

BRUNO VENTURA LOVATO

**OCORRÊNCIA DE *Pasteuria* sp. EM *Heterodera glycines* NO BRASIL  
E COMPATIBILIDADE DO ISOLADO PN1 DE *P. nishizawae* COM  
POPULAÇÕES DE CAMPO DO NEMATOIDE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora:

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Amelia dos Santos

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2013

BRUNO VENTURA LOVATO

**OCORRÊNCIA DE *Pasteuria* sp. EM *Heterodera glycines* NO BRASIL  
E COMPATIBILIDADE DO ISOLADO PN1 DE *P. nishizawae* COM  
POPULAÇÕES DE CAMPO DO NEMATÓIDE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de  
Uberlândia, como parte das exigências do Programa  
de Pós-graduação em Agronomia – Mestrado, área de  
concentração em Fitopatologia, para obtenção do  
título de “Mestre”.

APROVADA em 30 de setembro de 2013.

Prof. Dr. Leandro Grassi de Freitas

UFV

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nilvanira Donizete Tebaldi

UFU

Prof. Dr. Adão de Siqueira Ferreira

UFU

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Amelia dos Santos  
ICIAG-UFU  
(Orientadora)

UBERLÂNDIA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| L896o<br>2013 | Lovato, Bruno Ventura, 1981-<br>Ocorrência de <i>Pasteuria sp.</i> em <i>Heterodera glycines</i> no Brasil e compatibilidade do isolado PN1 de <i>P. nishizawae</i> com populações de campo do nematoide / Bruno Ventura Lovato. -- 2013.<br>58 p.<br><br>Orientadora: Maria Amelia dos Santos.<br>Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,<br>Programa de Pós-Graduação em Agronomia.<br>Inclui bibliografia.<br><br>1. Agronomia - Teses. 2. Nematóide de cisto da soja - Teses. 3. Pragas agrícolas – Controle biológico -Teses. I. Santos, Maria Amelia dos, 1964- II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título. |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

CDU: 631

*Aos meus pais, Aloísio e Sônia, pela educação e amor incondicional;  
Aos meus irmãos Diogo e Rodolfo, pela amizade;  
À Priscila F. Munhoz Lovato, pelo amor,  
companheirismo e incentivo  
durante esses anos...*

## AGRADEDECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, pelo o dom da vida.

À minha companheira Priscila F. M. Lovato, pelo amor, companheirismo e paciência.

Aos meus queridos pais Aloísio Lovato e Sônia F. D. Lovato, pelo incansável apoio, amor, carinho, dedicação e incentivo.

À Universidade Federal de Uberlândia, pela oportunidade para realização do curso.

À Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, pelas muitas oportunidades de aprendizado em desenvolvimento de produtos, em especial por ter aberto as portas da nematologia em minha vida profissional.

À professora Dr<sup>a</sup>. Maria Amelia dos Santos, orientadora, pelos ensinamentos e sugestões.

Aos professores Dr. Leandro Grassi de Freitas e Dr<sup>a</sup>. Nilvanira Donizete Tebaldi pelas contribuições relevantes e disponibilidade de participar da banca examinadora deste trabalho.

Aos meus colegas da Estação Experimental da Syngenta em Uberlândia, em especial ao Jean Carlos A. Domingos, Willian Alves Machado, Camilla Vicenti Buiatti e Maria Clara Carli, pela amizade e auxílio durante a condução dos experimentos.

Ao Tom Hewlett, Pasteuria Bioscience, pela amizade e auxílio na identificação de endósporos de bactérias do gênero *Pasteuria*.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                       | Páginas |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| RESUMO.....                                                                                                           | i       |
| ABSTRACT.....                                                                                                         | ii      |
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                    | 01      |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO.....                                                                                           | 03      |
| 2.1. Importância da cultura da soja.....                                                                              | 03      |
| 2.2. Origem e evolução da cultura da soja.....                                                                        | 04      |
| 2.3. Biologia e manejo de <i>Heterodera glycines</i> .....                                                            | 07      |
| 2.4. <i>Pasteuria</i> : biologia, ciclo de vida e potencial como controle biológico de nematoides.....                | 17      |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS.....                                                                                            | 24      |
| 3.1. Ocorrência natural de <i>Pasteuria</i> sp. em populações de <i>Heterodera glycines</i> no Brasil.....            | 24      |
| 3.2. Adesão de endósporos de <i>Pasteuria nishizawae</i> em diferentes populações de <i>Heterodera glycines</i> ..... | 25      |
| 3.3. Eficiência de <i>Pasteuria nishizawae</i> para o controle de <i>Heterodera glycines</i> em soja.....             | 28      |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                                                        | 32      |
| 4.1. Ocorrência natural de <i>Pasteuria</i> sp. em populações de <i>Heterodera glycines</i> no Brasil.....            | 32      |
| 4.2. Adesão de endósporos de <i>Pasteuria nishizawae</i> em diferentes populações de <i>Heterodera glycines</i> ..... | 35      |
| 4.3. Eficiência de <i>Pasteuria nishizawae</i> para o controle de <i>Heterodera glycines</i> em soja.....             | 37      |
| 5. CONCLUSÕES.....                                                                                                    | 42      |
| REFERÊNCIAS.....                                                                                                      | 43      |

## RESUMO

LOVATO, BRUNO VENTURA. **OCORRÊNCIA DE *Pasteuria* sp. EM *Heterodera glycines* NO BRASIL E COMPATIBILIDADE DO ISOLADO PN1 DE *P. nishizawae* COM POPULAÇÕES DE CAMPO DO NEMATOIDE.** 2013. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.\*

O nematoide do cisto da soja, *Heterodera glycines*, está presente em mais de 2 milhões de hectares no Brasil. Poucas práticas agronômicas são economicamente viáveis e eficientes no manejo desse nematoide e, portanto, se faz necessário o desenvolvimento de novas ferramentas de manejo. O objetivo do trabalho foi avaliar a ocorrência natural de *Pasteuria* sp. em populações de *H. glycines*, adesão de endósporos do isolado PN1 de *P. nishizawae* em diferentes populações de campo de *H. glycines* e sua eficiência no controle do nematoide em condições de casa-de-vegetação. O estudo de ocorrência natural de *Pasteuria* sp. foi realizado mediante a observação da presença de endósporos aderidos à cutícula dos nematoides extraídos de 14 populações, provenientes de diferentes áreas produtoras de soja. A adesão de endósporos do isolado PN1 de *P. nishizawae* foi testada sobre nove diferentes populações de *H. glycines* pelo uso do método descrito por Hewlett e Dickson (1993). Para o teste de eficácia, foram utilizadas duas doses de *P. nishizawae* ( $10^6$  e  $10^8$  endósporos / planta) em comparação com abamectina e *Purpureocillium lilacinus*, em doses comercialmente utilizadas. Endósporos de *Pasteuria* sp. foram encontrados em todas as populações avaliadas em frequências variáveis entre 5,5 a 87%. Tal observação consiste no primeiro relato de *Pasteuria* sp. em populações de *H. glycines* no Brasil. Quanto à adesão de endósporos do isolado PN1 de *P. nishizawae*, pouca variação foi observada entre diferentes populações de *H. glycyines*, com porcentagens variáveis entre 12,5 a 44,5%. No experimento de eficácia, *P. nishizawae* (isolado PN1) foi eficiente na dose  $10^8$  endósporos por planta para o controle inicial de *H. glycines*, em termos de redução de fêmeas por planta, fêmeas por grama de raiz e ovos por fêmeas. *P. nishizawae*, portanto, possui grande potencial como agente de controle biológico de *H. glycines* no Brasil.

Palavras-chave: Nematoide do cisto da soja, controle biológico, tratamento de sementes, nematicidas.

---

\* Comitê Orientador: Maria Amelia dos Santos – UFU (Orientadora)

## ABSTRACT

LOVATO, BRUNO VENTURA. *Pasteuria* sp. OCCURENCE ON *Heterodera glycines* POPULATIONS IN BRAZIL AND *P. nishizawae* PN1 ISOLATE COMPATIBILITY WITH FIELD NEMATODE POPULATIONS.\*

Soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, can be found in up to 2 million hectares in Brazil. Few agronomic practices are economically suitable and effective against this nematode, therefore new tools development becomes important. The objective of this study was assessing the natural occurrence of *Pasteuria* sp. on *H. glycines* populations; *P. nishizawae*, PN1 isolated, endospores attachment on different *H. glycines* populations and its efficacy against *H. glycines* under green-house conditions. *Pasteuria* natural occurrence was assessed by endospores observation on nematode skin in 14 different nematode populations, from commercial soybean areas. Nice *H. glycines* populations were used for attachment tests with PN1 isolated of *P. nishizawae* by centrifuge method described by Hewlett & Dickson (1993). For efficacy test were tested two *P. nishizawae* rates ( $10^6$  e  $10^8$  endospores / plant), abamectin and *Purpureocillium lilacinus*, on commercial rates. *Pasteuria* sp. endospores were found on all evaluated populations at different frequencies, from 5.5 to 87%. Such observation represents the first report of *Pasteuria* sp. occurrence on *H. glycines* in Brazil. Attachment results of PN1 isolated of *P. nishizawae* showed few variations were found among nematode populations, from 12.5 to 44.5%. In efficacy test, *P. nishizawae* (PN1 isolated) was effective at  $10^8$  endospores per plant in early *H. glycines* control, according number of females per plant, number of females per root gram and number of eggs per plant. Therefore, *P. nishizawae* showed a good potential as biological agent against *H. glycines* in Brazil.

Keywords: Soybean cyst nematode, biological control, seed treatment, nematicides.

---

\* Supervisor: Maria Amelia dos Santos – UFU

## 1. INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é uma cultura de grande importância econômica e a espécie oleaginosa mais cultivada no mundo, com produção de 267,58 milhões de toneladas no ano agrícola 2012/2013 (United States Department of Agriculture - USDA, 2013). O Brasil é o segundo maior produtor e exportador mundial, com uma área cultivada de 27,7 milhões de hectares e uma produção de 82 milhões de toneladas de grãos na safra 2012/2013 (Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB, 2013), o que corresponde a 27% da produção mundial.

Um dos mais sérios problemas fitossanitários da cultura é o nematoide do cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, considerado o parasito mais destrutivo (NOEL, 1992). Esse nematoide infesta as áreas de soja, causando redução na produção no mundo todo. Elevadas perdas de rendimento são observadas em áreas altamente infestadas, podendo ocorrer destruição completa da lavoura (AGRIOS, 2005).

Nos EUA, o nematoide do cisto da soja foi o maior responsável pelas baixas produções da cultura durante o período de 2003 a 2005 (WRATHER; KOENNING, 2006). Esse nematoide foi detectado pela primeira vez no Brasil na safra de 1991/92 (ANJOS; SHARMA, 1992; LIMA et al., 1992; LORDELLO et al., 1992; MONTEIRO; MORAIS, 1992). Mais recentemente, está presente em cerca de 150 municípios de 10 estados (BA, GO, MA, MT, MS, MG, PR, SP, RS e TO). Estima-se que a área com o nematoide seja superior a 2,0 milhões de ha (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, 2011).

Apesar dos antigos nematocidas químicos serem eficazes, muitos deles estão sendo retirados do mercado gradativamente devido à sua toxicidade (SCHNEIDER et al., 2003). Com isso, torna-se cada vez mais importante a busca de controle alternativo, que ofereça menor risco ao meio ambiente e ao aplicador.

O controle biológico do nematoide do cisto da soja pela bactéria *Pasteuria nishizawae* tem se mostrado uma excelente opção e vem sendo estudada por diversos pesquisadores (ATIBALENTJA; NOEL; CIANCIO, 2004; LEE et al., 1998; NOEL; STANGER, 1994; SAYRE et al., 1991b).

Portanto, os objetivos deste trabalho foram:

1. Verificar a ocorrência natural de isolados de *Pasteuria* sp. em populações de *Heterodera glycines* em regiões produtoras de soja no Brasil;
2. Estudar a compatibilidade do isolado PN1 de *Pasteuria nishizawae* em populações brasileiras de *Heterodera glycines*;
3. Estimar a eficácia do isolado PN1 de *Pasteuria nishizawae* para o controle de *Heterodera glycines* em soja.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1. Importância da cultura da soja**

A importância econômica da cultura da soja está ligada principalmente à extração de óleo, com a finalidade de uso na alimentação humana e na produção de biodiesel. Outra forma de utilização da soja baseia-se no farelo, o qual é proveniente do esmagamento do grão para a produção de óleo. Esse farelo tem como destino principal, a alimentação animal e, nessa forma, apresenta elevado valor proteico, gerando rações de elevado valor nutricional. Hartwig (1973) constatou teores médios de proteína e de óleo de 40,5 e 21%, respectivamente. No Estado de São Paulo, Mascarenhas et al. (1991) observaram teores de 35 de proteína e 24% de óleo. A soja é a espécie oleaginosa mais cultivada no mundo. Na safra de 2012/2013, a área plantada foi de 108,16 milhões de hectares e a produção total, de 267,58 milhões de toneladas (USDA, 2013). Nessa mesma safra, os EUA, o maior produtor mundial de soja, obteve uma produção de 82,06 milhões de toneladas em uma área plantada de 30,8 milhões de hectares. Atrás dos EUA, veio o Brasil, segundo maior produtor e exportador mundial, com uma produção de 82 milhões de toneladas, colhidas da área de 27,7 milhões de hectares (CONAB, 2013).

## 2.2. Origem e evolução da cultura da soja

A soja tem como centro de origem, a região da China antiga, no continente asiático, constituindo-se na base alimentar do povo chinês há mais de 5 mil anos (CÂMARA, 1998; EMBRAPA, 2008). Muitos autores afirmam que a mais antiga referência à soja está no herbário PEN TS'AO KANG UM, como parte da obra “Matéria Médica”, datada de 2838 a.C., de autoria do Imperador Shen Nung. Nessa obra, a soja é descrita como uma das cinco plantas mais importantes para os chineses, juntamente com o arroz, trigo, cevada e milheto, considerados grãos sagrados, essenciais à estabilidade do povo chinês (BONATO; BONATO, 1987). Durante séculos, a soja permaneceu restrita ao Oriente, devido à inexistência de intercâmbios com civilizações ocidentais (CÂMARA, 1998).

Considera-se que a soja tenha sido domesticada na China, na região da Manchúria, durante o século XI a.C. A região Central da China constituía-se no centro primário de origem genética da soja, onde o ancestral *Glycine soja*, por meio de mutações, deu origem à espécie *Glycine max*, que migrou para o Leste da China, considerado o centro secundário de origem genética da soja, por volta de 2000 a.C., acompanhando a migração nômade (HYMOWITZ, 1970). Com o avanço da domesticação da soja, a mesma foi levada para outras regiões, na medida em que se aumentava sua importância para a alimentação humana e se intensificavam as transações comerciais entre os povos do Oriente (BONETTI, 1977). Desse modo, entre 200 a.C. e o século III d.C., a soja difundiu-se para o norte da China, Coreia e Japão, onde permaneceu restrita à comercialização até a chegada dos primeiros navios

europeus, que levaram-na para o ocidente, entre o final do século XV e início do século XVI. A partir de então, pesquisadores europeus obtiveram sementes e as cultivaram em jardins botânicos e estações experimentais de diversos países do continente, de onde resultaram diversos artigos científicos com informações sobre o desenvolvimento e a produtividade da planta (CÂMARA, 1998).

Na América, o primeiro relato da soja foi realizado nos EUA, em 1804, como uma promissora planta forrageira e produtora de grãos, porém o cultivo só foi recomendado a partir de 1880, quando foi reconhecido seu potencial. Em 1930, ocorreu a grande expansão como cultura produtora de grãos (BONETTI, 1977).

No Brasil, a soja foi introduzida em 1882 sem sucesso no estado da Bahia por Gustavo D'Utra (D'UTRA apud MYASAKA; MEDINA, 1981). Dez anos depois, foi cultivada pela primeira vez no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), no estado de São Paulo, porém, os melhores resultados começaram a ser obtidos pelos imigrantes japoneses, a partir de 1908 e, em 1923, quando Henrique Lobbe introduziu cerca de 50 variedades norte-americanas no país. Nas décadas posteriores, a soja foi estudada por diversas instituições e cultivada em pequenas áreas para alimentação de imigrantes japoneses. Já em 1949, cerca de 18 toneladas de soja, produzidas no Rio Grande do Sul, constituíram a primeira exportação brasileira dessa cultura (MYASAKA; MEDINA, 1981; BONETTI, 1977).

O avanço da cultura no país fez com que as pesquisas se intensificassem. Com o início do cultivo sucessivo trigo/soja, em 1960/1970, a produção foi impulsionada, e juntamente com outros fatores, como o elevado

valor da soja no mercado internacional e as intensas pesquisas realizadas no país, o Brasil saltou de uma participação de 0,5% da produção mundial em 1954/1958, para 16% em 1976 (CÂMARA, 1998; BONETTI, 1977).

Entre as décadas de 1970 e 1980, a produção da soja aumentou significativamente na região central do Brasil, em especial nos estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás. A abertura dos solos sob vegetação de cerrado proporcionou o crescimento em área e o rendimento das diversas culturas, destacando-se devido ao cultivo de variedades adaptadas às condições do cerrado brasileiro (CÂMARA, 1998).

Atualmente, a soja é cultivada em praticamente todos os estados brasileiros, fazendo com que o Brasil seja o segundo maior produtor mundial, ficando atrás somente dos EUA (CONAB, 2013). Com essa produção, o Brasil representa 27% do comércio mundial de soja.

O complexo soja, representado por grãos, farelo e óleo, representa 40% das exportações do agronegócio brasileiro, trazendo ao Brasil cerca de US\$ 10 bilhões de divisas anualmente (Associação das Indústrias Brasileiras de Óleos Vegetais - ABIOVE, 2012). As atividades ligadas à sojicultura mantêm cerca de 9 milhões de empregos anualmente, 1,5 milhões de vagas diretas na produção agrícola, e para cada uma destas vagas, surgem mais seis, na indústria de transformação (UNFRIED, 2007).

Os elevados índices produtivos da soja nem sempre são expressos em campo, pois a cultura sofre forte redução na produção devido à incidência de fitopatógenos. São vários os agentes fitopatogênicos causadores de doenças em soja no Brasil e no mundo, os quais levam perdas de produção e danos às plantas afetadas (YORINORI, 2000).

No mundo, foram determinados aproximadamente 125 organismos patogênicos à cultura da soja, dos quais cerca de 40 foram considerados de importância econômica. No Brasil, foram encontrados 25 patógenos capazes de provocar danos econômicos. Estes podem ocorrer em diferentes níveis populacionais, que oscilam de safra a safra (DHINGRA et al., 2009). As doenças provocam reduções anuais estimadas em, aproximadamente, 15% a 20% da produção; ao passo que, algumas podem ocasionar até 100% de redução (EMBRAPA, 2008).

Dentre as espécies de nematoides que afetam a cultura da soja no Brasil e no mundo, o Nematóide do Cisto da Soja (*Heterodera glycines* Ichinohe), é um dos mais importantes, tanto pela extensão de áreas afetadas quanto pelas perdas de produção (SILVA et al., 2004).

### **2.3. Biologia e manejo de *Heterodera glycines***

Dentre os principais patógenos causadores de doenças da soja estão os fitonematoides que infectam o sistema radicular da planta, diminuindo potencialmente sua produção. Entre os mais importantes na cultura da soja destacam-se o nematóide do cisto da soja (*H. glycines*) e os nematoides das galhas (*Meloidogyne javanica* Chitwood e *M. incognita* Chitwood) (DHINGRA et al., 2009). Além desses, outros nematoides de importância na cultura da soja destacam-se *M. arenaria* Chitwood, o nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira), o nematóide das lesões (*Pratylenchus brachyurus*

Filipjev and Schuurmans Stekhoven) (EMBRAPA, 2008) e o *Tubixaba tuxaua* Monteiro & Lordello (FURLANETTO et al., 2010).

O nematoide do cisto da soja pertence à ordem Tylenchida, família Heteroderidae (WRATHER et al., 1984). Foi observado pela primeira vez no Japão, em 1915, cuja doença foi nomeada nanismo amarelo (DHINGRA et.al., 2009).

Em 1954, essa doença foi detectada nos Estados Unidos da América e, em 1983, na Colômbia (GOLDEN; MEDINA, 1983). A primeira ocorrência no Brasil foi relatada na safra 1991/1992 (LIMA et al., 1992; LORDELLO et al., 1992; MONTEIRO; MORAIS, 1992).

Em 1992, Anjos e Sharma (1992) detectaram o nematoide do cisto da soja no Estado de Goiás, Lima et. al. (1992) registraram sua presença no Triângulo Mineiro, Minas Gerais; Lordello et al. (1992) na Chapada dos Guimarães, Mato Grosso; e Monteiro e Moraes (1992) no município de Chapadão do Sul, Mato Grosso do Sul. Posteriormente, Tihohod e Santos (1993) encontraram o parasito no Estado do Paraná, enquanto Rossi et al. (1995), no Estado de São Paulo. Em 1995, cerca de 41 municípios do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul e Paraná apresentaram relatos de ocorrência do nematoide do cisto da soja (YORINORI, 1995). Já em 1997, Brito et al. (1997) afirmaram que 69 municípios apresentavam infestações por *H. glycines*, totalizando 1,7 milhões de hectares e que dentro de poucos anos, todas as regiões produtoras de soja do Brasil seriam atingidas. Azevedo et al. (2002) relataram que 87 municípios brasileiros possuíam áreas agrícolas infestadas pelo nematoide do cisto da soja.

Atualmente, o nematoide do cisto está presente em 10 estados (BA, GO, MA, MT, MS, MG, PR, SP, RS e TO), em área estimada superior a 2,0 milhões de hectares. Entretanto, existem muitas áreas isentas do patógeno, por isso a prevenção é importante (EMBRAPA, 2011). Cabe assim, aos órgãos públicos envolvidos em pesquisa, extensão e defesa fitossanitária orientar os produtores e implementar medidas para evitar a contaminação de áreas livres do nematoide (SANCHES, 2001).

O nematoide do cisto da soja é um parasito obrigatório, que se reproduz por fecundação cruzada e estabelece com a planta, a relação como endoparasita sedentário. O ciclo de vida é completado em 3 a 4 semanas, dependendo da temperatura durante o período de cultivo da soja. O nematoide permanece ativo enquanto as temperaturas ambientais estiverem entre 15 a 30 °C (YOUNG, 1992). Entretanto, a temperatura ideal pode variar de 20 a 30 °C (DHINGRA et al., 2009; EMBRAPA, 2008).

A temperatura e umidade do solo são os principais fatores que afetam a duração do ciclo de vida desse nematoide. Sob 18 °C são necessários, aproximadamente, 40 dias; de 21 a 23 °C, o ciclo se completa em 21 a 24 dias; e, quando submetido a temperaturas abaixo de 10 °C e/ou acima de 34 °C, seu desenvolvimento é paralisado (BALDWIN; MUNDO-OCAMPO, 1991). A temperatura ideal para penetração radicular é de 28 °C; para eclosão é de 24 °C. Para o desenvolvimento do nematoide, varia de 28 a 31°C (SCHMITT; RIGGS, 1989).

O segundo estágio juvenil (J2) é a fase infectiva. O juvenil penetra na raiz, migra até uma região próxima ao cilindro vascular, onde, após algumas transformações nas células vegetais, forma-se a estrutura de alimentação do

nematoide (ENDO, 1992). Após 15 a 20 dias de infecção, os machos abandonam a raiz após fertilizar a fêmea, a qual produz entre 100 a 600 ovos, dos quais a maioria permanece em seu interior (DHINGRA et al., 2009; EMBRAPA, 2008; TIHOHOD; SANTOS, 1993; WRATHER et al., 1984). Após a morte, a cutícula da fêmea é alterada quimicamente, adquire coloração marrom e se transforma em uma estrutura rígida, denominada cisto, e que protege os ovos. O cisto, com sua estrutura leve, desprende-se facilmente da raiz e é altamente resistente à deterioração e dessecação no solo (TRANTAPHYLLOU; HIRSCHMANN, 1962).

Os ovos dentro do cisto têm proteção adicional proporcionada pela matriz gelatinosa no interior deste, pela membrana do ovo e pela cutícula do nematoide (KONDO; ISHIBASHI, 1975).

Wrather et al. (1984) reportaram que são desenvolvidos 200 a 500 ovos dentro de cada fêmea. De acordo com Tihohod e Santos (1993), a fêmea produz de 200 a 600 ovos, dependendo das condições da planta hospedeira. Enquanto que, EMBRAPA (2008) e Dhingra et al. (2009) relataram que o número de ovos varia de 100 a 250 por fêmea.

Geralmente ocorre mais de um ciclo de vida do nematoide em um único cultivo de soja, se o suprimento de umidade for adequado e as temperaturas não forem extremas (DHINGRA et al., 2009; EMBRAPA, 2008; TIHOHOD; SANTOS, 1993).

As fêmeas apresentam o corpo no formato de limão, com coloração inicial branca perolada, mas, quando próximo de se desprenderem da raiz, sua tonalidade se torna amarronzada. O bulbo mediano do esôfago é esférico e muito proeminente. Elas são didelfas e os ovários ocupam toda a cavidade

pseudocelomática. A matriz gelatinosa é externada antes de iniciar a postura e permanece presente na fase inicial dos cistos. Estes apresentam aspecto rugoso, de coloração marrom-escuro com estrias em zigue-zague. Os ovos apresentam  $104,5 \pm 14,5 \mu\text{m}$  de comprimento e  $42 \pm 7,0 \mu\text{m}$  de largura (TURNER; ROWE, 2006).

Os juvenis de segundo estágio são vermiformes e apresentam seis lábios dispostos radialmente, com aberturas anfidiais laterais. Os nódulos basais do estilete são arredondados. Cerca da metade do comprimento da cauda é ocupada pela porção hialina (TURNER; ROWE, 2006).

Os machos, típicos do grupo, apresentam quatro incisuras no campo lateral do corpo. O estilete é robusto e tem os nódulos basais arredondados. As espículas são bidentadas e o gubernáculo é simples (HUNT et al., 2005; TURNER; ROWE, 2006).

O cisto, principal unidade de dispersão por carregar ovos férteis no seu interior, desprende-se das raízes das plantas e permanece no solo. Assim, toda e qualquer forma de movimentação de solo poderá contribuir para carregá-los para áreas ainda isentas desse patógeno e infestá-las (EMBRAPA, 2008; FREITAS et al., 2004; SILVA, 1998). Mesmo na ausência da planta hospedeira, o cisto pode sobreviver no solo por mais de 8 anos, pois é resistente às condições desfavoráveis de temperatura, umidade e aeração do solo, o que favorece sua manutenção sob essas condições (AZEVEDO et al., 2002; EMBRAPA, 2008; DHINGRA et al., 2009).

Os nematoides, por si só, movem-se apenas poucos metros por ano. Todavia, os cistos podem alcançar distâncias consideráveis quando estão aderidos às máquinas e aos implementos, presentes em lotes de sementes

infestadas ou em solos infestados que são carregados pela água, pelos implementos e pelo vento (ANDRADE; ASMUS, 1997; BALDWIN; MUNDO-OCAMPO, 1991; EMBRAPA, 2008), inclusive por pássaros (SANCHES, 2001; TIHOHOD; SANTOS, 1993).

Os sintomas aparecem em reboleiras e as plantas atacadas pelo nematoide têm seu crescimento reduzido, folhas cloróticas e baixa produtividade (EMBRAPA, 2005; FREITAS et al., 2004). A redução do tamanho das plantas pode não ocorrer, todavia, após o florescimento, é observado intenso abortamento de vagens e amadurecimento prematuro (EMBRAPA, 2005). A denominação “nanismo amarelo” foi dada em função dos sintomas apresentados na parte aérea da planta (DHINGRA et al., 2009).

No sistema radicular, os sintomas são basicamente crescimento reduzido (DHINGRA et al., 2009) e redução de nodulação por *Bradyrhizobium japonicum* (FREITAS et al., 2004).

Na presença de condições favoráveis ao desenvolvimento e altas populações de *H. glycines*, a morte de plantas ocorre entre 30 a 40 dias após a emergência. Em lavouras de soja, cuja área cultivada apresenta baixa população de nematoides, pode haver ausência de sintomas. Por isso, os sintomas na parte aérea não são diagnósticos precisos (DHINGRA et al., 2009).

Estudos com *H. glycines* raça 3 levaram à observação de redução da taxa fotossintética e do teor de clorofila, resultando em intenso amarelecimento das folhas. Além disso, verificaram que mesmo na menor densidade populacional utilizada, o nematoide causou expressivas reduções da área foliar e da produção de grãos (ASMUS; FERRAZ, 2002).

A habilidade das plantas em absorver e translocar água e nutrientes para a parte aérea fica comprometida devido às alterações nas funções das raízes causadas por *H. glycines* (EMBRAPA, 2008; WRATHER et al., 1984). Dessa forma, as perdas nas lavouras de soja foram consideráveis, variando de 10% a 100% em todos os locais onde o nematoide do cisto da soja foi encontrado (SILVA, 1998; SINCLAIR, 1982; TIHOHOD; SANTOS, 1993). As perdas de produtividade de grãos podem chegar a 90% dependendo do grau de infestação, suscetibilidade da cultivar, fertilidade do solo e raça do nematoide (DHINGRA et al., 2009). No Brasil Central, em condições de populações muito elevadas do nematoide no solo, especialmente se associadas com excesso de calagem, as perdas devidas a *H. glycines* chegaram a 100 % (GARCIA et al., 2005).

Anjos e Sharma (1992) observaram, em Goiás, redução de 63% na produção de grãos em lavouras infectadas pelo nematoide do cisto da soja, em relação às plantas de soja aparentemente saudáveis. As perdas de produção variam de pequenas, em lavouras sem sintomas visíveis na parte aérea, a mais de 50% (MENDES, 1993). Além da diminuição na produção, observou-se redução no conteúdo proteico dos grãos provenientes da soja infectada (ROSS, 1962).

Nos EUA, o *H. glycines* foi responsável por um rápido declínio na produção de soja no período de 2003 a 2005. Os prejuízos causados por esse nematoide foi maior do que por qualquer outra doença, diminuindo a produção de 2,9 milhões de toneladas em 2003 para 1,9 milhões de toneladas em 2005 (WRATHER; KOENNING, 2006).

A desvalorização financeira de áreas produtivas ocorrem devido à presença de populações de *H. glycines* (SILVA, 1998). Uma vez esse nematoide introduzido em uma área de cultivo, é praticamente impossível e inviável economicamente qualquer tentativa de erradicá-lo, e sua disseminação por toda a área e região pode ocorrer em pequeno espaço de tempo (EMBRAPA, 2008; RIGGS, 1977).

Para minimizar os prejuízos ocasionados pelo nematoide do cisto, várias instituições brasileiras vêm desenvolvendo pesquisas com esse parasito, procurando maior conhecimento desse patógeno, bem como o desenvolvimento de novas tecnologias para controlá-lo (BRITO, 1997).

O termo raça foi proposto para diferenciar os isolados do patógeno, com base nas suas habilidades em reproduzir-se sobre uma série de genótipos de soja (DIAS et al., 2010). A existência de raças fisiológicas em *H. glycines* foi observada, pela primeira vez, por Ross e Brim (1957) nos EUA.

No Brasil, já foram encontradas 11 raças (1, 2, 3, 4, 4<sup>+</sup>, 5, 6, 9, 10, 14, 14<sup>+</sup>) conforme EMBRAPA (2011), com a seguinte distribuição nos estados brasileiros: Mato Grosso (raças 1, 2, 3, 4, 4<sup>+</sup>, 5, 6, 9, 10, 14, 14<sup>+</sup>), Mato Grosso do Sul (raças 1, 3, 4, 5, 6, 9, 10, 14), Minas Gerais (raças 3, 4, 6, 10) e Rio Grande do Sul (raças 3, 5 e 6), Paraná e São Paulo (raça 3), Bahia (raça 1, 3 e 14), Tocantins (raça 1) e Maranhão (raça 5, 6 e 9) (EMBRAPA, 2011). A diferenciação das raças foi realizada com base no número de fêmeas do nematoide desenvolvido sobre cada diferenciadora (Peking, Pickett, PI88788, PI90763) em relação ao número de fêmeas determinado na cultivar Lee 74 que é o padrão de suscetibilidade (GOLDEN et al., 1970). Com essa metodologia, os autores identificaram quatro diferentes raças. Posteriormente, isolados,

foram analisados e observados por Riggs e Schmitt (1988). Esses isolados não se enquadravam nas raças determinadas por Golden et al. (1970). Diante disso, Riggs e Schmitt (1988) verificaram a resposta dos diferentes isolados em relação às quatro diferenciadoras e propuseram uma expansão permitindo a caracterização de até 16 raças.

A inclusão da variedade Hartwig como diferenciadora aconteceu para que todas as vezes que a resistência dessa cultivar fosse vencida, o número da raça era acompanhado de um sinal positivo (+), como sugestão de Dias et al. (1998). As raças 4+ e 14+ diferiram, das raças 4 e 14 clássicas, respectivamente, por apresentarem habilidade em parasitar a cultivar Hartwig. Entretanto, a resistência da PI 437654, um dos parentais de “Hartwig”, foi mantida. A forte ligação do(s) seu(s) gene(s) de resistência com o gene *I/i* (sendo o alelo *i* responsável pela cor preta do tegumento da semente) tem dificultado a transferência da resistência para cultivares elite (DIAS, 2003).

Um novo esquema de classificação da variabilidade de *H. glycines* foi proposto por Niblack et al. (2002) com intuito de descrever melhor a diversidade existente. Para isso, os autores sugeriram a inclusão de outras diferenciadoras e classificaram as populações de nematoide em grupos denominados tipos HG. O teste do tipo HG envolve sete fontes de resistência que também são utilizadas no desenvolvimento de germoplasma resistente nos EUA.

Com o intuito de nortear os programas de melhoramento genético da soja, visando desenvolver cultivares resistentes ao NCS, é fundamental o acompanhamento da distribuição/evolução das raças, presentes nas diferentes regiões do Brasil (DIAS et al., 2010). A chance de híbridos de nematoides de

parasitar com êxito uma cultivar resistente ocorre em razão da capacidade de intercruzamentos entre nematoides de diferentes raças (SCHMITT; RIGGS, 1989).

O controle do NCS pode ser realizado utilizando-se de algumas estratégias que incluem as cultivares resistentes e o manejo integrado da soja, sendo o ideal a combinação de estratégias disponíveis (EMBRAPA, 2008). Todavia, outros métodos podem ser utilizados como a rotação de culturas (EPPS; CHAMBERS, 1965), o uso de nematicidas (WRATHER; ANAND, 1988) e o controle biológico (HARTWIG, 1981).

Dhingra et al. (2009) sugeriram que o controle seja preventivo, devido à dificuldade de sua eliminação. Além dos métodos comentados, indicaram uso de sementes livres de patógenos, desinfestação de implementos agrícolas, bom manejo de solo com aumento dos níveis de matéria orgânica, adubação equilibrada e descompactação.

#### **2.4. *Pasteuria*: ocorrência, biologia, ciclo de vida e seu potencial como controle biológico de nematoides**

A ocorrência de bactérias do gênero *Pasteuria* tem sido reportada em 196 espécies de nematoides do solo, pertencentes a 96 gêneros diferentes, de 51 países nos 5 continentes e em várias ilhas do Atlântico, Pacífico e Índico (CHEN; DICKSON, 1998; CIANCIO et al., 1994; SAYRE; STARR, 1988; STURHAN, 1988). Em uma lista publicada por Chen e Dickson (1998) dos nematoides hospedeiros de *Pasteuria* spp. ao redor do mundo, foram incluídos 20 novos gêneros, 127 novas espécies, além de espécies não identificadas em 29 novos países. Nematoides de vida livre, fitonematoides, predadores de outros nematoides e entomopatogênicos fazem parte dessa listagem. A ocorrência de *Pasteuria* spp. é mais abundante em áreas úmidas com menos de 900 m de altitude do que em áreas secas com mais de 900 m de altitude. Não há registro da ocorrência de *Pasteuria* spp. em regiões com média de temperatura anual abaixo de 10°C, e a maior ocorrência se dá em médias de temperaturas anuais acima de 21°C (CHEN; DICKSON, 1998).

Bactérias do gênero *Pasteuria* (METCHNICKOFF, 1888) são gram-positivas, formadoras de endósporos e micélio (MANKAU; IMBRIANI, 1975). São parasitas obrigatórias e têm como hospedeiros apenas organismos invertebrados (SAYRE; STARR, 1989). Com exceção da *P. ramosa*, que é uma bactéria parasita da hemolinfa de pulgas aquáticas das espécies *Daphnia pulex* Leydig, *D. magna* Strauss e *Moina rectirostris* Leydig (METCHNIKOFF, 1888; SAYRE et al., 1977), outras espécies de *Pasteuria* descritas são parasitas de nematoides. O parasitismo de *Pasteuria penetrans* Thorne (SAYRE; STARR)

ocorre em nematoides causadores de galha, *Meloidogyne* spp. (SAYRE; STARR, 1985; STARR; SAYRE, 1988). *P. thornei* (STARR; SAYRE, 1988) possui como hospedeiros os nematoides causadores de lesões, *Pratylenchus* spp. (STARR; SAYRE, 1988) e a *P. nishizawae* (SAYRE et al., 1991 b), e infecta os nematoides dos cistos, *Heterodera* e *Globodera* (SAYRE et al., 1991 a, 1991 b). Além dessas espécies conhecidas atualmente, uma quinta espécie de *Pasteuria* foi descrita em 2003, por Giblin-Davis e colaboradores. Essa bactéria considerada endoparasita obrigatória recebeu o nome provisório de *Candidatus Pasteuria usgae*, a qual tem como hospedeiro o nematoide *Belonolaimus longicaudatus*.

A *Pasteuria* tem sido relatada no mundo todo, infectando mais de 100 gêneros de nematoides, incluindo os parasitas de plantas, os entomopatogênicos e os nematoides de vida livre (CHEN; DICKSON, 1998; CIANCIO et al., 1994; SAYRE; STARR, 1988; STURHAN, 1988). Bactérias do gênero *Pasteuria* são descritas quanto à sua morfologia, desenvolvimento e características patológicas. Também são usadas formas e tamanhos dos esporângios e endósporos, ultraestrutura, ciclo de vida e especificidade pelo hospedeiro (DAVIES et al., 1991; GIBLIN-DAVIS et al., 2003; METCHNIKOFF, 1888; NOEL; STARGER, 1994; SAYRE; STARR, 1989; SAYRE et al., 1991a, 1991b; STARR; SAYRE, 1988; STURHAN et al., 1994). Em alguns casos, essas características são suportadas através de análises sequenciais do 16S rDNA (ANDERSON et al., 1999; ATIBALENTJA et al., 2000). Atibalentja et al. (2004) sequenciaram o gene 16S RNA de um isolado de *P. nishizawae* do Japão para confirmação da espécie, sustentando assim, a possibilidade do uso de técnicas moleculares para identificação das espécies de *Pasteuria*.

Os endósporos da *Pasteuria* não apresentam mobilidade, com isso, a adesão à cutícula do nematoide ocorre quando este, em seu movimento pelo solo, entra em contato com a bactéria. Esse fator é provavelmente o mais importante ao favorecimento da adesão dos endósporos ao nematoide, uma vez que, quanto maior for essa atividade, maior a probabilidade do contato com os endósporos. Contudo, sabe-se que os endósporos movem-se rapidamente verticalmente no perfil do solo com a percolação da água, assim, aumentando a chance do contato com os nematoides (CENTITAS; DICKSON, 2005; DICKSON; HEWLETT, 1988; OOSTENDORP et al., 1989). O nematoide pode ter em seu corpo diversos endósporos aderidos, porém, um único endósporo é suficiente para infectar um nematoide (CHEN; DICKSON, 1998; MANKAU, 1975; MANKAU; IMBRIANI, 1975). No entanto, não significa que essa adesão do endósporo obrigatoriamente acarretará na germinação e penetração no corpo do nematoide. O parasitismo da bactéria pode ser considerado com sucesso, apenas após a penetração e o desenvolvimento da *Pasteuria* dentro do pseudoceloma do nematoide (KARIUKI et al., 2006).

Os endósporos da *Pasteuria* aderidos ao corpo do nematoide são carregados por ele para o interior do sistema radicular da planta no momento da infecção. Após o estabelecimento do sítio de alimentação pelo J2 no interior da raiz, o protoplasma bacteriano entra no corpo do nematoide através de um tubo germinativo que sai da base do endósporo e perfura a cutícula, hipoderme e músculos somáticos do nematoide até atingir o pseudoceloma. A extremidade do tubo germinativo ramifica-se dicotomicamente formando um micélio septado e dá origem a microcolônias vegetativas em forma de “couve-flor”, que se dividem em novas colônias, as quais se desenvolvem no pseudoceloma do

nematoide. Durante o desenvolvimento, as colônias fragmentam-se e as células terminais engrossam-se, dando origem aos endósporos, que amadurecem no interior da fêmea do nematoide (CHEN; DICKSON, 1998; MANKAU, 1975; MANKAU; IMBRIANI, 1975). Em geral, a *Pasteuria* tem seu desenvolvimento em sincronia com o desenvolvimento do nematoide em que ela se hospeda, quando dentro do sistema radicular e em condições viáveis de temperatura (STIRLING, 1981). No campo, a adesão de endósporos e o desenvolvimento de *P. penetrans* em *Meloidogyne* spp. ocorrem de forma mais eficiente em temperaturas entre 25° e 30° C (FREITAS, 1997; STIRLING, 1981; STIRLING et al., 1990). Stirling (1981) observou que a duração do ciclo de vida da *Pasteuria* pode ser até 70% menor a 20°C quando comparado a 30°C, indicando que o controle mais eficaz se dá em altas temperaturas.

Em análises microscópicas dos estádios de *H. glycines* infectado com *P. nishizawae*, Atibalentja et al. (2004), observaram que os endósporos, os quais se aderem à cutícula dos J2 no solo, não germinam até que o nematoide penetre no sistema radicular da soja. Simultaneamente à infecção do nematoide na planta, tubos germinativos do endósporo se diferenciam e penetram no corpo do nematoide. Após a germinação, microcolônias primárias parecidas com “couve-flor” se desenvolvem no final do segundo estágio do juvenil ou no início do terceiro estágio do juvenil (J3). Subsequentemente, as primeiras colônias se fragmentam em numerosas microcolônias secundárias, as quais proliferam através da cavidade do corpo dos juvenis do quarto estágio (J4). A primeira evidência da esporulação aparece na forma de “cachos de uva” de esporângios imaturos no J4 e nas fêmeas jovens. Então, fêmeas e cistos infectados apresentam misturas de células de diferentes estágios de

desenvolvimento da *Pasteuria*, incluindo esporângios imaturos, octetos, quartetos, triplos duplos e esporângios individuais. Fêmeas e cistos parasitados são envoltos principalmente com esporângios e endósporos maduros, os quais são liberados no solo depois da desintegração do nematoide.

O ciclo de vida da *P. nishizawae* se completa apenas no pseudoceloma de fêmeas de *H. glycines*, e raramente ocorre a adesão em machos (SAYRE et al., 1991a). Embora possa ocorrer adesão da *P. nishizawae* em outras espécies de nematoides, o único hospedeiro conhecido é o *H. glycines* (ATIBALENTJA et al., 2004; SAYRE et al., 1991a).

Bactérias do gênero *Pasteuria* possuem grande potencial como agente de controle biológico de nematoides. Diversas pesquisas têm mostrado a eficiência de *P. penetrans* contra *Meloidogyne* spp. (DAVIES et al., 1991; OOSTENDORP et al., 1991; RODRÍGUEZ-KÁBANA et al., 1986 ; STIRLING, 1984).

O processo de redução da população de *Meloidogyne* spp. por *P. penetrans* se dá em duas etapas. A primeira, em solo com baixa concentração de endósporo da bactéria, os juvenis se encontram com poucos endósporos no seu caminho em busca da raiz e penetram a raiz com poucos endósporos aderidos à sua cutícula. Dessa forma, a infectividade dos juvenis não é afetada (BROWN; SMART, 1985; DAVIES et al., 1988), porém as fêmeas resultantes desses juvenis não produzirão ovos, pois a bactéria ganha a competição por nutrientes no interior da fêmea. Quando cada uma dessas fêmeas entra em senescência, cerca de dois milhões de endósporos de *P. penetrans* são liberados no solo. A segunda fase do controle de nematoide ocorre quando a concentração de endósporos da bactéria no solo é alta e muitos endósporos

aderem-se aos juvenis, impedindo que eles se locomovam até as raízes e as penetrem (STIRLING, 1984). Quando isso ocorre, considera-se que o solo tornou-se supressivo e a população de nematoide tende a cair drasticamente (FREITAS, 1997).

Pimenta e Carneiro (2005) verificaram redução significativa da população de *M. javanica*, causada por *P. penetrans* após dois cultivos consecutivos. Embora não tenha ocorrido total controle do nematoide, a maior concentração da bactéria acarretou maior redução nos níveis populacionais do nematoide.

Freitas et al. (2009) relataram um caso de supressividade de *M. javanica* por *P. penetrans* em jaborandi no estado do Maranhão, onde o solo foi infestado inicialmente com *P. penetrans*. Em 4 anos, o número de endósporos/juvenil passou de 4,5 no primeiro a 150 endósporos/juvenil no quarto ano. Acredita-se que a textura arenosa do solo em questão, somada às altas temperaturas, foram fatores favoráveis à multiplicação da bactéria e à elevação de sua densidade populacional no solo. Dickson et al. (1994) verificaram reduções nas populações de *M. arenaria* em microparcelas no campo plantadas com amendoim, após dois anos da inoculação da bactéria. Fazendo uma análise comparativa, no mesmo relato, Freitas et al. (2009) observaram que solos com maior teor de argila não oferecem a mesma intensidade de supressividade como em solos arenosos e que clima quente confere rápido desenvolvimento de solo supressivo.

Em estudo realizado por Kariuki et al. (2006), testou-se o efeito de diferentes quantidades de endósporos de *P. penetrans* na população de *M. arenaria*, raça 1, e foi verificado que 3 e 5 endósporos/juvenil reduziram a

capacidade dos juvenis de penetrarem nas raízes. Em altas concentrações de endósporos, foi verificada a presença de galhas no sistema radicular, mas no entanto, houve uma redução no número de massas de ovos. Os autores ressaltaram que o número de endósporos da bactéria desempenha um papel fundamental na adesão ao nematoide, implicando assim na penetração do juvenil no sistema radicular da planta e na fecundidade do nematoide.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação e no Laboratório de Fitopatologia e Nematologia da Estação Experimental da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, no município de Uberlândia (MG), durante o período de novembro de 2011 a abril de 2013.

#### 3.1. Ocorrência natural de *Pasteuria* sp. em populações de *Heterodera glycines* no Brasil

Quatorze populações de *H. glycines* foram obtidas nos municípios de Campo Novo dos Parecis (MT), Nova Mutum (MT), Sorriso (MT), Primavera do Leste (MT), Luís Eduardo Magalhães (BA), Rio Verde (GO), Unaí (MG) e Uberlândia (MG).

As coletas das populações foram realizadas em campos comerciais de soja e em plantas com a presença de nanismo amarelo, presentes no interior de reboleiras, mediante a amostragem com coleta de solo e de raízes. No momento da amostragem, a confirmação da presença de *H. glycines* foi realizada por meio de visualização de fêmeas aderidas às raízes das plantas amostradas.

Em cada reboleira identificada, foram retiradas quatro amostras simples contendo solo e raízes amostrados entre 10 a 30 cm de profundidade que compuseram a amostra composta, com cerca de 1 Kg de solo e 200 g de raiz.

As amostras compostas foram identificadas, acondicionadas em caixas de isopor e enviadas imediatamente para o laboratório.

As amostras primeiramente foram passadas empeneiras, com abertura de orifícios de 0,25 mm (ABNT 60) e 20,5 cm de diâmetro, para separação de solo e raízes. Os torrões retidos nas peneiras foram destruídos manualmente até atingirem dimensões suficientes para passar pelos orifícios da peneira. O solo de cada amostra, no volume de 100 cm<sup>3</sup>, foi processado de acordo com a metodologia descrita por Jenkins (1964) para extração das formas livres de fitonematoídeos. Em seguida, uma alíquota de 10 mL da suspensão foi colocada em placas de petri de 60 mm de diâmetro e 15 mm de altura e observada com o auxílio de um microscópio ótico invertido com oculares de 15x e objetiva de 40x, resultando no aumento de 600x. De acordo com observações de características morfológicas e morfométricas, 50 espécimens por repetição, pertencentes ao gênero *Heterodera* foram identificados e avaliados quanto a presença ou ausência de endósporos de *Pasteuria* sp. aderidos à cutícula dos nematoídeos. Quatro repetições foram avaliadas para cada amostra.

### **3.2. Adesão de endósporos de *Pasteuria nishizawae* em diferentes populações de *Heterodera glycines***

A bactéria *P. nishizawae* utilizada para os testes de adesão de endósporos foi identificada como pertencente ao isolado PN1 do banco de isolados bacterianos da empresa Pasteuria BioScience, localizada em Alachua-FL (EUA). O isolado bacteriano consistiu-se no produto direto do processo

fermentativo, utilizado para multiplicação *in vitro* da bactéria, na concentração de  $4 \times 10^{12}$  endóspodoros.L<sup>-1</sup>.

Anteriormente ao teste de adesão, a suspensão de endósporos foi diluída a uma concentração de  $2 \times 10^5$  endósporos.mL<sup>-1</sup> e submetida a ondas ultrassônicas de 20 kHz durante 10 min, com o equipamento Kerry's Ultrasound (Hawksley and Souns, LTD, Londres). O procedimento de exposição às ondas ultrassônicas teve como objetivo aumentar o potencial de adesão dos endósporos aos nematoides, por meio da retirada da membrana do esporângio retida na superfície dos endósporos (STIRLING et al., 1986).

Para os estudos de adesão de endósporos de *P. nishizawae* foram utilizadas nove populações de *H. glycines* obtidas nos municípios de Campo Novo dos Parecis (MT), Nova Mutum (MT), Sorriso (MT), Luís Eduardo Magalhães (BA), Rio Verde (GO) e Uberlândia (MG).

As populações de *H. glycines* foram mantidas em plantas de soja da cultivar Conquista (BR/MG 46) conduzidas em vasos sob condições de casa-de-vegetação. Após o período mínimo de 3 meses, as plantas foram cuidadosamente retiradas dos vasos e as raízes separadas e colocadas sobre a peneira com malha de 0,85 mm (16 mesh), acoplada sobre outra peneira com malha de 0,15 mm (100 mesh) e lavadas sob jato forte de água. As fêmeas retidas na peneira de 0,15 mm foram transferidas para um almofariz, onde foram esmagadas para a liberação dos ovos. Posteriormente, o material esmagado foi passado em uma peneira de 0,15 mm, acoplada à outra com malha de 0,026 mm (500 mesh), na qual os ovos ficaram retidos, tendo sido recolhidos por meio de solução aquosa de sacarose, de acordo com o método descrito por Jenkins (1964). O sobrenadante foi vertido em peneira de

0,026mm e lavado para retirar o excesso de sacarose, sendo os ovos recolhidos pelos jatos de água para compor a suspensão em béquer de 50 mL.

As suspensões de ovos de cada população foram colocadas em funil de Baermann para eclosão dos juvenis e, mantidas em BOD sob temperatura constante de 25°C por um período de 3 a 4 dias, até obtenção de no mínimo 1.000 juvenis de segundo estágio de cada amostra.

Em microtubos de centrífuga, com capacidade de 0,4 mL, uma alíquota de 0,1 mL da suspensão de endósporos na concentração de  $2 \times 10^5$  endósporos.mL<sup>-1</sup> foi adicionada a 0,1 mL de suspensão de J2 de *H. glycines* em concentração mínima de 2.000 J2.mL<sup>-1</sup>, resultando em uma concentração final de  $10^5$  endósporos.mL<sup>-1</sup> e 1.000 J2.mL<sup>-1</sup>. Os microtubos contendo os endósporos e nematoides foram centrifugados de acordo com a metodologia descrita por Hewlett e Dickson (1993).

As avaliações foram realizadas com base na presença e ausência de endósporos aderidos à cutícula dos juvenis, logo após a centrifugação. Quatro repetições de 50 juvenis foram avaliadas para cada amostra. Os dados foram submetidos à análise de comparação múltipla de Scott-Knott à 5% de significância.

### 3.3. Eficiência de *Pasteuria nishizawae* para o controle de *Heterodera glycines* em soja

Para o estudo de eficiência de *P. nishizawae* no controle de *H. glycines* foi conduzido um experimento em condições de casa-de-vegetação, sob temperaturas variáveis entre 16,5 a 31°C e sob regime de irrigação diária.

Os tratamentos utilizados para o estudo de eficácia do tratamento de sementes de soja estão descritos na Tabela 1. O fungo *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Samson, anteriormente classificado como *Paecilomyces lilacinus*, foi utilizado na forma do produto comercial Nemat<sup>®</sup> TS, comercializado pela empresa Ballagro Agro Tecnologia Ltda, contendo 10<sup>14</sup> unidades formadoras de colônias (UFC).kg<sup>-1</sup>. O nematicida químico abamectina foi utilizado na forma do produto comercial Avicta<sup>®</sup> 500 FS, comercializado pela empresa Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, na concentração de 500 g abamectina.L<sup>-1</sup> sendo 100 mL.100 kg<sup>-1</sup>. O estudo utilizou as doses recomendadas pelos fabricantes para o controle de *M. incognita* na cultura da soja, sendo 100 ml de Avicta<sup>®</sup>.100 kg<sup>-1</sup> e 200 g de Nemat<sup>®</sup>.100 kg<sup>-1</sup> de sementes. O tratamento com abamectina foi considerado no presente estudo como tratamento padrão, por ter sido o primeiro nematicida para tratamento de sementes registrado na cultura da soja no Brasil.

TABELA 1. Tratamentos utilizados no estudo de eficiência de *Pasteuria nishizawae*, *Purpureocillium lilacinus* e abamectina para o controle de *Heterodera glycines* em casa-de-vegetação.

| Tratamentos                | Método de aplicação* | Concentração                              | Dose** | Dose***                 |
|----------------------------|----------------------|-------------------------------------------|--------|-------------------------|
| Testemunha (sem nematoide) | -                    | -                                         | -      | -                       |
| Testemunha                 | -                    | -                                         | -      | -                       |
| abamectina                 | TS                   | 500 g.L <sup>-1</sup>                     | 50 ml  | 0,15 mg                 |
| <i>P. nishizawae</i>       | TS                   | 4 x 10 <sup>12</sup> end..L <sup>-1</sup> | 80 ml  | 10 <sup>6</sup> end.    |
| <i>P. nishizawae</i>       | TSP                  | 4 x 10 <sup>12</sup> end..L <sup>-1</sup> | 8 L    | 10 <sup>8</sup> end.    |
| <i>P. lilacinus</i>        | TSP                  | 10 <sup>14</sup> UFC.kg <sup>-1</sup>     | 100 g  | 3,1x10 <sup>7</sup> UFC |

\* Tratamento de sementes (TS) e tratamento de sulco de plantio (TSP)

\*\* Dose de produto formulado por hectare (considerando 50 kg de sementes.ha<sup>-1</sup>)

\*\*\* Dose em miligramas de ingrediente ativo (abamectina), número de endósporos (*P. nishizawae*) e número de unidades formadoras de colônias (*P. lilacinus*) por semente (considerando 320.000 sementes.ha<sup>-1</sup>).

A bactéria *P. nishizawae*, descrita no item 3.2, foi aplicada diretamente sem exposição anterior a ondas ultrassônicas e nas doses de 160 mL.100 kg<sup>-1</sup> de sementes, em tratamento de sementes, e 8 L.ha<sup>-1</sup>, em aplicação em sulco de plantio de forma concentrada abaixo da semente.

Sementes de soja da cultivar Conquista (BRMG-46) foram tratadas por meio do método do saco plástico, utilizando o volume máximo de calda de 600 mL.100 kg<sup>-1</sup> de sementes, de acordo com lista de tratamentos apresentada na Tabela 1. A mistura fungicida contendo mefenoxam e fludioxonil, ingredientes ativos de Maxim<sup>®</sup> XL, foi aplicada em todos os tratamentos na dose de 100 mL.100 Kg<sup>-1</sup> de sementes, conforme recomendação do fabricante, objetivando evitar interferência negativa de patógenos fúngicos no experimento. Para finalidade de cálculo, foram considerados os seguintes números: 320.000 sementes.ha<sup>-1</sup> e 50 kg de sementes por hectare.

O substrato usado consistiu-se na mistura de areia e solo argiloso na proporção de 2:1 que foi esterilizado em autoclave durante 50 min, sob temperatura constante de 121°C e, em seguida, deixado em repouso por um período mínimo de 7 dias antes do plantio dos experimentos.

O inóculo de *H. glycines* foi obtido de plantas soja da variedade Lee 74, mantidas em vasos e sob condições de casa-de-vegetação, na presença de solo anteriormente inoculado com o nematoide. As raízes das plantas foram coletadas e processadas e para a extração de ovos de *H. glycines*, conforme descrito no item 3.2. Após o procedimento de extração dos ovos, a concentração da suspensão de ovos foi ajustada para 1.000 ovos.mL<sup>-1</sup> com o auxílio da câmara de Peters.

Paralelamente, vasos com capacidade de 2 L foram preenchidos com a mistura de solo e areia. Uma cova de aproximadamente 3 cm de profundidade foi realizada no centro de cada vaso, onde 5 mL da suspensão de ovos na concentração de 1.000 ovos.mL<sup>-1</sup> foi adicionada. Em seguida, realizou-se o plantio das sementes de diferentes tratamentos ou o tratamento em sulco de plantio seguido da semeadura. Oito vasos foram semeados por tratamento, totalizando 48 vasos.

As avaliações foram realizadas 36 dias após a emergência (DAE) das plantas. Para tanto, as plantas foram coletadas cuidadosamente objetivando a retirada dos sistemas radiculares íntegros. As raízes foram identificadas, lavadas por imersão em água parada para retirada do excesso de solo e processadas para retirada das fêmeas aderidas às raízes, de igual modo descrito anteriormente no item 3.2. Após a retirada das fêmeas, procedeu-se a

contagem em placas de Petri quadriculadas sob microscópio estereoscópio para determinação do número total de fêmeas por sistema radicular.

Posteriormente, para determinação do número de ovos por fêmea, vinte fêmeas por repetição foram coletadas manualmente com auxílio de pipetador e transferidas para um almofariz, onde foram esmagadas para a liberação dos ovos. O material esmagado foi passado em uma peneira de 0,15 mm, acoplada a outra com malha de 0,026 mm, na qual os ovos ficaram retidos, tendo sido recolhidos por meio de água em béquer de 50 mL e, em seguida, quantificados em câmara de Peters. Os dados foram submetidos à análise de comparação múltipla de Duncan a 5% de significância.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Ocorrência natural de *Pasteuria* sp. em populações de *Heterodera glycines* no Brasil

Na Tabela 2 estão os resultados de ocorrência natural de *Pasteuria* sp. com base na frequência de juvenis de *H. glycines* com a presença de endósporos da bactéria aderidos à cutícula dos nematoides.

Endósporos de *Pasteuria* sp. foram encontrados em todas as 14 populações de *H. glycines* avaliadas em frequências variáveis entre 5,5 a 87%. Os dados obtidos confirmam que a bactéria é uma habitante dos solos das áreas produtoras de soja nos estados da Bahia, Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais.

As diferentes frequências encontradas nas amostras podem ser atribuídas a alguns fatores inerentes a cada localidade onde as populações foram coletadas, como: população do nematoide hospedeiro (MINTON; SAYRE, 1989; DICKSON et al., 1994; TIMPER, 2009), temperatura do solo (SERRACIN et al., 1997), umidade do solo (BROWN; SMART, 1985), textura do solo (DABIRÉ; MATEILLE, 2004) e pH do solo (AHMED; GOWEN, 1991). Por todos esses fatores terem certamente afetado as populações de *Pasteuria* em diferentes níveis, não se objetivou nessa discussão a comparação dos diferentes níveis populacionais da bactéria encontrados nas diferentes localidades.

TABELA 2. Porcentagem de ocorrência natural de endósporos de *Pasteuria* sp. aderidos em juvenis de diferentes populações de *Heterodera glycines*.

| Localidades            | UF | Ocorrência (%) |
|------------------------|----|----------------|
| São Desidério          | BA | 18,5           |
| Luís Eduardo Magalhães | BA | 10,5           |
| Luís Eduardo Magalhães | BA | 87,0           |
| São José do Rio Claro  | MT | 13,0           |
| Tangará da Serra       | MT | 24,5           |
| Campo Novo do Parecis  | MT | 23,0           |
| Campo Novo do Parecis  | MT | 5,5            |
| Nova Mutum             | MT | 7,5            |
| Sorriso                | MT | 26,5           |
| Sorriso                | MT | 8,5            |
| Primavera do Leste     | MT | 13,0           |
| Rio Verde              | GO | 15,5           |
| Uberlândia             | MG | 35,5           |
| Unaí                   | MG | 50,5           |

Fonte: LOVATO (2011)

Relatos de ocorrência de *Pasteuria* em populações de nematoides nos solos brasileiros vêm sendo feitos desde 1966, quando Lordello (1966) identificou fêmeas de *M. javanica* infectadas por *Pasteuria* sp. no município de Varginha (MG). Em seguida, vários trabalhos de ocorrência de *Pasteuria* sp. foram realizados em solos de áreas agrícolas no Brasil, sendo que na maioria deles foi verificada a ocorrência da bactéria sobre espécies de *Meloidogyne* (PIMENTA; CARNEIRO, 2005).

Nos EUA, o primeiro relato de *Pasteuria* sp. em *H. glycines* aconteceu em 1994 (NOEL; STANGER, 1994). No Brasil, no entanto, até o presente momento não se tem relato da presença de bactéria do gênero *Pasteuria* nessa

espécie de nematoide. Portanto, o presente trabalho consiste no primeiro relato de *Pasteuria* sp. em *H. glycines* no Brasil.

Atualmente, a única espécie conhecida do gênero *Pasteuria* capaz de infectar *H. glycines* é *P. nishizawae* (SAYRE et al., 1991a). Essa espécie produz endósporos de 1,3 a 1,6 µm de diâmetro (SAYRE et al., 1991b), menores que endósporos de outras espécies, com diâmetros variáveis entre 2,6 a 8 µm (CHEN et al., 2004). Tal diferença morfológica dificulta consideravelmente a observação dos endósporos aderidos à cutícula dos nematoides em aumento de 400x, conforme proposto por Chen et al. (1996). Diante disso, Hewlett (não publicada), recomenda a utilização do aumento de 600x para avaliação de endósporos de todas as dimensões, incluindo endósporos diminutos como os de *P. nishizawae*.

#### **4.2. Adesão de endósporos de *Pasteuria nishizawae* em diferentes populações de *Heterodera glycines***

Os resultados de adesão de endósporos de *P. nishizawae*, apresentados na Tabela 3, mostram que as nove populações de *H. glycines* testadas sofreram adesão de endósporos, em frequências variáveis entre 12,5 a 44,5%.

A adesão de endósporos à cutícula do nematoide é a primeira etapa do processo de infecção de *Pasteuria* (DAVIES et al., 1991). Essa etapa, bem como todas as etapas subsequentes do processo de infecção, é diretamente afetada pela especificidade entre patógeno e hospedeiro existente na relação *Pasteuria* e nematoides. *P. nishizawae* tem a capacidade de infectar nematoides pertencentes aos gêneros *Heterodera* e *Globodera*. Ao passo que, *P. thornei* infecta *Pratylenchus* e *P. penetrans* infecta *Meloidogyne* (ATIBAIENTJA et al., 2000).

O teste de adesão de endósporos consiste em uma forma rápida de avaliação da especificidade de isolados bacterianos de *Pasteuria* em relação a populações de nematoides. Nesse sentido, Hewlett e Dickson (1993) demonstraram a alta especificidade de isolados *P. penetrans* (P-100) e *Pasteuria* sp. (H-1), quanto à adesão de endósporos em diferentes espécies e, em alguns casos, populações pertencentes à mesma espécie de nematoide.

Noel et al. (1994), no entanto, ponderam que em alguns casos, isolados de *Pasteuria* podem aderir aos nematoides, porém não infectá-los e, conseqüentemente, não completarem seu ciclo infectivo.

TABELA 3. Adesão de endósporos de *Pasteuria nishizawae*, isolado PN1, em diferentes populações brasileiras de *Heterodera glycines*.

| Número da amostra | Localidade                | Adesão (%)* |
|-------------------|---------------------------|-------------|
| 1                 | Campo Novo dos Parecis-MT | 36,5 Aa     |
| 2                 | Campo Novo dos Parecis-MT | 12,5 Ba     |
| 3                 | Campo Novo dos Parecis-MT | 21,0 Aa     |
| 4                 | Campo Novo dos Parecis-MT | 17,5 Ba     |
| 5                 | Nova Mutum-MT             | 36,5 Aa     |
| 6                 | Sorriso-MT                | 33,5 Aa     |
| 7                 | Rio Verde-GO              | 22,5 Aa     |
| 8                 | Luís Eduardo Magalhães-BA | 44,5 Aa     |
| 9                 | Uberlândia-MG             | 34,0 Aa     |

\* Médias seguidas de letras maiúsculas e distintas na coluna e médias seguidas de letras minúsculas e distintas na linha, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Fonte: LOVATO (2013).

Atibalentja et al. (2004), trabalhando com *P. nishizawae*, verificaram que *H. schachtii*, *H. trifolii*, *H. lespedezae* e *H. glycines* (raças 1, 2, 3, 4, 5 e 14) apresentaram elevados valores de adesão de endósporos, variáveis entre 49 a 86% de juvenis com endósporos aderidos. *M. arenaria*, *Tylenchorhynchus nudus* e *Labronema* sp., no entanto, não se apresentaram adesão de endósporos de *P. nishizawae* em juvenis quando submetidos ao mesmo teste. Os resultados dos autores concordam com os resultados do presente trabalho, que mostram inespecificidade da bactéria entre diferentes populações de *H. glycines* e inespecificidade da bactéria entre diferentes espécies de nematoides formadores de cistos, como: *H. schachtii*, *H. trifolii*, *H. lespedezae* e *H. glycines*. De modo contrário, a incompatibilidade dos endósporos da bactéria aos juvenis da espécie *M. arenaria*, *Tylenchorhynchus nudus* e *Labronema* sp. confirma a

especificidade de *P. nishizawae* em gêneros de nematoides formadores de cistos.

#### **4.3. Eficiência de *Pasteuria nishizawae* para o controle de *Heterodera glycines* em soja**

Os resultados de eficiência de *P. nishizawae* em comparação com *P. lilacinus* e abamectina estão apresentados na Tabela 4.

Dentre os critérios avaliados, número de fêmeas por planta, número de fêmeas por grama de raiz e número de ovos por fêmea apresentaram diferença significativa entre tratamentos na análise de comparação de médias. Quanto à massa fresca de raízes, no entanto, nenhum tratamento diferiu entre si.

O número de fêmeas de *H. glycines* por planta foi significativamente reduzido pelos tratamentos de *P. nishizawae* sulco ( $10^8$ ) e abamectina em 71,2 e 57,2%, respectivamente. Quanto ao número de fêmeas de *H. glycines* por grama de raiz, os tratamentos *P. nishizawae* sulco ( $10^8$ ), abamectina e *P. nishizawae* semente ( $10^6$ ) apresentaram valores significativamente menores quanto ao número de fêmeas.g<sup>-1</sup> de raiz, sendo 70,5; 64,1 e 49,4% (dados não apresentados) menores que a testemunha, respectivamente. O tratamento de *P. lilacinus*, no entanto, não apresentou diferença significativa quando comparado com a testemunha.

Quanto ao número de ovos por fêmea de *H. glycines*, o único tratamento que diferiu da testemunha foi *P. nishizawae* sulco ( $10^8$ ), com redução de 38,3% em relação à testemunha. Os demais tratamentos, abamectina e *P. nishizawae*

sementes ( $10^6$ ), não apresentaram redução significativa de ovos por fêmea em relação à testemunha.

TABELA 4. Eficiência de *Pasteuria nishizawae*, *Purpureocillium lilacinus* e abamectina no controle de *Heterodera glycines* aos 36 dias após a emergência.

| Tratamento                             | Massa fresca<br>de raiz (g)** | Fêmeas /<br>planta** | Fêmeas / grama<br>de raiz** | Ovos por fêmea** |
|----------------------------------------|-------------------------------|----------------------|-----------------------------|------------------|
| Testemunha (sem nematoide)             | 3,45 a                        | -                    | -                           | -                |
| Testemunha                             | 2,53 a                        | 45,9 a               | 17,0 a                      | 99,9 a           |
| Abamectina                             | 3,40 a                        | 19,6 b               | 6,1 b                       | 116,8 a          |
| <i>P. nishizawae</i> TS ( $10^6$ )*    | 2,76 a                        | 24,0 ab              | 8,6 b                       | 98,9 a           |
| <i>P. nishizawae</i> Sulco ( $10^8$ )* | 2,86 a                        | 13,2 b               | 5,0 b                       | 61,3 b           |
| <i>P. lilacinus</i>                    | 1,59 a                        | 33,5 a               | 24,0 a                      | 77,6 ab          |

\* número de endósporos de *P. nishizawae* aplicados por planta

\*\* Médias seguidas de letras distintas diferem entre si na coluna, pelo teste de Duncan, a 5% de significância.

FONTE: LOVATO (2013).

Nos últimos anos, muitos estudos de eficiência de *Pasteuria* foram conduzidos sob diversas condições e culturas, sendo na maioria dos casos isolados de *P. penetrans* no controle de diferentes espécies de *Meloidogyne* (CHEN et al., 2004).

Chen et al. (1996) testaram, em condições de microparcels em campo, diferentes níveis de *P. penetrans*, variáveis entre 1.000 a 100.000 endósporos.g<sup>-1</sup> de solo e aplicados em sulco de plantio, para o controle de *M. arenaria* em amendoim. Resultados positivos foram observados nos 3 anos subsequentes após a aplicação da bactéria, sendo que a maior dose aplicada (100.000 endósporos) resultou em redução significativa de galhas nas raízes, no primeiro ano; e maior produtividade, redução de galhas nas raízes e

redução da população final de nematoides, no segundo e terceiro ano após a inoculação com a bactéria. As doses mais baixas (10.000 e 1.000 endósporos) resultaram em benefícios similares, porém após o segundo ano de avaliação.

Apesar do limitado número de trabalhos desenvolvidos em espécies do gênero *Heterodera*, Singh e Dhawan (1994) testaram *P. penetrans* em diferentes níveis de endósporos por J2 no controle de *H. cajani* em feijão, em condições de casa-de-vegetação. Reduções na penetração de J2 nas raízes foram observadas nos dois maiores níveis de endósporos/J2 (20 a 40 e >40) e redução no número de cistos por planta com o incremento dos níveis de endósporos/J2, a partir do nível 5 a 10 endósporos/J2.

Buscando melhor entendimento sobre os efeitos de diferentes níveis de endósporos em J2 de nematoides, Vagelas et al. (2012) utilizaram análise de imagens para avaliação da movimentação de J2 de *M. javanica* com diferentes níveis de endósporos de *P. penetrans* aderidos à cutícula. O estudo revelou que o mais elevado nível de endósporo testado (20-30 endósporos/J2) resultou em ausência completa de movimentos coordenados, ao passo que, o nível intermediário, 5 a 8 endósporos/J2, causaram limitada capacidade de movimentação direcionada. Em ambos os níveis avaliados quanto à movimentação (5-8 e 20-30 endósporos/J2), houve redução significativa no número de fêmeas por planta, em condições de casa-de-vegetação, mostrando que a coordenação de movimentos é afetada pela quantidade de endósporos aderidos nos J2, resultando na redução de capacidade de localização da raiz da planta hospedeira.

Além da incorporação de endósporos em solo, outras modalidades de aplicação de *Pasteuria*, também, foram testadas. Anilkumar e Kapoor (2005),

trabalhando com tratamento de sementes de quiabo com *P. penetrans* para o controle de *M. javanica*, utilizaram a dose de  $2,4 \times 10^6$  endósporos por semente e 10 sementes por vaso. Resultados de redução de galhas nas raízes e redução de população final de nematoides foram observados de forma crescente nos três cultivos consecutivos realizados. Aumento significativo de produção foi observado somente após o segundo cultivo.

A não existência de uma formulação de *P. nishizawae* mais concentrada e específica para tratamento de sementes impossibilitou a realização do tratamento de sementes com a dose  $10^8$  endósporos/sementes, devido ao volume de calda necessário para atingir tal dose. No entanto, resultados similares ao tratamento padrão abamectina foram obtidos, mostrando que *P. nishizawae* é um agente de controle biológico promissor no controle de *H. glycines* no Brasil.

De similar modo, abamectina foi testada em tratamento de sementes de soja para controle de *H. glycines* em condições de campo. Vitti et al. (2009) observaram redução significativa no número de fêmeas por planta, número de ovos por fêmea e número de cistos recuperados no solo após 45 dias do plantio do experimento, em condições de campo, com a dose de 50 g abamectina.ha<sup>-1</sup>. A proteção inicial do sistema radicular com o uso da abamectina em tratamento de sementes foi verificada em diferentes espécies de nematoides nas culturas do milho, soja e algodão (MONFORT et al., 2006; FASKE; STARR, 2007; LOVATO et al., 2007; LOVATO et al., 2009).

O tratamento com *P. lilacinus*, não surpreendentemente, foi ineficaz na redução de fêmeas por planta e fêmeas por grama de raiz na primeira geração do nematoide. *P. lilacinus* é conhecido por ser um habitante do solo e colonizar

a matrix gelatinosa produzida para proteção dos ovos dos gêneros *Meloidogyne*, *Tylenchulus*, *Nacobbus*, *Heterodera* e *Globodera* (JATALA et al., 1979). O parasitismo dos ovos ocorre após a colonização da matrix gelatinosa através da penetração direta da hifa por pequenos poros existentes na superfície externa do ovo (MORGAN-JONES et al., 1984), assim reduzindo o número de ovos viáveis por fêmea. Outros fatores como, patogenicidade do isolado fúngico à *H. glycines* e condições de umidade e temperatura durante o experimento, podem ter interferido negativamente no resultado de controle com *P. lilacinus* (STIRLING; WEST, 1991).

O domínio da técnica de multiplicação *in vitro* de *Pasteuria* representou um marco importante na nematologia mundial, por viabilizar a produção em escala comercial de um dos agentes de controle biológico de nematoides mais estudados mundialmente. Como consequência disso, o desenvolvimento e comercialização de novos produtos à base da bactéria foi viabilizado para grandes culturas agrícola. Um exemplo disso é o Clariva<sup>TM</sup> Complete Beans, produto para tratamento de sementes à base de *P. nishizawae* para controle inicial de *H. glycines* na cultura da soja, recentemente lançado no mercado americano (Syngenta, 2014).

Diversos desafios de origem nematológica podem certamente ser melhor manejados uma vez que tecnologias eficientes e economicamente viáveis estejam disponíveis para o agricultor. No entanto, até o presente momento, ainda assim se faz necessário a integração de práticas para manejo de nematoides em determinadas áreas agrícolas. Dessa forma, o investimento público e privado em ferramentas de manejo de nematoides é necessário para fortalecimento do agronegócio brasileiro e mundial.

## CONCLUSÕES

- *Pasteuria* sp. foi presente em 14 populações de *Heterodera glycines* de áreas produtoras de soja no Brasil;
- O isolado PN1 de *Pasteuria nishizawae* foi compatível às diferentes populações brasileiras de *Heterodera glycines* com valores de adesão de endósporos variáveis entre 12 a 44%;
- *Pasteuria nishizawae* (isolado PN1) foi eficiente na dose  $10^8$  endósporos por planta, aplicados no sulco de plantio, para o controle inicial de *Heterodera glycines*, em termos de redução de fêmeas por planta, fêmeas por grama de raiz e ovos por fêmea.

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**, 5<sup>ed</sup>, New York: Academic Press, 2005. 922 p.
- AHMED, R.; GOWEN, S.R. Studies on the infection of *Meloidogyne* spp. with isolates of *Pasteuria penetrans*. **Nematologia Mediterranea**. v.19, p: 229–233, 1991.
- ANDERSON, J. M.; PRESTON, J. F.; DICKSON, D. W.; HEWLETT, T. E.; WILLIAMS, N. H.; MARUNIAK, J. E. Phylogenetic analysis of *Pasteuria penetrans* by 16s rDNA gene cloning and sequencing. **Journal of Nematology**, v. 31, p.319-325, 1999.
- ANDRADE, P. J. M.; ASMUS, G. L. Disseminação do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) pelo vento durante o preparo do solo. **Nematologia Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 98-100, 1997.
- ANILKUMAR, R. K.; KAPOOR, W. **Potential of a bacterial parasite, *Pasteuria penetrans* for management of root-knot disease of horticultural crops**. In: Challenging problems in horticultural and forest pathology. SHARMA, R. C.; SHARMA, J. N. (Eds.), 2005 pp. 287-299.
- ANJOS, J. R. N.; SHARMA, R. D. Ocorrência do nematoide do cisto da soja, *Heterodera glycines* no Estado de Goiás. **Fitopatologia Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 183, 1992
- ASMUS, G. L.; FERRAZ, L. C. C. B. Effect of population of *Heterodera glycines* race 3 on leaf area, photosynthesis and yield of soybean. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 3, p. 273-278, 2002.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE ÓLEOS VEGETAIS. **Dados do complexo soja**. Disponível em: [www.abiove.com.br](http://www.abiove.com.br). Acesso em: 20 nov. 2012.

ATIBALENTJA, N.; NOEL, G. R.; DOMIER, L. L. Phylogenetic position of the North American isolate of *Pasteuria* that parasitizes the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, as inferred from the 16s rDNA sequence. **International Journal of Syst. Evol. Microbiology**, v.50, p. 605-613, 2000.

ATIBALENTJA, N.; NOEL, G. R.; CIANCIO, A. A simple method for PCR-amplification, cloning, and sequencing of *Pasteuria* 16S rDNA from small numbers of endospores. **Journal of Nematology**, 36, 100–105. (2004).

AZEVEDO FILHO, J. A.; VELLO, N. A.; GOMES, R. L. F. Estimativa de parametros genéticos de populações de soja em solos contrastantes na saturação de alumínio. **Bragantia**, v. 57, n. 2, 1998.

AZEVEDO, V. H.; AZEVEDO, P. H.; SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C. Nematóide do cisto da soja: herança, caracterização e controle. In: SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C. (Eds). **Cultivares de soja UFV em Mato Grosso**. 49 p., 2002, p. 43-46. (Boletim técnico, 11 – Soja).

BALDWIN, J. G.; MUNDO-OCAMPO, M. **Heteroderinae, cyst and non-cyst-forming nematodes**. In: NICKLE, W. R. (Ed). **Manual of Agricultural Nematology**. New York: Marcel Dekker, 1991, p. 275-362.

BONATO, E. R.; BONATO, A. L. V. **A soja no Brasil: história e estatísticas**. Londrina: EMBRAPA Soja, 1987. 61p. (EMBRAPA Soja. Documentos, 21).

BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6 (3), p.533, 1981.

BONETTI, L. P. Distribuição da soja no mundo, In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1977. p.1-6.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análises de sementes**. Brasília: Departamento Nacional de Produção Vegetal, 1992. 365p.

BRITO, C. H. **Avaliação da resistência de genótipos de soja quanto à reação a *Heterodera glycines* Ichinohe**. 1997. 83f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1997.

BROWN, S. M.; SMART Jr., G. C. Root penetration by *Meloidogyne incognita* juveniles infected with *Bacillus penetrans*. **Journal of Nematology**, v.17, p. 123-126, 1985.

CÂMARA, G. M. S. **Origem, difusão geográfica e importância da soja**. In: Soja: Tecnologia da produção. Piracicaba: Publique, 1998. cap.1, p.1-25.

CENTITAS, R.; DICKSON, D. W. Distribution and downward movement of *Pasteuria penetrans* in field soil. **Journal of Nematology**, v.37, p.155-160, 2005.

CHEN, Z. X.; DICKSON, D. W. Review of *Pasteuria penetrans*: Biology, ecology, and biological control potential. **Journal of Nematology**, v. 30, p. 313-340, 1998.

CHEN, Z. X.; DICKSON, D. W. **Biological control of nematodes with bacterial antagonists**. In: CHEN, Z. X.; CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. (eds) Nematology: Advance and Perspectives, vol 2. CAB International, UK, p. 1041–1082, 2004.

CHEN, Z. X.; DICKSON, D. W.; MCSORLEY, R.; MITCHELL, D. J.; HEWLETT, T. E. Suppression of *Meloidogyne arenaria* race by soil application of endospores of *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 2, p.159-168, 1996.

CIANCIO, A.; BONSIGNORE, R.; VOVLAS, N.; LAMBERTI, F. Host records and spore morphometrics of *Pasteuria penetrans* group parasites of nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 63, p. 260–267, 1994.

DABIRÉ, K. R.; MATEILLE, T. Soil texture and irrigation influence the transport and the development of *Pasteuria penetrans*, a bacterial parasite of root-knot nematodes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 3, p. 539–543, 2004.

DAVIES, K. G.; KERRY, B. R.; FLYIN, C. A. Observations on the pathogenicity of *Pasteuria penentrans*, a parasite of root-knot nematodes. **Annals of Applied Biology**, v. 112, p. 491-501, 1988.

DAVIES, K. G.; LAIR, V.; KERRY, B. R. The motility, development and infection of *Meloidogyne incognita* encumbered with spores of the obligate hyperparasite *Pasteuria penetrans*. **Revue de Nématologie**, v. 14, p. 611-618, 1991.

DAVIES, K. G.; FLYNN, C. A.; LAIRD, V.; KERRY, B. R. The lifecycle, population dynamics and host specificity of a parasite of *Heterodera avenae*, similar to *Pasteuria penetrans*. **Reviews Nematology**, v.13, p. 303-309, 1990.

DHINGRA, O. D.; MENDOÇA, H. L.; MACEDO, D. M. **Doenças e seu controle**. In: SEDIYAMA, T. (Ed). Tecnologias de Produção e usos de Soja. Londrina: Mecemas, 2009, p. 133-155.

DHINGRA, O. D.; MUCHOVEJ, J. J.; CRUZ FILHO, J. **Tratamento de sementes (controle de patógenos)**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1980. 121p.

DIAS, W. P. **Genética da resistência da soja à raça 4+ do nematoide de cisto, *Heterodera glycines***. 2003. 83f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2003.

DIAS, W. P.; GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; CARNEIRO, G. E. S. **Nematoides em soja: Identificação e controle**. Circular Técnica 76, Embrapa Londrina,

PR. Abril, 2010. [http://www.cnpso.embrapa.br/download/CT76\\_eletronica.pdf](http://www.cnpso.embrapa.br/download/CT76_eletronica.pdf) (acesso em 09/06/2013)

DICKSON, D. W.; OOSTENDORP, M.; GIBLIN-DAVIES, R. M.; MITCHELL, D. J. Control of plant-parasitic nematodes by biological antagonists. In: Rosen, D.; Bennet, F. D.; Capinera, J. L. (Eds.), **Pest management in the Subtropics**. Biological Control – A Florida perspective, London: Intercept, 1994, p. 575-601.

DICKSON, D. W.; HEWLETT, T. E. Horizontal and vertical migration of *Meloidogyne arenaria* in soil columns in the field. **Nematropica**, v. 18, p. 4-5, 1988.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Recomendações técnicas para a cultura da soja no Paraná 2012/13**. In: EMBRAPA-CNPSo. Documentos, 62; OCEPAR. Boletim Técnico, 34). Londrina: EMBRAPACNPSo: OCEPAR, 2011. p. 247-249.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – **Tecnologias de Produção de Soja – Região Central do Brasil** – 2009 e 2010. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 262p., 2008.

EMBRAPA SOJA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - [http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?cod\\_pai=2&op\\_page=294](http://www.cnpso.embrapa.br/index.php?cod_pai=2&op_page=294) (acesso em 26/05/2013).

ENDO, B. Y. **Cellular responses to infection**. In: RIGGS, R.D.; WHATHER, J.A. (Eds.). Biology and management of the soybean cyst nematode. St. Paul: APS Press, 1992, p. 37-49.

EPPE, J. M.; CHAMBERS, A. Y. Population dynamics of *Heterodera glycines* under various cropping sequences in field bins. **Phytopathology**, v. 55, n.1, p. 100-103, 1965.

FASKE, T. R.; STARR, J. L. Cotton root protection from plant-parasitic nematodes by abamectin-treated Seed. **Journal of Nematology**, v. 39, n.1, p.27-30, 2007.

FREITAS, L. G. **The effects of soil solarization, organic amendment, and fumigant nematicides on *Pasteuria penetrans* and its infectivity to *Meloidogyne arenaria* race 1 in tomato.** Ph.D. Thesis. University of Florida. 1997.

FREITAS, L. G.; OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S. **Introdução à nematologia.** Viçosa: Editora UFV, 84p., 1 ed., 2ª reimpressão, 2004 (Caderno didático, 58).

FREITAS L. G.; PODESTÁ, G. S.; FERRAZ, S.; COUTINHO, M. M. Supressividade de solo a *Meloidogyne* por *Pasteuria penetrans* nos Estados do Maranhão e Santa Catarina. In: Bettiol, W.; Morandi, M. A. B. **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas.** Embrapa Meio Ambiente, 2009, p. 341.

FURLANETTO, C.; SEIFERT, K. E.; FENSTERSEIFER, C. E.; PAGE, E.C.; Davi J. J. S.; GRABOWSKI, M. M. S. Desenvolvimento das culturas de soja, milho e trigo cultivadas em áreas infestadas com o nematoide *Tubixaba tuxaua* no Oeste do Paraná. **Tropical Plant Pathology**, vol. 35, 5, p.295-302, 2010.

GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; LONIEN, G.; PEREIRA, J. E. Avaliação de perdas causadas pelo nematoide de cisto através da comparação de rendimentos entre cultivares resistentes e suscetíveis. In: **XXV Congresso Brasileiro de Nematologia**, Piracicaba (SP), Resumos, 2005, p.109.

GIBLIN-DAVIS, R. M.; WILLIAMS, D. S.; BEKAL. S.; DICKSON, D. W.; BRITO, J. A.; BECKER, J. O.; PRESTON, J. F. '*Candidatus Pasteuria usgae*' sp. nov., an obligate endoparasite of the phytoparasitic nematode *Belonolaimus longicaudatus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 53, p. 197–200, 2003.

GOLDEN, A. M.; EPPS, J. M.; RIGGS, R. D.; DUCLOS, L. S.; FOX, J. A.; BERNARD, R. L. Terminology and identify of intraspecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Plant Disease Report**, v. 54, n. 7, p.544-546, 1970.

GOLDEN, A. M.; MEDINA, M. R. A. *Heterodera glycines* en soya y frijol en el Valle del Cauca, Colômbia. **Nematrópica**, v.13, p.229-237, 1983.

HARTWIG, E. E. Varietal development. In: CALDWELL, B. E.; HOWELL, R. W.; JOHNSON, H. W., ed. **Soybeans: improvement, production and uses**. American Society of Agronomy: Madison, 1973. p.194.

HARTWIG, E. E. Breeding productive soybena cultivar resistant to the soybean cyst nematode for the Southern United States. **Plant Disease**, v. 65, n.4, p.303-307, 1981.

HEWLETT, T. E.; DICKSON, D. W. A Centrifugation method for attaching endospores of *Pasteuria* spp. to nematodes. **Supplement to Journal of Nematology**, v. 25(4S), p. 785-788, 1993.

HUNT, D. J.; LUC, M.; MANZANILLA-LOPES, R. H. **Identification, morphology and Biology of plant parasitic nematodes**. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.) *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. UK: Biddles Ltd, King's Lynn (CABI Publishing), 871p., 2005, p.11-52.

HYMOWITZ, T. On the domestication of the soybean. **Economy Botany**, New York, v.24, n.3, p.408-421, 1970.

JATALA, P.; KALTENBACH, R.; BOWNGEL, M. Biological control of *Meloidogyne incognita* acrita and *Globodera pallida* on potatos. **Journal of Nematology**, v. 11, p.303-306, 1979.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Dis. Rep.**, v. 48, p.692, 1964.

KARIUKI, G. M.; BRITO, J. A.; DICKSON, D. W. Effects of *Pasteuria penetrans* endospore rate of attachment on root penetration and fecundity of *Meloidogyne arenaria* race 1. **Nematropica**, v. 36 (2), 2006.

KONDO, E.; ISHIBASHI, N. Ultrastructural changes associates with the tanning process in the cyst wall of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* Ichinohe. **Appl. Ent. Zool.** v.10, p.247-253, 1975.

LEE, Y. K.; KIM, D. G.; LEE, J. K.; LEE, S. H.; CHOI, Y. C. First record of *Pasteuria nishizawae* Sayre, Wergin & Nishizawa attacking *Heterodera glycines* in Korea. **Korean Journal of Plant Pathology**, v. 14, p. 714–719, 1998.

LIMA, R. D.; FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Ocorrência de *Heterodera* sp. em soja no Triângulo Mineiro. **Nematologia Brasileira**, v.16,n.1/2, p.101, 1992 (Resumos).

LORDELLO, L. G. E. Nota sobre um parasito de nematoide. **Revista de Agricultura**, v. 41, n.2, p. 67-69, 1966.

LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A.; QUAGGIO, J. A. Ocorrência do nematoides de cisto da soja (*Heterodera glycines*) no Brasil. **Revista de Agricultura**, v.67, n.3, p.223-225, 1992.

LOVATO, B. V.; NASCIMENTO, A. C.; BUZZERIO, N. F.; MARTINHO, L. Eficácia do nematicida abamectina (Avicta<sup>®</sup> 500 FS) para o controle de *Rotylenchulus reniformis* em algodoeiro *Gossypium hirsutum* através do tratamento de sementes. **VI Congresso Brasileiro do Algodão**, Uberlândia, MG, 2007 (Resumos).

LOVATO, B. V.; TRAFANE, L. G.; ANDRADE, V.; FERREIRA, H. J.; ARAMAKI, P. H.; MARTINHO, L. Avaliação da eficiência do nematicida abamectina

(Avicta<sup>®</sup> 500 FS) para o controle de *Pratylenchus brachyurus* em soja *Glycine max*. **XXI Congresso Brasileiro de Soja e Mercosoja**, Brasília, DF, 2009.

MANKAU, R.; IMBRIANI, J. L. The life cycle of an endoparasite in some tylenchid nematodes. **Nematologica**, v. 21, p. 89-94, 1975a.

MANKAU, R. *Bacillus penetrans* n. comb. causing a virulent disease of plantparasitic nematodes. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 26, p. 333-339, 1975b

MASCARENHAS, H. A. A.; TEIXEIRA, J. P. F.; NAGAI, V.; TANAKA, R. T.; GALLO, P. B.; PEREIRA, J. C. V. N. A; MIRANDA, M. A. C. Rates of liming on the concentration and yield of oil and protein in soybeans. In: **International Meeting on Fats, Oils and Technology**, Campinas, 1991. Proceedings. Campinas: UNICAMP, p. 157-161. 1991.

METCHNIKOFF, M. E. *Pasteuria ramosa*: Un representant des bacteries a division longitudinale. **Annales de l'Institut Pasteur**, v. 2:165– 170, 1888.

MENDES, M. L. **O nematoides do cisto da soja**. In: ARANTES, N. E.; MELO DE SOUZA, P. I. (Eds.). *Cultura da soja nos cerrados*. Picacicaba: POTAFÓS, 1993, p. 399-416.

MINTON, N. A.; SAYRE, R. M. Suppressive influence of *Pasteuria penetrans* in Georgia soils on reproduction of *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, v.21, p.574-575, 1989.

MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. São Paulo: ITAL, 1981.174p.

MONFORT, W. S.; KIRKPATRICK, T. L.; LONG, D. L.; RIDEOUT, R. Efficacy of a novel nematicidal seed treatment against *Meloidogyne incognita* on cotton. **Journal of Nematology**, v.38, n.2, p.245-249, 2006.

MONTEIRO, A. R.; MORAES, S. R. A. C. Ocorrência do nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, v. 16, p. 101, 1992 (Resumos).

MORGAN-JONES, G.; RODRIGUEZ-KABANA, R. Species of *Verticillium* and *Paecilomyces* as parasites of cysts and root-knot nematodes. **Phytopathology**, v.74, n.4, p. 831, 1984.

NIBLACK, T. L.; ARELLI, P. R.; NOEL, G. R.; OPPERMAN, C. H.; ORF, J. H.; SCHMITT, D. P.; SHANNON, J. F.; TYLKA, G. L. A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.34, n 4, p. 179-288, 2002.

NOEL, G. R. History, distribution and economics. In: RIGGS, R. D.; WRATHER, J. A., eds. **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul: The American Phytopathological Society, p. 1-3, 1992.

NOEL, G. R.; STAMGER, B. A. First Report of *Pasteuria* sp. attacking *Heterodera glycines* in North America. **Journal of Nematology**, v. 26(4), p. 612-615, 1994.

OOSTENDORP, M.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J. Effect of crop rotations on the dynamics of *Pasteuria* spp. in microplots. **Journal of Nematology**, v. 21, p.79, 1989.

OOSTENDORP, M.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J. Population development of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, v. 23, p. 58-64, 1991.

PIMENTA, C. A. M.; CARNEIRO, R. M. D. G. Utilização da *Pasteuria penetrans* em controle biológico de *Meloidogyne javanica* em suas culturas sucessivas de alface e tomate. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 116**, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005, 36 p.

RIGGS, R. D. Worldwide distribution of soybean-cyst nematode and its economics importance. **Journal of Nematology**, v. 9, n.1, p.34-39, 1977.

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

RODRÍGUEZ-KÁBANA, R.; WEAVER, C. F.; ROBERTSON, D. G.; SNODDY, E. L. Population dynamics of *Meloidogyne arenaria* juveniles in a field with Florunner peanut. **Nematropica**, v. 16, p. 185-196, 1986.

ROSS, J. P. Crop rotation effects on the soybean yields. **Phytopathology**, v.52, n.8, p.815-818, 1962.

ROSS, J. P.; BRIM, C. A. Resistance of soybeans to the soybean cyst nematode as determined by a double-row method. **Plant Disease Reporter**, v.41, n.11, p.923-924, 1957.

ROSSI, C. E.; MONTEIRO, A. R.; RAMIRO, Z. A. Ocorrência de nematoide de cisto *Heterodera glycines*, Ichinohe, 1952, em cultura da soja no Estado de São Paulo. **Revista de Agricultura**, v.70, n.1, p.37-39, 1995.

SANCHES, J. B. **Histopatologia de raízes de *Mucuna pruriens* (L.) DC infectadas pelo nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines***. 2001. 74f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

SAYRE, R. M.; STARR, M. P. *Pasteuria penetrans* (ex Thorne, 1940) nom. rev., comb. n., sp. n., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, Washington, v. 52, p. 149–165, 1985.

SAYRE, R. M.; M. P. STARR. **Bacterial diseases and antagonisms of nematodes.** In: G. O. Poinar, Jr., and H.-B. Jansson, eds. Diseases of nematodes. Boca Raton, FL: CRC Press, p. 69-101, 1988b.

SAYRE, R. M.; STARR, M. P. Genus *Pasteuria* Metchnikoff 1988a, 166,AL emend. Sayre and Starr 1985, 149, Starr and Sayre 1988a, 27 (Nom. Cons. Opin. 61 Jud. Comm. 1986, 119). Not *Pasteuria* in the sense of Henrici and Johnson (1935), Hirsch (1972), or Staley (1973); see Starr et al. (1983) and Judicial Commission (1986). Pp. 2601–2615 in S. T. Williams, M. E. Sharpe, and J. G. Holt, eds. Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 4. Baltimore, MD: Williams and Wilkins.

SAYRE, R. M.; WERGIN, W. P.; DAVIS, R. E. Occurrence in *Monia rectirostris* (Cladocera: Daphnidae) of a parasite morphologically similar to *Pasteuria ramosa* (Metchnikoff, 1888). **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 23, p. 1575-1579, 1977.

SAYRE, R. M.; WERGIN, W. P.; NISHIZAWA, T.; STARR, M. P. Light and electron microscopical study of a bacterial parasite from the cyst nematode, *Heterodera glycines*. **Journal of the Helminthological Society of Washington**, v. 58, p. 69–81, 1991a.

SAYRE, R. M.; WERGIN, W. P.; SCHMIDT, J. M.; STARR, M. P. *Pasteuria nishizawae* sp. nov., a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic on cyst nematodes of genera *Heterodera* and *Globodera*. **Research in Microbiology**, v. 142, p. 551–564, 1991b.

SCHMITT, D. P.; RIGGS, R. D. Population dynamics and management of *Heterodera glycines*. **Agricultural Zoology Reviews**, v.3, p.253-269, 1989.

SCHNEIDER, S. M.; ROSSKOPF, E. N.; LEESCH, J. G.; CHELLEMI, D. O.; BULL, C. T.; MAZZOLA, M. Research on alternatives to methyl bromide: pre-plant and post-harvest. **Pest Management Science**, v. 59, p. 814–826, 2003.

SERRACIN, M.; SCHUERGER, A. C.; DICKSON, D. W.; WEINGARTNER, D. P. Temperature-dependent development of *Pasteuria penetrans* in *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, v. 29 (in press 0029, 1997).

SHARMA, R. D.; VIVALDI, L. J. Control of *Meloidogyne javanica* by *Pasteuria penetrans*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34(11), p. 2065-2069, 1999.

SILVA, J. A. L. **Identificação de raças fisiológicas de *Heterodera glycines* Ichinohe e a avaliação da resistência de genótipo de soja [*Glycines max* (L.) Merrill].** 1998. 58f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1998.

SINCLAIR, J. B. **Compendium of soybean diseases.** St. Paul. Minnesota: American Phytopathological Society, 104p, 1982.

SINGH, B.; DHAWAN, S. C. Effects of *Pasteuria penetrans* on the penetrations and multiplication of *Heterodera cajani* in *Vigna urguiculata* roots. **Nematologia Mediterranea**, v. 22, n. 2, 159-161, 1994.

SOUZA, J. T. de; SOUZA, R. M. de; CAMPOS, V. P. Ocorrência e flutuação populacional de *Pasteuria* spp. em Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, v. 20(2), p. 41-51, 1996.

STARR, M. P.; SAYRE, R.M. *Pasteuria thornei* sp. nov. and *Pasteuria penetrans* sensu stricto emend., mycelial and endosporeforming bacteria parasitic, respectively, on plant-parasitic nematodes of the genera *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. **Annales de l'Institut Pasteur/ Microbiologie**, v. 139, p. 11–31, 1988.

STIRLING, G. R. Effect of temperature on infection of *Meloidogyne javanica* by *Bacillus penetrans*. **Nematologica**, v. 27, p. 458-462, 1981.

STIRLING, G. R. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. **Phytopathology**, v. 74, p. 55-60, 1984.

STIRLING, G. R. Biological Control of Plant Parasitic Nematode: Progress, Problems and Prospects. **CAB International**, Wallington, UK, 1991, 842p.

STIRLING, G. R.; SHARMA, R. D.; PERRY, J. Attachment of *Pasteuria penetrans* spores to the cuticles of root-knot nematodes *Meloidogyne javanica* in soil and its effects of the infectivity. **Nematologica**, v. 36, p. 246-252, 1990.

STIRLING, G. R.; WEST, L. M. Fungal parasites of root-knot nematode eggs from tropical and sub-tropical regions of Australia. **Australian Plant Pathology**, v.20, p. 149-154, 1991.

STURHAN, D. New host and geographical records of nematodeparasitic bacteria of the *Pasteuria penetrans* group. **Nematologica**, v. 34, p. 350–356, 1988.

STURHAN, D.; WINKELHEIDE R.; SAYRE, R. M.; WERGIN, W. P. Light and electron microscopical studies of the life cycle and developmental stages of a *Pasteuria* isolate parasitizing the pea cyst nematode, *Heterodera goettingiana*. **Fundamental and Applied Nematology**, v. 17, p. 29–42, 1994.

SYNGENTA – Seed Treatment Product Portfolio -  
<http://www.syngentacropprotection.com/prodrender/index.aspx?prodid=1294>  
(acesso em 05/01/2014).

TIHOHOD, D.; SANTOS, J. M. ***Heterodera glycines*: novo nematoide do cisto da soja no Brasil. Detecção e medidas preventivas.** Jaboticabal, CEMIP – Centro de Manejo Integrado de Pragas, 23p., 1993. (Boletim 4).

TIMPER, P. Population dynamics of *Meloidogyne arenaria* and *Pasteuria penetrans* in a long-term crop rotation study. **Journal of Nematology**, v. 41, n. 4, p. 291-299, 2009.

TRIANANTAPHYLLOU, A. C.; HIRSCHMANN, H. Oogenesis and mode of reproduction in the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*. **Nematologica**, v.7, n.1, p.235-241, 1962.

TURNER, S. J.; ROWE, J. A. In PERRY, R. N.; MOENS, M. (Eds.) **Plant Nematology**. UK: Bibbles Ltd, King's Lynn (CABI Publicashing), 447p, 2006, p.91-122.

UNFRIED, J. R. **Estratégias para seleção de linhagens experimentais de soja para tolerância à ferrugem e associações com outras doenças**. 2007. 220p. Tese (Doutorado em Genética e Melhormanto de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

VAGELAS, I. K.; DENNETT, M. D.; PEMBROKE, B.; SIMON, R. Adhering *Pasteuria penetrans* endospores affect movements of rootknot nematode juveniles. **Phytopathologia Mediterranea**, v.51, n.3, p.618–624, 2012.

VITTI, A. J. **Tratamento de sementes de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) com abamectina, tiabendazol e acibenzolar-s-metil no manejo de nematoides**. 2009. 92f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2009.

WHATHER, J. A.; ANAND, S. C. Relationship between time of infection with *Heterodea glycines* and soybean yield. **Journal of Nematology**, v.20, n.3, p.439-442, 1988.

WRATHER, J. A.; ANAND, S. C.; DROPKIN, V. H. Soybean cyst nematode control. **Plant Disease**, v.68, n.9, p.829-833, 1984.

WRATHER, J. A.; KOENNING, S. R. Estimates of Disease Effects on Soybean Yields in the United States 2003 to 2005. **Journal of Nematology**, v. 38(2), p. 173-180, 2006.

YORINORI, J. T. Principais doenças da cultura da soja e suas estratégias de controle. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.276-277, 1995.

YOUNG, L. D. Epiphytology and life cycle. In RIGGS, R. D.; WHATHER, J. A. (Eds.) **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul: APS Press, 1992, p.27-36.