

DESENVOLVIMENTO DE UMA CÂMARA DE CONDICIONAMENTO TÉRMICO PARA MULTIPLICAÇÃO DO NEMATÓIDE DE CISTOS DA SOJA (*Heterodera glycines*, Ichinohe) NO INVERNO¹

José Algaci Lopes da Silva²
Tuneo Sedyama³
Waldir Pereira Dias⁴
Silamar Ferraz⁴

1. INTRODUÇÃO

O Nematóide de cistos da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe, 1952) (NCS) é o patógeno mais importante desta cultura nos Estados Unidos e na Ásia Oriental (3, 16), sendo, em 1983, constatado na Colômbia (5). No Brasil, foi relatado na safra 1991/92, quase que simultaneamente, em três estados: Minas Gerais, região do Triângulo Mineiro (8); Mato Grosso do Sul, no município de Chapadão do Sul (10); e Mato Grosso, na Chapada dos Guimarães (9). Posteriormente foi encontrado em Goiás (1), São Paulo (14) e R. Grande do Sul (4). Segundo NOEL *et alii* (12), já foram constatadas no Brasil as raças 2, 3 e 5 no Mato Grosso; raças 3 e 4 em Goiás; raça 3 em Minas Gerais; e as raças 3, 4, 10 e 14 no Mato Grosso do Sul.

H. glycines, responsável pela doença conhecida como “soybean yellow dwarf” (7) ou nanismo amarelo da soja, pode ter seu diagnóstico

¹ Parte da tese de mestrado do primeiro autor, aceita para publicação em 19.02.1994.

² Estudante do curso de Pós-Graduação em Fitotecnia (Mestrado) do Departamento de Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

³ Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa.

⁴ Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa.

bastante seguro, observando-se com lupa de bolso de 10 vezes de aumento, três a seis semanas após a semeadura da soja, fêmeas com formato de limão, brancas ou amareladas, aderidas às raízes. Posteriormente, essas fêmeas tornam-se amarronzadas e morrem, transformando-se em cistos, que se desprendem e caem ao solo. A partir desse estágio, somente pode ser detectado em laboratório.

H. glycines tem quatro estádios juvenis e um adulto. O ciclo do patógeno se inicia com os ovos dentro dos cistos maduros. A primeira ecdise ocorre dentro do ovo, originando o juvenil de segundo estágio, denominado *infectante*. Após a eclosão, os juvenis infectantes migram para o solo e penetram nas raízes da soja. No interior destas, se fixam na região dos vasos, onde passam a se alimentar. Sofrem mais três ecdises e atingem a fase adulta, resultando em machos e fêmeas. O macho tem formato cilíndrico-vermiforme não se alimenta e morre após copular com a fêmea. A fêmea rompe o córtex da raiz, permanecendo aderida às raízes da soja apenas pela região anterior. Em seguida, é fecundada e inicia a postura. Cada fêmea pode produzir de 200 a 600 ovos (11, 15, 16, 17). Parte dos ovos é colocada externamente, em uma matriz gelatinosa, mas a grande maioria é retida no interior do corpo da fêmea, que ao morrer tem o seu corpo transformado no cisto.

Sob temperaturas médias do solo de 21 a 23°C, o patógeno completa seu ciclo em 21 a 24 dias. Submetido a 18°C, são necessários cerca de 40 dias. Sob temperaturas extremas, acima de 34°C e abaixo de 10°C, o nematóide não se desenvolve. A eclosão das larvas é limitada por temperaturas inferiores a 15°C (11, 15, 18).

Em virtude da limitação da eclosão, reprodução e do desenvolvimento do nematóide pelas baixas temperaturas de inverno, em Viçosa (MG), resolveu-se desenvolver um sistema de aquecimento que, a baixo custo e com facilidade operacional, mantivesse a temperatura dentro de uma faixa adequada para o patógeno. A tecnologia gerada resolveria os problemas de multiplicação e infecção do nematóide, possibilitando a condução de experimentos com o NCS durante os meses de inverno. A câmara desenvolvida recebeu o nome fantasia de *Câmara JALS-TS*, que doravante será citada com essa denominação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi instalado em casa de vegetação, em agosto e setembro de 1994, adotando-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. As variedades inoculadas foram: FT-Cristalina, Doko Comercial, Doko RC e Rally, todas sabidamente suscetíveis à *H. glycines*, raça 3.

O experimento foi levado a efeito em dois ambientes: dentro da Câmara JALS~TS, com temperatura controlada, e outro, semelhante ao anterior, conduzido fora da câmara, à temperatura ambiente.

Para avaliar as temperaturas, foram instalados termômetros de máximas e mínimas e de solo. A leitura das temperaturas máximas e mínimas era tomada às 17 e a do solo às 7 horas.

Utilizaram-se vasos de cerâmica com capacidade para 500 ml, contendo 300 ml de uma mistura de solo e areia (1:1), previamente tratada com brometo de metila. As unidades experimentais constituíram-se de uma planta por vaso. Uma adubação mínima foi realizada no preparo da mistura, numa razão de 100 kg/ha de P_2O_5 e 60 kg/ha de K_2O , simulando uma adubação de campo.

Vinte sementes de cada variedade, previamente tratadas com o fungicida Thiram (dissulfeto de tetrametil -Tiuram), foram semeadas em areia estéril. Três dias após a emergência, transplantou-se uma muda em cada vaso. Concomitantemente, aproveitando-se a própria cavidade para inserção da muda, adicionaram-se 4,0 ml de uma suspensão com cerca de 4.000 ovos de fêmeas (brancas ou amarelas).

Paralelamente, encheram-se 20 vasos com um solo naturalmente infestado com a mesma população de *H. glycines*, nos quais foi colocada uma plântula do cultivar FT-Cristalina. Metade desses vasos foi deixada no interior da câmara e a outra metade, fora.

Utilizaram-se quatro repetições por variedade quando a inoculação foi com ovos extraídos de fêmeas e 10 repetições com solo naturalmente infestado.

Após a inoculação, as plantas foram deixadas crescer por 30 dias, quando foram avaliadas.

Na avaliação, as raízes de cada planta foram colocadas em uma peneira de 20 mesh, acoplada sobre uma de 100 mesh, e lavadas com jato forte de água. As fêmeas, retidas na peneira de 100 mesh, foram recolhidas com um jato de água em um becker de 150 ml. Posteriormente foram quantificadas, sob microscópio estereoscópico.

A Câmara JALS~TS, conforme consta na Figura 1, tem 3,7 m³ de espaço interno e comporta aproximadamente 150 vasos de 500 ml.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado obtido no teste de eficiência da câmara de controle térmico para proporcionar condições adequadas para o desenvolvimento do NCS, durante o inverno, quando o inóculo foi ovos extraídos de fêmeas, está no Quadro 1. Foram comparados os números de fêmeas por

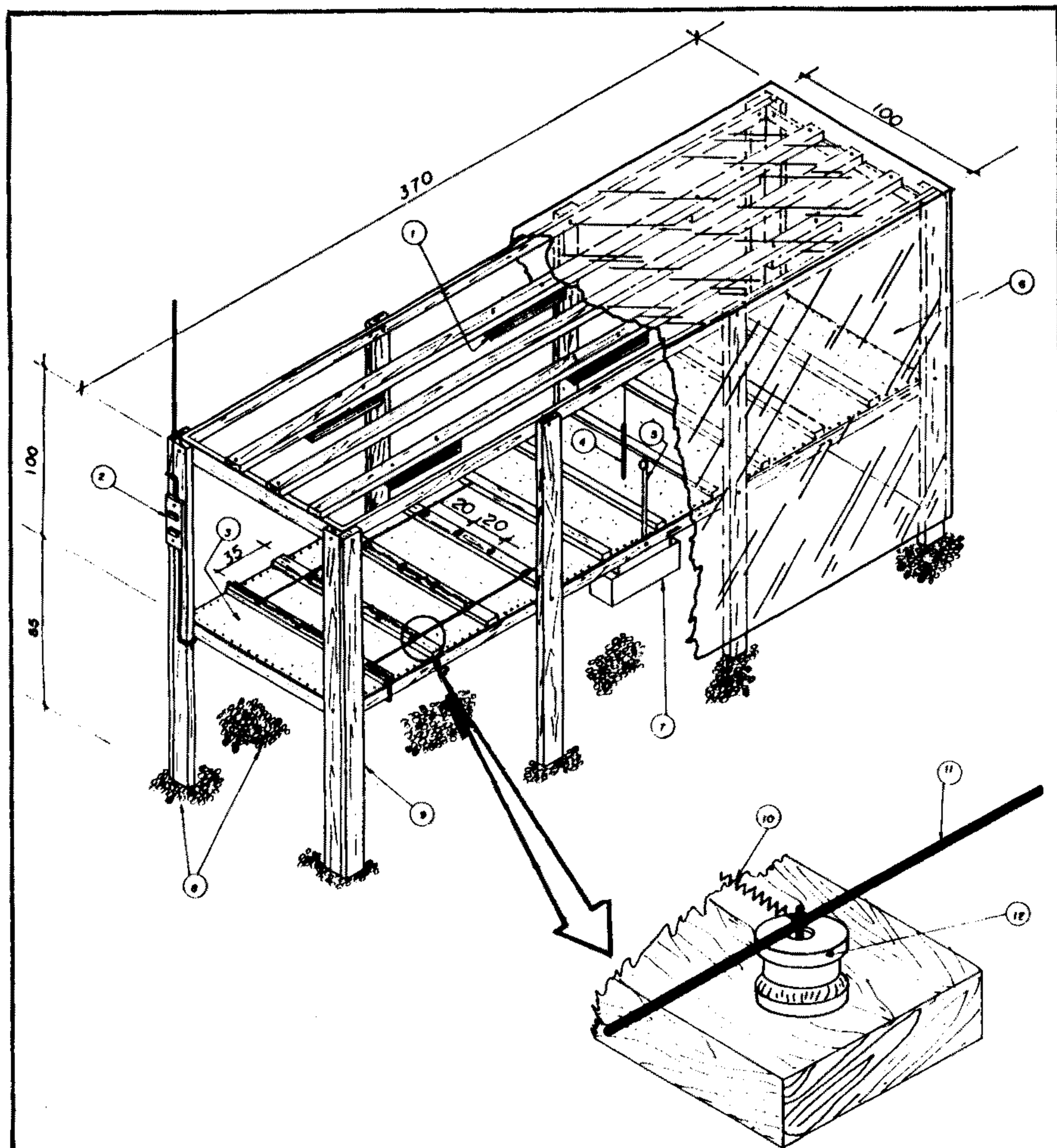


FIGURA 1 - Desenho esquemático da câmara JALS-TS de condicionamento térmico para multiplicação do nematóide de cistos (*H. glycines*).

LEGENDA:

- | | |
|---|--|
| 1 - lâmpada fluorescente
20 Watts (6 uds.); | 8 - detalhe do solo com
cobertura de brita ou afins; |
| 2 - caixa de interruptores (1 ud.); | 9 - suporte de madeira, ferro,
metalôn ou afins disponíveis; |
| 3 - folhas de zinco (3,7 m ²); | 10 - fio níquel-cromo ou equivalente
(resistência) nº 23 (150 m); |
| 4 - termômetro de máxima e
mínima (1 ud.); | 11 - fio para alimentação do sistema
(2,5 mm(50 m); 4 mm(20 m); e |
| 5 - sensor do termostato eletrônico; | 12 - roldanas de porcelana (55 uds.). |
| 6 - lona plástica transparente (25m ²); | |
| 7 - termostato eletrônico (1 ud.); | |

sistema radicular, dentro e fora da câmara. Quando o inóculo foi o de solo naturalmente infestado, o número de fêmeas por sistema radicular, nas plantas de dentro da câmara, foi de 679, em média.

QUADRO 1 - Número médio de fêmeas de *H. glycines*, raça 3, por sistema radicular, aos 30 dias após a inoculação com 4.000 ovos, em quatro cultivares de soja, mantidos dentro e fora da câmara JALS~TS

Variedades	Dentro	Fora
FT-Cristalina	45,5	0,0
Rally	97,5	0,0
Doko Comercial	102,5	0,0
Doko RC	152,5	0,0
C. V. 62,57%		

Não houve diferença significativa entre os tratamentos envolvidos. O elevado percentual do coeficiente de variação deve-se a uma grande amplitude entre os valores observados dentro das repetições. Grandes valores de coeficiente de variação são comuns em trabalhos desta natureza, sendo atribuídos à aleatoriedade da infecção pelo nematóide, embora todas as plantas tenham recebido o mesmo número de ovos na inoculação.

As médias das temperaturas mínimas e máximas, registradas diariamente em termômetro de máxima e mínima, foram respectivamente de 20,3 e 33,9°C dentro da câmara. Fora da câmara ficaram em 13,5 e 29,5°C, respectivamente. Analisando esses dados, verifica-se que fora da câmara não houve produção de fêmeas em nenhum dos cultivares, para os dois tipos de inóculos. Dentro da câmara, o nematóide se multiplicou em todos os cultivares para ambos os inóculos. A ausência de multiplicação do nematóide fora da câmara provavelmente foi limitada pelas baixas temperaturas, pois, segundo RIGGS e SCHMITT (13), a temperatura ótima para o desenvolvimento do parasita está entre 18 e 34°C.

A ausência de fêmeas nas plantas crescendo em ambiente sem controle térmico, à baixa temperatura, provavelmente deveu-se à paralisação do desenvolvimento do nematóide ainda na fase de ovo ou no impedimento da eclosão dos juvenis, deixando as raízes isentas de suas ações, confirmando as conclusões de ALSTON e SCHMITT (2) e HILL e SCHMITT (6).

4. RESUMO E CONCLUSÕES

Durante o inverno de 1994 foi realizado, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa (MG), um experimento envolvendo o nematóide de cistos (*H. glycines*) e a cultura da soja. Naquele período, estudou-se o comportamento do patógeno sob condições de inverno e testou-se uma câmara de controle térmico, com o objetivo de propiciar condições satisfatórias de temperatura para multiplicação do nematóide. Foram testadas duas fontes de inóculo: ovos extraídos de fêmeas e solo naturalmente infestado. Os tratamentos constituíram-se de dois ambientes: dentro e fora da câmara, ou seja, com e sem controle de temperatura. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições para o inóculo constituído de ovos extraídos de fêmeas e 10 repetições para solo naturalmente infestado. Foram utilizados vasos com capacidade para 500 ml, contendo 300 ml de uma mistura 1:1 (solo:areia), tratada com brometo de metila, com exceção do solo naturalmente infestado, que era a própria fonte de inóculo. Quando o inóculo era constituído de ovos extraídos de fêmeas, as plantas, uma por vaso, foram inoculadas simultaneamente ao transplântio, aproveitando-se a cavidade para plantio das mudas. Cada planta foi inoculada com aproximadamente 4.000 ovos. Os vasos com solo naturalmente infestado continham, em média, 225 cistos. A avaliação consistiu na contagem do número de fêmeas por sistema radicular e foi realizada um mês após o transplântio. Os resultados do experimento permitiram concluir que, em Viçosa, as baixas temperaturas de inverno são limitantes para a reprodução e o desenvolvimento do nematóide de cistos da soja (*H. glycines*), prejudicando a eclosão e, ou, a penetração dos juvenis, e que a câmara JALS-TS foi eficiente em promover condições térmicas adequadas ao desenvolvimento do patógeno, permitindo sua multiplicação durante o inverno.

5. SUMMARY

(DEVELOPMENT OF A THERMAL CHAMBER TO PROMOTE
REPRODUCTION OF THE SOYBEAN CYST NEMATODE
(*Heterodera glycines* Ichinohe) DURING WINTER)

An experiment aiming at the multiplication of the soybean cyst nematode was carried out at the Federal University of Viçosa - MG, during the winter of 1994. The potential of a thermal control chamber to provide a favourable temperature condition for the cyst nematode was evaluated. Two types of inoculum were tested: 1 - eggs taken from

females and 2 - naturally infested soil. The treatments took place in two types of environment: inside and outside the chamber, i.e., with and without temperature control. A completely randomized block design was used with four replications to test inoculum 1 and with ten replications to test inoculum 2; 500 ml pots were used containing 300 ml a soil:sand mixture (1:1), treated with methyl bromide, except the naturally infested soil, which was the inoculum source. Each plant was inoculated with 4,000 eggs. The pots containing the naturally infested soil presented an average of 225 cysts. The number of females per root system was determined a month later.

The results of the experiment allowed the following conclusions:

1 - Low winter temperatures were limiting to the multiplication of the soybean cyst nematode.

2 - The chamber JALS-TS was efficient to promote adequate thermal conditions for the multiplication of the pathogen during the winter.

6. LITERATURA CITADA

1. ANJOS, J.R.N. & CHARMA, R.D. Ocorrência do nematóide de cistos da soja, *Heterodera glycines*, no Estado de Goiás. *Fitopatologia Brasileira* 17 (2): 183, 1992.
2. ALSTON, D.G. & SCHMITT, D.P. Development of *Heterodera glycines* life stages as influenced by temperature. *Journal of Nematology* 20 (3): 366-372, 1988.
3. BALDWIN, J.G. & MUNDO-OCAMPO, M. Heteroderinae, cyst and noncyst-forming nematodes. In: NICKLE, W.R. (ed.). *Manual of agricultural nematology*. New York, Marcel Dekker, 1991. p. 275-362.
4. CARNEIRO, R.M.D.G. & ALMEIDA, M.R.A. Detecção de *Heterodera glycines* em soja no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, Rio Quente, 1995. *Resumos...* Rio Quente, SBN/ONTA, 1995. p. 73.
5. GOMEZ-TOVAR, J. & MEDINA, C. *Heterodera glycines* en soya y frijol en el Valle del Cauca, Colômbia. *Nematológica*, 13(2): 229-237, 1983.
6. HILL, N.S. & SCHMITT, D.P. Influence of temperature and soybean phenology on dormancy induction of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 21 (3): 361-369, 1989.
7. ITO, S. Studies on "yellow dwarf" disease of soybean. Hokkaido Agr. Expt. Sta. Rpt. 11(7): 47-59, 1921. In: SINCLAIR, J.B. & DHINGRA, O.D. (ed). *An Annotated Bibliography of Soybean Diseases, 1882 - 1974*. p. 111. (Abst. 975), 1975.
8. LIMA, R.D.; FERRAZ, S. & SANTOS, J.M. Ocorrência de *Heterodera* sp., em soja no Triângulo Mineiro. *Nematologia Brasileira*, 16 (1/2): 101-102, 1992.
9. LORDELLO, A.I.L.; LORDELLO, R.A. & QUAGGIO, J.A. Ocorrência do nematóide de cistos da soja (*Heterodera glycines*) no Brasil. *Rev. de Agricultura*, 67 (3): 223-225, 1992.
10. MONTEIRO, A.R. & MORAIS, S.R.A.C. Ocorrência do nematóide de cistos da soja, *Heterodera glycines* Ichnohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do

- Sul. *Nematologia Brasileira*, 16 (1/2): 101, 1992.
11. MOORE, W.F.; BOST, S.C.; BREWER, F.L.; DUNN, R.A.; ENDO, B.Y.; GRAU, C.R.; HARDMAN, L.L.; JACOBSEN, B.J.; LEFFEL, R.; NEWMAN, M.A.; NYVALL, R.F.; OVERSTREET, C. & PARKS, C.L. *Soybean cyst nematode*. Washington, DC., Soybean Industry Resource Committee, 1984. 23 p.
 12. NOEL, G. R.; MENDES, M. L. & MACHADO, C. C. Distribution of *Heterodera glycines* in Brazil. *Nematropica*, 24 (1): 63-68, 1994.
 13. RIGGS, R.D. & SCHMITT, D.P. Complete characterization of the races scheme for *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 20(3): 392-395, 1988.
 14. ROSSI, C.E.; MONTEIRO, A.R. & RAMIRO, Z.A. Ocorrência de nematóide de cistos *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, em cultura de soja no Estado de São Paulo. *Revista de Agricultura*, 70(1): 37-39, 1995.
 15. SCHMITT, D.P. & RIGGS, R.D. Population dynamics and management of *Heterodera glycines*. *Agricultural Zoology Reviews*, 3(3): 253-269, 1989.
 16. SCHMITT, D.P. & NOEL, G.R. Nematodes parasites of soybeans. In: NICKLE, W.R. (ed). *Plant and Insect Nematode*. New York, Marcel Dekker, 1984. p. 14-43.
 17. TIHOHOD, D. & SANTOS, J. M. dos. *Heterodera glycines*: Novo nematóide da soja no Brasil. *Detecção e medidas preventivas*. Jaboticabal, CEMIP-Centro de Manejo Integrado de Pragas, 1993. 23 p. (Boletim 4).
 18. YOUNG, L. D. Epiphythology and life cycle. In: RIGGS, R. D. & WRATHER, J. A. (eds). *Biology and management of the soybean cyst nematode*. Minnessota, Aps Press, 1992. p.27-35.