como a incorporação de matéria orgânica ao solo, dado ao fato que, seu processo de decomposição promove a liberação de diversos compostos químicos, muitos deles com efeito nematicida. Diversas são as fontes de matéria orgânica que possuem efeito nematicida comprovado, tais como, resíduos do tratamento de esgoto, restos vegetais, serragens e esterco de origem animal. (AKTHAR; MAHMOOD, 1993; D' ADDABBO, 1995; KAPLAN; NOE, 1993). Segundo Akhtar e Malik (2000), o efeito da matéria orgânica no controle de nematóides pode ser tanto pela liberação de compostos nematicidas durante o processo de decomposição, quanto por induzir melhorias na estrutura e fertilidade do solo, e com isso alterar o nível de resistência da planta, ou ainda aumentar a microbiota antagonista do solo.

Os cistos podem ser parasitados por vários microrganismos, reduzindo a sua população. Várias espécies de fungos foram observadas parasitando ovos e cistos de *Heterodera glycines*, tais como *Fusarium oxyspoyum*, *Acremonium strictum*, (MORGAN-JONES; RODRIGUES-KABANA, 1981); *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Stagonospora heteroderae* (MORGAN-JONES et al., 1981); *Exophiala pisciphilia*, *Phoma* sp, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* (GINTIS et al., 1982), *Phoma chrysanthemicola* e *Verticillium chlamydosporium* (MEYER et al., 1990).

A adubação verde com leguminosas, prática que contribui para a melhoria das condições físicas, químicas e biológicas do solo, com reflexos positivos sobre a produção de soja (TANAKA et al., 1992), tem-se mostrado boa opção para o controle de fitonematóides (MONTEIRO, 1993). Essas plantas são chamadas de antagonistas e não são hospedeiras do

Heterodera glycines. Algumas dessas plantas antagonistas que servem como adubo verde são: guandu (*Cajanus cajan*), mucuna preta, mucuna anã, *Crotalaria spectabilis*, *Crotalaria juncea*, *Crotalaria striata*, *Crotalaria paulina*.

Em casa de vegetação, utilizando vasos com solo naturalmente infestado por NCS, Dias et al. (1995) observaram redução significativa do número de cistos e ovos do nematóide no solo em relação ao observado em soja após quatro meses de cultivo de *Crotalaria paulina*. O número de fêmeas/sistema radicular de soja plantadas após *Crotalaria paulina* também foi significativamente inferior ao observado na sucessão soja/soja.

Em testes com solo infestado em casa de vegetação, Rodriguez-Kábana et al. (1992) notaram que *Mucuna deeringiana* Bort apresentaram bom potencial para utilização no controle de *Heterodera glycines*, reduzindo, eficientemente, a população do nematóide no solo. Resultado semelhante foi obtido por Dias et al (1995), trabalhando com mucuna preta (*Mucuna aterrima*). *Mucuna deeringiana* foi utilizada com sucesso por Weaver et al (1993), em rotação com soja, para controle de *Meloidogyne arenaria* e *Heterodera glycines*, reduzindo o número de juvenis dos dois nematóides no solo. A estratégia permitiu, com apenas um ano de plantio, um aumento médio de 105% na produção de soja em relação ao monocultivo.

As leguminosas *Aeschynomene americana* e *Aeschynomene anileira*, testadas no campo por Rodriguez-Kábana et al (1990), reduziram 95-100% as populações de juvenis de *Heterodera glycines* e *Meloidogyne arenaria* no solo com um ciclo de cultivo. No plantio de soja do ano seguinte, a produção foi em média 46% (*Aeschynomene americana*) e 55% (*Aeschynomene anileira*), superior à obtida com o plantio contínuo de soja.

O manejo adequado da área é uma das principais medidas de controle. Níveis altos de matéria orgânica, saturação por bases dentro do recomendado para região, ou seja, na região de Cerrados, seria de 50 a 60 %. A adubação equilibrada, suplementação de micronutrientes e ausência de camadas compactadas favorecem o desenvolvimento da planta e faz com que seja mais resistente ao ataque do nematóide. Áreas com pH e saturação de bases elevados, por calagem superestimada, a população de cistos persiste alta, mesmo após o cultivo de um ou dois anos de milho. Possivelmente, o pH alto do solo condiciona dois fatores desfavoráveis à soja cultivada nestas condições: a redução na população de fungos antagonistas do nematóide de cisto, reduzindo a taxa de controle natural; e a imobilização de alguns micronutrientes no solo, diminuindo a tolerância das plantas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização dos experimentos

Os experimentos foram, primeiramente, realizados em casa de Vegetação no Campus Umuarama na Universidade Federal de Uberlândia em Uberlândia - MG. Posteriormente, o experimento foi conduzido na Fazenda Luma, Iraí de Minas – MG em área infestada por *Heterodera glycines* raça 3.

3.2 Genótipos estudados

As sementes utilizadas nos experimentos foram de ciclo precoce e ciclo tardio, oriundas do Programa de Melhoramento de Soja da UFU. São linhagens avançadas dentro do programa, provenientes de ensaios regionais realizados em várias cidades de Minas Gerais na safra 2004/2005, os quais foram repetidos na safra 2005/2006 para avaliação de características agronômicas e adaptabilidade à diferentes regiões. Os critérios para a escolha dessas linhagens foram, a presença de pelo menos um parental resistente ao *Heterodera glycines*, raça 3, e o outro fator foi que esses materiais apresentaram elevada produtividade nos ensaios regionais 2004/05.

As testemunhas utilizadas foram cultivares comerciais, sendo que a Conquista foi utilizada como padrão de suscetibilidade e como padrões de resistência, utilizaram-se MSOY 8001 e MSOY 8400.

3.3 Preparo do Solo e Plantio

Em casa de vegetação, as sementes foram semeadas manualmente em vasos de cerâmica de 2 L, colocando-se cinco sementes em cada vaso, a uma profundidade de aproximadamente 3-5 cm. Após 15 dias foi feito o desbaste manual, deixando apenas uma planta. A unidade experimental consistia do vaso de cerâmica contendo uma planta de soja.

No campo, a semeadura ocorreu manualmente em área de plantio direto. A adubação foi realizada através de semeadora, a qual abriu os sulcos de plantios espaçados de 0,45 m.

3.4 Caracterização experimental

Em casa de vegetação, o experimento de ciclo precoce foi composto por seis linhagens do Programa de Melhoramento de Soja da UFU, e três testemunhas comerciais, sendo duas resistentes ao nematóide de cisto, raça 3 (M-SOY 8400 e M-SOY 8001), e uma suscetível (Conquista), tendo seis repetições cada, totalizando 54 vasos.

No campo, o experimento foi composto por seis linhagens de ciclo precoce, sete linhagens de ciclo tardio, uma testemunha suscetível (Conquista) e uma testemunha resistente ao nematóide de cisto raça 3 (M-SOY 8001), com seis repetições, totalizando 90 parcelas. Cada parcela era composta por duas linhas de 5 m espaçadas de 0,45 m.

3.5 Obtenção do inóculo e inoculação no ensaio de casa de vegetação

Solo de vaso cultivado com soja para multiplicação de *Heterodera glycines* foi utilizado para extração de cistos. Alíquota de 150 cm³ deste solo foi colocada em recipiente contendo 2 L de água e os torrões foram desmanchados. A suspensão, após homogeneização, permaneceu em repouso por 15 segundos, e em seguida foi vertida passando pelas peneiras sobrepostas de 20 e 100 mesh. O resíduo da peneira de 100 mesh foi recolhido com auxílio de jatos de água de uma piseta, para uma outra peneira de 100 mesh para esmagamento dos cistos e fêmeas com o fundo do tubo de ensaio. Conforme ocorreu o esmagamento, jatos de água de uma piseta foram despejados para que os ovos liberados dos cistos passassem para a peneira de 500 mesh que está abaixo da de 100 mesh. Após todo o esmagamento, o resíduo da peneira de 500 mesh foi recolhido para um copo de Becker. A suspensão apresentava coloração marrom devido ao esmagamento de partículas de solo e para facilitar a calibração, fez-se necessário o uso da centrífuga com solução de sacarose para clarear a suspensão. A suspensão de ovos foi calibrada com auxílio da câmara de contagem de Peters no microscópio óptico, para conter 400 ovos/mL. A inoculação ocorreu adicionando-se 10 mL da suspensão de ovos em três orifícios, feitos no solo de cada vaso, a 2 cm de distância da haste da plântula e com 2 cm de profundidade.

3.6 Condução do experimento em casa de vegetação

Todos os dias a partir da data da semeadura, duas regas foram feitas, sempre respeitando o mesmo horário, sendo uma rega feita pela parte da manhã e uma segunda na parte da tarde. Nos dias de temperaturas mais elevadas e baixa umidade relativa do ar fez-se

necessário uma terceira rega entre as duas que normalmente já ocorria. Uma semana após feita a inoculação, e a partir dessa data até uma semana antes da avaliação, foram aplicadas 100 ml de solução nutritiva em cada vaso de cerâmica, sempre respeitando o intervalo de 7 dias entre uma aplicação e outra. Dois dias antes de desmontar o experimento, não foi efetuado nenhuma rega nem aplicação de solução nutritiva para facilitar a separação das raízes e do solo.

A solução nutritiva foi de extrema importância pois o substrato consistiu de duas partes de areia e uma parte de terra. Sendo assim, o substrato não oferecia os elementos necessários e em quantidade para a planta. A solução nutritiva foi preparada em função de 1 litro de água de torneira, sendo que cada vaso recebeu 100 mL da mesma. Para cada litro de solução nutritiva que se queria preparar para aplicar no solo de vaso com planta na casa de vegetação, foram acrescentados os seguintes nutrientes:

- * 1 ml de EDTA férrico
- * 1 ml de KH_2PO_4
- * 5 ml de KNO_3
- * 5 ml de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- * 2 ml de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- * 1 ml de micronutrientes (Bo, Zn, Cu, Mn, Mo)

3.7 Avaliação do experimento em casa de vegetação

A avaliação, em casa de vegetação, foi realizada 35 dias após a inoculação. A parte aérea foi cortada e descartada, e o sistema radicular separado do solo. As raízes foram passadas entre os dedos da mão para que as fêmeas se soltassem da raiz e caíssem passando pela peneira de 20 mesh, que estava acima da peneira de 100 mesh, e foram recolhidas na peneira de 100 mesh com auxílio de jatos de água de uma piseta, para um copo de Becker. A suspensão foi passada para um funil contendo papel de filtro, e após a passagem de toda a água, o papel de filtro foi aberto e colocado sob microscópio estereoscópio (lupa) para contagem de fêmeas.

Para assegurar que não haveria perda de fêmeas para o solo no momento de separação das raízes, e também para verificar se as primeiras fêmeas formadas já teriam morrido e tornaram-se cistos, uma alíquota de 150 cm^3 de solo de cada vaso foi processada pela técnica do peneiramento e do papel de filtro para extração de cistos, como descrito anteriormente.

A temperatura do ar e do solos, foi mensurada todos os dias, sendo uma no início da manhã e outra no final da tarde, afim de que pudesse associar a reação do nematóide à temperatura, já que, o nematóide de cisto é bastante sensível a elevadas temperaturas e a baixa umidade relativa, a qual está diretamente relacionada à elevada temperatura do ar. As médias do experimento de ciclo precoce e ciclo tardio estão, respectivamente, na Tabela 1 e Tabela 2,

Tabela 1: Temperatura média registrada no experimento precoce em casa de vegetação

	T max ar	T min ar	GD nematóide*	T tarde solo	T manhã solo	GD solo*
Média	38,86	18,74	18,80	28,56	18,71	13,64

*GD: Graus dia

Tabela 2: Temperatura médias registrada no experimento tardio em casa de vegetação

	T max ar	T min ar	GD nematóide*	T tarde solo	T manhã solo	GD solo*
Média	34,18	16,66	14,06	26,63	16,50	11,03

*GD: Graus dia

3. 8 Amostragem de solo no experimento de campo

A área do experimento foi indicada pelo proprietário da fazenda, o Senhor Ergon Luma, que relatou ter observado sintomas na lavoura e sinais do nematóide de cisto na safra anterior. Foi feita uma amostragem de solo inicialmente para verificar a viabilidade de uso dessa área. Uma vez confirmada a área, de cada parcela, obteve uma amostra composta, contendo de 500 a 1000 g de solo. A amostra composta foi acondicionada em saco plástico para manter a umidade e levada ao Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Uberlândia no dia seguinte ao da coleta para dar início aos procedimentos da técnica de extração de cistos. Essa foi a primeira amostragem e correspondeu a época da semeadura. A floração e maturação da soja, foram as outras duas épocas de amostragem.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Genótipos de ciclo precoce em casa de vegetação

O número de fêmeas de *Heterodera glycines* por sistema radicular nos diferentes genótipos pode ser observado na Tabela 3.

Tabela 3: Número de fêmeas de *Heterodera glycines* raça 3 no sistema radicular de genótipos de soja sob condições de casa de vegetação. UFU, Uberlândia, 2006.

GENÓTIPOS	FÊMEAS
Conquista (testemunha suscetível)	22,2 (17,1)
MSOY 8001 (testemunha resistente)	0,5 (0,5)
MSOY 8400 (testemunha resistente)	2,2 (2,89)
[(FT-45302 x Liderança) x (FTH-2988 x Conquista)]	6,66 (7,82)
[(Liderança x UFV16) x (UFV x BR-015308)]	5,33 (3,94)
(Liderança x DM97-101)	6,83 (7,01)
[(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]	4,0 (3,65)
[(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]	9,83 (13,8)
RC1 (PI416937 x IAC8-2)	8,16 (8,66)

* Médias de seis repetições com respectivo desvio padrão entre parênteses.

Conforme Schmitt e Shannon (1992), os genótipos podem ser classificados com base na porcentagem de reprodução (Tabela 4). Assim, na Tabela 5 observa-se a reação dos genótipos estudados.

Tabela 4: Porcentagem de reprodução do genótipo em estudo, comparado ao padrão de suscetibilidade.

% DE REPRODUÇÃO	REAÇÃO
00-09	R - resistente
10-30	MR - moderadamente resistente
31-60	MS – moderadamente suscetível
> 60	S – suscetível

Tabela 5: Reação dos genótipos avaliados ao ataque do nematóide de cisto sob condições de casa de vegetação.

GENÓTIPOS	REAÇÃO (IF)
Conquista	-
MSOY 8001	Resistente (2,25%)
MSOY 8400	Resistente (9,9%)
[(FT-45302 x Liderança) x (FTH-2988 x Conquista)]	Moderadamente resistente (30%)
[(Liderança x UFV16) x (UFV18 x BR-015308)]	Moderadamente resistente (24%)
(Liderança x DM97-101)	Moderadamente resistente (30,7%)
[(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]	Moderadamente resistente (18%)
[(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]	Moderadamente suscetível (44,2%)
RC1 (PI416937 x IAC8-2)	Moderadamente suscetível (36,7%)

4.2 Genótipos de ciclo tardio em casa de vegetação

O experimento tardio em casa de vegetação não obteve resultado. Em todas as avaliações, nenhuma fêmea foi encontrada, nem mesmo na testemunha suscetível. Os resultados sobre a reação das linhagens UFU de ciclo tardio só puderam ser consideradas pelos resultados do experimento do campo. A possível explicação para o ocorrido é que o problema estava no inóculo. Mas também pode ter ocorrido problemas de déficit hídrico ou temperatura inadequada durante a condução do ensaio.

O uso de juvenis de segundo estágio (J2) de *Heterodera glycines*, como inóculo, apresenta limitação devido a baixa eclosão em laboratório. Muitos fatores influem na eclosão observada de nematóides formadores de cistos, como a temperatura, aeração, umidade, pH, exudados de raízes de plantas e outros compostos, orgânicos e inorgânicos (CLARKE; PERRY, 1977). Alguns desses compostos, destacadamente os íons de zinco, têm sido utilizados para aumentar a eficiência da produção de inóculo de *Heterodera glycines*.(ACEDO; DROPKING,1982).

4.3 Genótipos no campo

A primeira amostragem realizada na área serviu para confirmar a presença de cistos na área. Foram encontrados cistos viáveis e não viáveis na amostra. Nesta primeira amostragem predominou cistos não viáveis pelo fato do proprietário da fazenda usar à vários anos cultivares de soja resistentes ao nematóide de cisto raça 3. Entretanto, sendo o cisto uma forma de resistência, apesar de o proprietário ter conseguido reduzir o nível populacional de nematóides em sua área, sua erradicação não aconteceu apenas usando variedades resistentes.

As médias de cistos encontrados em cada genótipo, nas três épocas de amostragem, semeadura, florescimento e maturação, estão na Tabela 6.

Outra forma de instalar experimento em campo para teste de resistência ao nematóide de cisto é escolher uma área dentro da mesma safra, utilizando os sintomas e sinais do NCS como indicadores da distribuição espacial do patógeno no solo. Escolhida a área, quando as plantas da lavoura estiverem com 30 a 40 dias, são abertos sulcos coincidentes com as próprias fileiras da soja, onde são semeados os genótipos a serem testados (ARANTES, 1997). Esse mesmo autor demonstrou que a superioridade do método se deve, principalmente, por possibilitar a avaliação de genótipos em áreas mais homogêneas quanto à distribuição espacial do patógeno no solo, reduzindo a percentagem de escape que normalmente ocorre nas avaliações feitas a campo. Dessa forma, apenas 4 repetições são suficientes para se ter dados confiáveis. Essa metodologia não foi utilizada por dois motivos, primeiramente o proprietário da fazenda já havia relatado os locais de focos do nematóide nos quais ele já tinha obtido perdas em safras anteriores. O outro motivo era que se tratava de uma área de depósito de calcário, e portanto os sintomas poderiam ser confundidos por essa condição adversa de pH.

Através do Teste de Tukey e do Teste de Scott-knot, as reações dos genótipos foram definidas como na Tabela7.

Tabela 6: Número médio de cistos de *Heterodera glycines* por 150 cm³ de solo em três épocas de avaliação do ensaio de linhagens de soja do Programa de Melhoramento de Soja da Universidade Federal de Uberlândia, Iraí de Minas – MG, 2006

Genótipos	Semeadura	Florescimento	Maturação
MSOY 8001	2,83 Aa *	2,67 Aa	3,67 Aa
DM101 x Liderança	0,50 Aa	0,83 Aa	31,50 Bb
[(Liderança x UFV16) x (UFV18 x BR-015308)]	0,00 Aa	1,00 Aa	38,83 Bb
Conquista	1,33 Aa	1,17 Aa	50,17 Bb
(Liderança x DM97-101)	2,67 Aa	1,33 Aa	54,17 Bb
[(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]	3,50 Aa	1,00 Aa	59,67 Bb
[(DM Vitória x FT104) x (FT107 x Liderança)]	2,50 Aa	0,83 Aa	60,17 Bb
[(DM Vitória x FT104) x (FT107 x Liderança)]	1,50 Aa	0,33 Aa	61,33 Bb
RC1 (PI416937 x IAC8-2)	0,83 Aa	0,50 Aa	64,17 Bb
[(BR95015308 x FT50268M) x (GO/BR9409443 x Liderança)]	0,33 Aa	0,17 Aa	66,67 Bb
[(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]	1,83 Aa	0,50 Aa	94,50 Bb
RC1 (PI416937 x IAC8-2)	4,00 Aa	2,17 Aa	98,83 Bb
[(FT-45302 x Liderança) x (FTH-2988 x Conquista)]	1,50 Aa	0,17 Aa	99,33 Cb
RC1 (PI416937 x IAC8-2)	3,67 Aa	1,17 Aa	137,67 Cb
[(DM Vitória x FT104) x (FT107 x Liderança)]	1,00 Aa	1,17 Aa	162,17 Cb

* Médias de seis repetições. Para análise estatística, os dados foram transformados em log x. Letras minúsculas iguais na linha e letras maiúsculas iguais na coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade e pelo Teste de Scott-knot a 5% de possibilidade, respectivamente

Tabela 7: Reação dos genótipos avaliados e testemunhas ao ataque do nematóide de cisto

Genótipos	Maturação	Reação (IF)*
MSOY 8001	3,67 Aa	Resistente
DM101 x Liderança	31,50 Bb	Suscetível
[(Liderança x UFV16) x (UFV18 x BR-015308)]	38,83 Bb	Suscetível
Conquista	50,17 Bb	Suscetível
(Liderança x DM97-101)	54,17 Bb	Suscetível
[(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]	59,67 Bb	Suscetível
[(DM Vitória x FT104) x (FT107 x Liderança)]	60,17 Bb	Suscetível
[(DM Vitória x FT104) x (FT107 x Liderança)]	61,33 Bb	Suscetível
RC1 (PI416937 x IAC8-2)	64,17 Bb	Suscetível
[(BR95015308 x FT50268M) x (GO/BR9409443 x Liderança)]	66,67 Bb	Suscetível
[(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]	94,50 Bb	Suscetível
RC1 (PI416937 x IAC8-2)	98,83 Bb	Suscetível
[(FT-45302 x Liderança) x (FTH-2988 x Conquista)]	99,33 Cb	Altamente suscetível
RC1 (PI416937 x IAC8-2)	137,67 Cb	Altamente suscetível
[(DM Vitória x FT104) x (FT107 x Liderança)]	162,17 Cb	Altamente suscetível

* Conforme Schmitt e Shannon (1992)

5 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que alguns genótipos de ciclo precoce, sob condições de casa de vegetação, apresentaram-se como moderadamente resistentes ao nematóide de cisto, a saber, [(FT-45302 x Liderança) x (FTH-2988 x Conquista)]; [(Liderança x UFV16) x (UFV18 x BR-015308)]; (Liderança x DM97-101) e [(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]. Enquanto outros genótipos [(UFV16 x Liderança) x (BR95-015308 x UFV18)]; e RC1 (PI416937 x IAC8-2) apresentaram-se como moderadamente suscetíveis ao nematóide de cisto.

No experimento com genótipos precoce e tardio de campo em Iraí de Minas – MG todos os genótipos avaliados foram suscetíveis ao nematóide de cisto raça 3.

REFERÊNCIAS

- ACEDO, J. R.; DROPKING, V. H.; Technique for obtaining eggs and juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, College Park, v. 14, n.3, p. 418-420, 1982.
- AKTHAR, M. ; MAHMOOD, I.; .Effect of *Mononchus aquaticus* and organic amendments on chili. **Nematologia mediterrânea**, Bari, v. 21, n. 2, p. 251-252 , 1993.
- AKTHAR, M.; MALIK. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 74, n. 1, p. 35-47, 2000.
- ANDRADE, P. J. M.; ASMUS, G. L.; Spread of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) by wind during soil preparation. **Nematologica Brasileira**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 98-100, 1996.
- ARANTES, N. E.; **Subsídios ao desenvolvimento de genótipos de soja resistentes ao nematóide de cisto (*Heterodera glycines* Ichinohe)**. Jaboticabal, p. 65 Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 1997.
- BALDWIN, J. G.; MUNDO – O CAMPO, M. Heteroderinae, cyst and non cyst forming nematode. In: NICKLE, W. R. (ed). **Manual of agricultural nematology**. New York: Marcel Dekker, 1991. p. 275-362.
- CÂMARA, G. M. S.; HEIFFIG, L. S. Fisiologia, ambiente e rendimento da cultura da soja. In: CÂMARA, G. M.S. (Ed.). **Soja: tecnologia da produção II**. Piracicaba: ESALQ, 2000. p.81-119.
- CLARKE, A. J. ; PERRY, R. N. Hatching of cyst nematodes. **Nematologica**, Leiden, v. 23, p.350-368, 1977.
- D'ADDABBO, T. The nematicidal effect of organic amendments: a review of the literature, 1982-1994. **Nematologia Mediterrânea**, Bari, v. 23, p. 299-305, 1995.
- DIAS, W. P.; FERRAZ, S.; LIMA, R.D. Efeito de algumas espécies vegetais sobre a população de *Heterodera glycines* Ichinobe, em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, p. 370, 1995.
- DIAS, W. P.; FERRAZ, S.; SILVA, A. A. da ; LIMA, R. D. de ; VALLE, L. A. C. do, Hospedabilidade de algumas ervas daninhas ao nematóide de cisto da soja. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 19, p. 9-14, 1995.
- GINTIS, B. O.; G. MORGAN-JONES; RODRIGUES-KABANA, Mycoflora of young cysts of *Heterodera glycines* in North Caroline State soils. **Nematropica**, Bradenton, v. 12, p.295-303, 1982.
- KAPLAN, M. ; NOE, J. P.; Effect of chicken-excrement amendments on *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology** , College Park, v. 25, n. 1, p. 71-77, 1993.

LIMA, R. D. ; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Ocorrência de *Heterodera* sp em soja no Triângulo Mineiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16, 1992. **Resumos**, 1992, p.81.

LORDELLO, A. I. L. ; LORDELLO, R. R. A.; QUAGGIO, J. A. *Heterodera* sp reduz produção da soja no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16, 1992. **Resumos**, 1992, p.82.

MEYER, S. L. F. ; HUETTEL, R.N. ; SAYRE, R. M.; Isolation of fungi from *Heterodera glycines* and in vitro bioassays for antagonism to eggs. **Journal of Nematology**, College Park, v. 22, p. 532-537, 1990.

MONTEIRO, A.R.; MORAES, S.R.A.C. Ocorrência do nematóide da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16, 1992. **Resumos**, 1992, p.82.

MONTEIRO, A. R. Controle de nematóides por espécies de adubos verdes, In: WUTKE, E. B.; BULISANI, E. A. ; MASCARENHAS, H. A. A. (ed). **Curso sobre adubação verde no Instituto Agrônômico**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1993. p. 109-121.

MOORE, W.F.; BOST, S. C.; BREWER, F. L.; DUNN, R. A.; ENDO, B. Y.; GRAU, C. R.; HARDMAN, L.L.; JACOBSEN, B. J.; LEFFEL, R.; NEWMAN, M. A.; NYVALL, R. F. ; OVERSTREET, C. ; PARKS, C. L. **Soybean cyst nematode**. Washington: Soybean Industry Resource Committee, 1984. 23p.

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUES-KÁBANA, R.; Fungi associated with eggs of *Heterodera glycines* in na Alabama soil. **Nematropica**, Bradenton, v. 11, p. 69-74, 1981.

MORGAN-JONES, G. ; GINTIS G. O. ; RODRIGUES-KABAN, R.. Fungal colonization of *Heterodera glycines* cyst in Arkansas, Florida, Mississippi na Missouri soils, **Nematropica**, Bradenton, v. 11, p. 155-164, 1981.

NOEL, G.R.. History, distribution, and economics. In: RIGGS, R. D. ; WRATHER, J.A.; (ed) **Biology and management of the Soybean Cyst Nematode**. Saint Paul, The American Phytopathological Society, p. 1-13, 1992.

NORTON, D. C.; GOLDEN, A. M. ; AGUELO, F. V. de. *Heterodera glycines* on soybean in Colombia. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, p.1389, 1983.

RIGGS, R. D. Worldwide distribution of soybean cyst nematode and its economic importance. **Journal of Nematology**, College Park, v. 9, p. 34-39, 1977.

RIGGS, R. D. Host range. In: RIGGS, R. D.; WRATHER, J. A., (ed). **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St Paul: The American Phytopathological Society, 1992. p. 107-114.

RODRÍGUEZ-KÁBAN, R.;WEAVER, D. B.; ROBERTSON, D. G.; YOUNG, R; W; CARDEN, E. L. Rotations of soybean with two tropical legumes for the management of nematode problems. **Nematropica**, Bradenton, v. 20, p. 101-110, 1990.

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. ; PINOCHET, J. ; ROBERTSON, D. G.; WELLS, L. Crop rotation studies with velvetbean (*Mucuna deeringiana*) for the management of *Meloidogyne* spp. **Journal of Nematology**, College Park, v. 24, p. 662-668, 1992.

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

SCHMITT, D. P.; SHANNON, G. Differentiating soybean responses to *Heterodera glycines* races. **Crop Science**, Madison, v.32, p. 275-77, 1992.

SILVA, J.F.V. Um histórico. In: SILVA, J.F.V. (ed) **O nematóide do cisto da soja: a experiência brasileira**. Jaboticabal: SBN, 1999. p.15-23.

TANAKA, R. T.; MASCARENHAS, H. A. A.; DIAS, O. S.; CAMPIDELLI, C.; BULISANI, E. A. Cultivo da soja após incorporação de adubo verde e orgânico. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, p. 1477-1483, 1992.

WEAVER, D. B.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; CARDEN, E. L. Velvetbean in rotation with soybean for management of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, College Park, v. 25, p. 809-818, 1993.

WINSTEAD, N. N.; SKOTLAND, C.B.; SASSER, J. N.. Soybean cyst nematode in North Carolina. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 39, p. 9-11, 1955.

YORINORI, J. T. Principais doenças da cultura da soja e suas estratégias de controle. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.2, p. 276-277, 1995.