

INFLUÊNCIA DO TIPO E CAPACIDADE DE VASOS NA MULTIPLICAÇÃO DE *Heterodera glycines* Ichinohe¹

Césio Humberto de Brito²
Tuneo Sedyama²
Waldir Pereira Dias³
Silamar Ferraz²
José Mauro Valente Paes¹
Rita de Cassia Teixeira¹

1. INTRODUÇÃO

O nanismo amarelo da soja, causado por *Heterodera glycines* Ichinohe, que também é conhecido por nematóide de cisto da soja (NCS), foi descrito pela primeira vez em 1915, e detectado nos Estados Unidos em 1954. No Brasil foi verificado na safra 1991/1992 (5, 6, 7).

Atualmente, existem relatos desse nematóide em cerca de 64 municípios brasileiros, distribuídos nos Estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul e Paraná, atingindo uma área de 1,7 milhão de hectares e causando um prejuízo que ultrapassa 150 milhões de dólares (13).

Várias instituições pesquisam o NCS buscando seu melhor conhecimento e o desenvolvimento de variedades resistentes, bem como a incrementação de novas tecnologias, para minimizar os prejuízos causados

¹ Apoio: CNPq/FAPEMIG. Aceito para publicação em 17.07.98

² Departamento de Fitotecnia - UFV, 36571-000, Viçosa, MG. Brasil.

³ Departamento de Fitopatologia - UFV, 36571-000, Viçosa, MG. Brasil.

pelo patógeno. Entretanto, vários problemas têm surgido, sendo um deles a dificuldade de multiplicá-lo em condições de casa de vegetação. Possivelmente, um dos fatores limitantes seja o emprego de vasos inadequados para este tipo de experimentação (9).

Este trabalho constitui-se de dois experimentos, objetivando comparar a multiplicação de *Heterodera glycines* entre os diferentes tipos, capacidades e cores de vasos, comumente empregados em programas de melhoramento de soja, e selecionar os que melhor se ajustem a essa finalidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos em casa de vegetação, na Universidade Federal de Viçosa, situada a 20°45' Ls, 42°51' W e a uma altitude de 651 m. O primeiro foi realizado nos meses de março e abril de 1995, em que dois tipos de vasos (cerâmica e plástico preto), duas capacidades (0,8 e 2,5 kg de solo) e dois tratamentos adicionais (vasos plásticos marrom e branco, com capacidade de 2,5 kg) constituíram os seis tratamentos (esquema fatorial 2 x 2 + 2), que foram dispostos no delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições, em que cada tratamento foi constituído por um vaso. Durante a condução, a irrigação foi feita diariamente, com o objetivo de manter o solo úmido, evitando, assim, O segundo foi conduzido nos meses de março a abril de 1996, em que dois tipos de vasos (cerâmica e plástico) e quatro capacidades (0,4; 0,8; 1,2; e 2,2 kg de solo) formaram os oito tratamentos (fatorial 2 x 4), que foram dispostos no delineamento em blocos casualizados, com cinco repetições, em que cada uma foi constituída por dois vasos. A umidade do solo foi mantida em torno de 90% da capacidade de campo, pois, segundo YOUNG (14), os nematóides, inclusive *Heterodera glycines*, são favorecidos quando o potencial hídrico do solo está próximo à capacidade de campo. Para tanto, durante a condução do experimento todos os vasos eram pesados duas vezes ao dia e se, necessário, irrigados.

O inóculo usado nesses experimentos foi obtido de plantas 'FT-Cristalina', cultivadas por 35-50 dias, em vasos contendo solo infestado com uma população de *Heterodera glycines* (raça 3) proveniente de Nova Ponte, MG.

Para a obtenção dos ovos, as plantas de soja foram cuidadosamente retiradas dos vasos e as raízes separadas e colocadas sobre uma peneira de 0,85 mm (20 mesh), acoplada sobre outra de 0,15 mm (100 mesh), e lavadas sob jato de água forte. As fêmeas retidas na peneira de 100 mesh foram transferidas para um almofariz, onde foram esmagadas para a liberação dos ovos. Posteriormente, o material esmagado foi passado em uma peneira de 100 mesh que estava acoplada a outra de 0,026 mm (500

mesh), na qual os ovos ficaram retidos, tendo sido recolhidos por meio de solução de sacarose (454 g/l de água) e a suspensão centrifugada a 2.400 rpm, durante um minuto. O sobrenadante foi retido em peneira de 500 mesh e lavado para retirar o excesso de sacarose, sendo os ovos recolhidos em suspensão aquosa em béquer de 50 ml. A concentração foi determinada com o auxílio de uma câmara de Peters e ajustada para 800 ovos/ml.

Para os dois ensaios, sementes de soja 'FT-Cristalina' foram semeadas em leito de areia em sulcos de aproximadamente 2,5 cm de profundidade, e logo após a emergência transplantou-se uma plântula para o centro de cada vaso que continha uma mistura de solo + areia na proporção de 1:1, que apresentava as seguintes características químicas: pH=6,0; P=15,2 mg/dm³; K=0,18 cmolc/dm³; Ca=4,2 cmolc/dm³; Mg=0,8 cmolc/dm³; ausência de Al; texturais: areia=64%; silte=25%; e argila=11%.

A inoculação foi realizada, utilizando-se dois furos com diâmetro aproximado de um lápis, em posições diametralmente opostas ao colo da planta. Em cada um dos furos foram depositados cerca de 2,5 ml da suspensão.

Foram instalados, também, dentro da casa de vegetação, um termômetro de máxima e de mínima e um termômetro de solo em uma parcela de cada tratamento. As temperaturas máximas e mínimas foram anotadas às 17h, e os valores médios foram de 35,6 e 19,1°C, no experimento 1; e de 36,4 e 18,9°C, no experimento 2. A temperatura do solo foi mensurada em torno das 13h, que geralmente coincide com o período mais quente do dia.

Aos 28 dias após a inoculação, as plantas foram cuidadosamente retiradas dos vasos e seus sistemas radiculares lavados separadamente, sob jato forte de água, em peneira de 20 mesh, acoplada sobre uma outra de 100 mesh. As fêmeas retidas na peneira de 100 mesh foram recolhidas em suspensão aquosa em copos de 150 ml. Em seguida, foram contadas sob microscópio estereoscópico, com auxílio de uma placa de contagem quadriculada. No segundo experimento avaliaram-se ainda altura de plantas (ALT), peso de matéria fresca da parte aérea (PMFPA) e de raízes (PMFR) e peso de matéria seca da parte aérea (PMSPA) e de raízes (PMSR).

Efetuuou-se a análise de variância de todas as características avaliadas, inclusive a temperatura do solo nos vasos (T°C), e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

No segundo experimento, apesar de alguns efeitos serem quantitativos, optou-se também pela comparação das médias pelo teste de Tukey, porquanto o interesse maior era estudar o comportamento de cada

capacidade e não de explorar a amplitude entre os valores de capacidade dos vasos pré-estabelecidos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do primeiro e segundo experimentos estão apresentados, respectivamente, nos Quadros 1 e 2. Verificou-se em ambos que, nos tratamentos em que foram utilizados os vasos de cerâmica, as plantas de soja apresentaram infectadas por maior número de fêmeas (NF) do NCS e observou-se também, para esse tipo de vaso, menor temperatura média do solo ($T^{\circ}\text{C}$). A maior multiplicação do NCS nesse tipo de vaso pode ser explicada em razão dos nematóides serem organismos poiquilotérmicos, os quais são bastante afetados pela temperatura do ambiente e, conforme NOEL (8), a temperatura do solo é um dos fatores físicos que mais afeta o NCS. A temperatura ótima para a embriogênese e a eclosão dos ovos com baixa mortalidade é de 24°C (2) ou 27°C , segundo ALI (1). O desenvolvimento desse nematóide é favorecido pelo aumento da temperatura, porém, quando excede a 28°C , degenerações nas larvas tomam-se mais freqüentes (2). Pelos trabalhos desenvolvidos por ROSS (10) e HAMBLÉN e SLACK (4) verifica-se que os juvenis não desenvolvem além do 3º estágio em raízes de plantas de soja mantidas a 35°C durante o período de 10 dias e que fêmeas adultas desenvolveram pouco quando expostas a 35°C por três dias consecutivos.

Mas, por outro lado, ao observar o Quadro 1 constata-se que nos tratamentos em que se utilizaram vasos de plástico, apesar de as temperaturas do solo não estarem muito elevadas, pouquíssimas fêmeas foram detectadas no sistema radicular dessas plantas. Pode-se inferir que, além da temperatura, a umidade do solo seja um fator muito importante, pois neste experimento essa não foi controlada, enquanto no segundo experimento (Quadro 2) houve um controle da umidade do solo na faixa de 90% da capacidade de campo e, apesar das altas temperaturas do solo, grande quantidade de fêmeas foi recuperada das raízes da soja no momento da avaliação. Esses resultados equivalem aos de SINCLAIR e SHURTLEFF (11), que afirmaram que a multiplicação e a sobrevivência de *Heterodera glycines* estão relacionados com a temperatura e umidade do solo. Além disso, pelos resultados obtidos verifica-se que, na impossibilidade de se conseguir vasos de cerâmica para esse tipo de experimentação, os pesquisadores podem optar pelo uso de vasos de plástico, desde que monitore e controle a umidade do solo.

Deve-se ressaltar ainda que na maioria dos experimentos conduzidos pelos programas de melhoramento de soja, em condições de casa de vegetação, predomina o uso de vasos de plástico (marron, branco e preto)

com capacidade para 2,5 kg de solo, e usualmente não se tem um controle efetivo da umidade do solo. Pelos resultados apresentados no experimento 1, fica claro que esta metodologia não deve ser empregada em experimentos com *Heterodera glycines*.

QUADRO 1- Médias do número de fêmeas de *Heterodera glycines* (NF), 28 dias após a inoculação com 4.000 ovos, e da temperatura do solo (T°C) às 13h 30min. Experimento I¹

Tratamentos	Capacidade (kg)	NF	T °C
Cerâmica	0,8	100,33 A a	25,93
Cerâmica	2,5	54,17 B a	28,75
Plástico preto	0,8	3,67 A b	29,82
Plástico preto	2,5	1,50 A b	31,64
*	0,8	52,00	27,88 B
*	2,5	27,84	30,20 A
Cerâmica	**	77,25	27,34 b
Plástico	**	2,60	30,73 a
Plástico marrom (adicional 1)	2,5	2,17	31,93
Plástico branco (adicional 2)	2,5	3,50	30,89
CV (%)		70,9	6,6

¹ Letras minúsculas comparam material em cada capacidade e efeito geral de material; letras maiúsculas comparam capacidade em cada material e efeito geral de capacidade, pelo teste de F, a 5% de probabilidade.

* Efeito geral de capacidade.

** Efeito geral de material.

No segundo experimento não foram detectadas diferenças significativas entre capacidades dos vasos (Quadro 2). Maior número de fêmeas foi encontrado nos tratamentos em que se utilizaram vasos de cerâmica, e nestes foram verificados valores estatisticamente menores das características fenológicas das plantas (ALT, PMFPA, PMFR, PSPA e PSR). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por SPEARS *et alii* (12) e BALDWIN e MUNDO-O-CAMPO (3), os quais relatam que plantas atacadas por esse nematóide apresentam raízes pequenas e necróticas e uma redução no crescimento das plantas.

QUADRO 2 - Médias do número de fêmeas (NF) de *Heterodera glycines*, altura de plantas de soja em cm (ALT), peso de matéria fresca (PMFPA) e seca da parte aérea em g (PMSPA), peso de matéria fresca (PMFR) e seca de raízes em g (PMSR), 28 dias após a inoculação com 4.000 ovos, e temperatura do solo em dois tipos de vasos, às 13h (T°C)¹

Tratamentos	Capacidade (kg)	NF	ALT	PMFPA	PMFR	PMSPA	PMSR	T°C
Cerâmica	0,4	356,00	10,40	1,94	2,88 C	b	0,56	28,00 B
	0,8	328,00	11,05	2,87	3,84 AB	b	0,76	30,21 A
	1,2	285,60	12,15	4,08	4,74 A	b	1,01	31,01 A
	2,2	375,00	12,50	4,13	4,99 A	b	1,06	31,60 A
Plástico	0,4	102,20	14,30	4,16	5,77 B	a	1,06	35,60 A
	0,8	124,20	15,35	5,71	8,09 A	a	1,42	37,20 A
	1,2	140,00	16,15	5,46	6,09 B	a	1,24	35,50 A
	2,2	166,80	17,20	6,31	6,96 AB	a	1,40	35,30 A
*	0,4	229,10	12,35 C	3,05 C	4,32		0,81	31,80
*	0,8	226,10	13,20 BC	4,29 B	5,96		1,09	33,68
*	1,2	212,80	14,15 AB	4,77 AB	5,41		1,13	33,35
*	2,2	270,90	14,85 A	5,22 A	5,97		1,23	33,08
Cerâmica	**	336,15 a	11,52 b	3,26 b	4,11		0,85 a	30,01 b
Plástico	**	133,30 b	15,75 a	5,41 a	6,72		1,28 b	35,94 a
C.V. (%)		30,6	7,6	17,2	16,1		18,0	8,4

¹ Letras minúsculas comparam material em cada capacidade e efeito geral de material; letras maiúsculas comparam capacidade em cada material e efeito geral de capacidade pelo teste de F (duas médias) e pelo de Tukey, a 5% de probabilidade.

* Efeito geral de capacidade.

** Efeito geral de material.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

No Brasil, as técnicas de multiplicação do nematóide de cistos (*Heterodera glycines*, Ichinohe), em condições de casa de vegetação, ainda não estão bem esclarecidas. Possivelmente um dos fatores a ajustar seja o tipo e a capacidade dos vasos. Este trabalho, constituído de dois experimentos, objetivou comparar a multiplicação desse nematóide em vasos de cerâmica e de plástico, com diferentes capacidades. Logo após a emergência, uma plântula de soja, 'FT-Cristalina', foi transplantada para o centro de cada vaso e, simultaneamente, cerca de 4.000 ovos do patógeno foram depositados em dois furos com diâmetro aproximado de um lápis, em posições diametralmente opostas ao colo da planta. Em um dos vasos de cada tipo e capacidade introduziu-se um termômetro de solo, que foi monitorado diariamente às 13h, anotando-se a temperatura durante todo o período do experimento. Em um dos experimentos, manteve-se a umidade do solo em torno de 90% da capacidade de campo e no outro não houve um controle efetivo dessa umidade. Aos 28 dias após a inoculação, determinou-se o número de fêmeas por sistema radicular e, independentemente do controle de umidade do solo, encontrou-se maior número de fêmeas e menor temperatura do solo nos tratamentos em que foram utilizados vasos de cerâmica. No experimento em que se estudou a influência da capacidade dos vasos no número de fêmeas, verificou-se, dentro do mesmo tipo de material, não haver diferença entre as mesmas. Conclui-se que, em condições de casa de vegetação, os experimentos com *Heterodera glycines* devem ser conduzidos em vasos de cerâmica independentemente de sua capacidade, mas na impossibilidade de conseguir este tipo de vaso o pesquisador poderá optar pelo uso de vaso de plástico, desde que monitore e controle a umidade do solo.

5. SUMMARY

(INFLUENCE OF POT TYPE AND SIZE ON THE REPRODUCTION OF *Heterodera glycines* Ichinohe UNDER GREENHOUSE CONDITIONS)

The methodology for the cultivation of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, Ichinohe, under greenhouse conditions in Brazil has not been well established yet. Pot type and size are two factors that need to be adjusted. This work aimed to compare this nematode's reproduction in clay pots versus in plastic pots, both of different sizes. One plantlet of soybean cv. 'FT-Cristalina' was transplanted just after emergence to the soil of each pot and 4000 eggs of *Heterodera glycines* were added per pot

around the plantlet. One thermometer was introduced into soil of one pot in each treatment and temperature was recorded on a daily basis, at 1:00 PM, until the end of the experiments. Soil moisture was kept at 90% field capacity in one experiment but not in the other. Regardless of moisture control, a greater number of female and lower temperatures were observed in the clay pot treatment. No difference in number of females was observed when pots of different sizes of the same type were compared. In conclusion, greenhouse bioassays with *H. glycines* in soybean should be carried out using clay pots rather than plastic pots, regardless of size. Overwatering must be avoided. Extra care must be taken to avoid overwatering if plastic pots are used.

6. LITERATURA CITADA

1. ALI, A. H.H. Influence of physical factors affecting emergence of juveniles from cysts of soybean cyst nematode. *Heterodera glycines*. Egyptian Journal of Phytopathology, 20:159-164, 1988.
2. ALSTON, D. G. & SCHMITT, D. P. Development of *Heterodera glycines* life stages as influenced by temperature. *Journal of Nematology*, 20:366-372, 1988.
3. BALDWIN, J. G. & MUNDO-O-CAMPO, M. Heteroderinae, cyst and noncyst forming nematodes. In: NICKLE, W. R. (ed.). *Manual of Agricultural Nematology*. New York, Marcel Dekker, 1991. P. 275-369.
4. HAMBLIN, M. L. & SLACK, D. A. Factors influencing the emergence of larval from cysts of *Heterodera glycines* Ichinohe, cyst development condition, and variability. *Phytopathology*, 49:317, 1959.
5. LIMA, R. D.; FERRAZ, S & SANTOS, J. M. Ocorrência de *Heterodera* sp. Em soja no Triângulo Mineiro. *Nematologia Brasileira*, 16(1/6):101, 1992.
6. LORDELLO, A. I. L., LORDELLO, R. R. * & QUAGGIO, J. A. Ocorrência do nematóide de cistos da soja (*Heterodera glycines*) no Brasil. *Revista de Agricultura*, 67:223-225, 1992.
7. MONTEIRO, A. R. & MORAES, S. R. A. C. Ocorrência do nematóide de cisto da soja, *Heterodera Glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. *Nematologia Brasileira*, 16(1/2):101, 1992.
8. NOEL, G. R. *Heterodera glycines* in soybean. *Nematologia Brasileira*, 17:103-121, 1993.
9. RIGGS, R. D. & SCHMITT, D. P. Complete characterization of the race schemes for *Heterodera glycines*, *Journal of Nematology*, 20:392-395, 1988.
10. ROSS, J. P. Effect of soil temperature on development of *Heterodera glycines* in soybean roots. *Phytopathology*, 54:1228-1231, 1964.
11. SINCLAIR, J. B. & SCHURTLEFF, M. C. *Compendium of soybean diseases*. St. Oaul, American Phytopathology Society, 1975. 69p.
12. SPEARS, J. F., BALCOMBE, S. C. & HEMERICK, G. Detection of *Heterodera glycines* in North Carolina. *Phytopathology*, 47:33, 1957.
13. YORINORI, J. T. Principais doenças da cultura da soja e suas estratégias de controle. *Fitopatologia Brasileira*, 20:276-277, 1995.

14. YOUNG, L. D. Epiphytology and life cycle. In: RIGGS, R. D. & WRATHER, J. A. (eds.). *Biology and management of the soybean cyst nematode*. Minnesota, American Phytopathological Society.