

RAÇAS FISIOLÓGICAS DO NEMATÓIDE DE CISTOS DA SOJA (*Heterodera glycines*), NOS ESTADOS DE GOIÁS, MATO GROSSO, MATO GROSSO DO SUL E MINAS GERAIS¹

José Algaci Lopes da Silva²

Tuneo Sedyama²

Rita de Cássia Teixeira²

Rosângela D'Arc de Lima Oliveira³

1. INTRODUÇÃO¹

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, 12). Detectado nos Estados Unidos em 1954 e na Colômbia em 1983 (5), o NCS foi relatado no Brasil na safra 1991/92, quase que simultaneamente, em três Estados: Minas Gerais; Região do Triângulo Mineiro (7), Mato Grosso do Sul, no município de Chapadão do Sul (9) e em Mato Grosso, na Chapada dos Guimarães (8). Posteriormente foi encontrado em Goiás (1), São Paulo (10), Rio Grande do Sul (4) e Paraná (14).

¹Parte da tese do primeiro autor. Projeto parcialmente financiado pelo CNPq e FAPEMIG. Aceito para publicação em 01.10.1998.

²DFT/UFV, 36571-000 Viçosa, MG. E-mail: cca@peasa.paqtc.rpp.br

³DFP/UFV, 36571-000 Viçosa, MG.

Este nematóide é um parasita destrutivo da soja, responsável pela doença "soybean yellow dwarf" ou nanismo-amarelo da soja (6). Após a penetração na raiz de uma planta de soja suscetível, o juvenil de segundo estágio (estádio infectante) torna-se sedentário (2). Algumas células no sítio de infecção transformam-se em um sincício multinucleado, rico em nutrientes, no qual os parasitas se alimentam (13).

Uma característica marcante da espécie *H. glycines* é a sua reprodução sexuada, fecundação cruzada, com alta variabilidade intra-específica. Em países como Estados Unidos e Japão, onde já se conseguiram grandes avanços no melhoramento da soja, com desenvolvimento de cultivares resistentes, o NCS ainda se constitui num sério problema, causando muitos prejuízos. O maior entrave é que genes selecionados para resistência a uma determinada população de *H. glycines* não protegem contra outras populações desta mesma espécie. Estas populações, com habilidades fisiológicas diferentes dentro da espécie, são chamadas raças fisiológicas ou simplesmente raças.

No Brasil, já foram identificadas as raças 1, 2 e 3 no Mato Grosso; as raças 3, 6, 9 e 14 no Mato Grosso do Sul; em Goiás, 3, 4, 9 e 14; a raça 6 no Rio Grande do Sul; e em Minas Gerais, São Paulo e Paraná somente a raça 3 (14).

Diante destas circunstâncias, torna-se evidente que, para se iniciar um programa eficiente de melhoramento da cultura da soja, visando resistência ao nematóide de cistos, deve-se, impreterivelmente, começar pela identificação da raça ou raças fisiológicas predominantes na região de interesse. Assim, deu-se início ao presente trabalho, que teve como objetivo identificar raças fisiológicas de *H. glycines*, em populações de diferentes localidades.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 13 amostras de solos naturalmente infestados pelo NCS, oriundos das localidades: Fazendas Minuano, Querência, União, Campo Verde e Agropecuária Formosa, em Campo Verde, no Estado do Mato Grosso; nos municípios de Chapadão do Sul e Chapadão do Céu, nos Estados de Mato Grosso do Sul e Goiás, respectivamente, e os municípios mineiros Santa Juliana e Monte Carmelo. O ensaio foi instalado sob o delineamento inteiramente casualizado, com 13 tratamentos (populações) e 7 repetições. As populações foram multiplicadas em casa de vegetação, utilizando-se soja suscetível, para formação do inóculo e posterior instalação do experimento, que teve as seguintes etapas:

2.1. Preparo das plântulas

Sementes de soja da variedade Lee '68' (suscetível universal padrão) e das diferenciadoras Peking, Pickett, PI88788 e PI90763 foram colocadas para germinar em leito de areia estéril. Após a germinação, as plântulas (em estágio cotiledonar) foram selecionadas, visando a uniformizá-las quanto ao vigor (tamanho de parte aérea e comprimento de radícula). Em seguida, repicaram-se as plantas para vasos de argila (uma planta/vaso), com capacidade para 500 g de solo, contendo uma mistura de solo e areia (1:1) tratada com brometo de metila.

2.2. Preparo da suspensão com ovos e larvas

Fêmeas maduras do NCS foram extraídas de plantas suscetíveis de soja. A técnica consiste em lavar as raízes das plantas sobre um conjunto de três peneiras (20, 100 e 500 mesh), superpostas nesta ordem. As fêmeas ficam retidas na peneira de 100 mesh, sendo em seguida esmagadas, de modo a liberarem os ovos, que ficam retidos na peneira de 500 mesh. Faz-se uma centrifugação em solução de sacarose densa (454 g de açúcar em um litro de água), para clarificar a suspensão e facilitar a contagem dos ovos e larvas. Esta operação consiste em se retornarem os ovos para a peneira de 500 mesh, repassando-os, com a sacarose, para tubos de centrífuga. A centrifugação é feita a 2.200 rpm, por um minuto. Após, verte-se o sobrenadante para a peneira de 500 mesh, lavando o excesso de açúcar em água corrente. Os ovos e larvas são então transferidos para um erlenmeyer de 500ml, completando-se o volume com água. Após uma homogeneização da suspensão, retira-se uma alíquota de 1 ml, para contagem de ovos e larvas em microscópio estereoscópio.

2.3. Inoculação e incubação

A inoculação foi simultânea ao transplântio, aproveitando-se a cova de plantio das mudas, e consistiu na adição de cerca de 4.000 ovos e larvas em 4 ml de água por planta. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 29 dias, com uma rega diária e moderada, evitando-se enxarcamentos e ressecamentos. As médias das temperaturas mínimas e máximas, registradas diariamente em termômetro de máxima e mínima, foram respectivamente de 23,3 e 31,7°C.

2.4. Avaliação do experimento

Após o arranquio e limpeza das raízes, as plantas foram levadas ao laboratório, para posterior extração e contagem do número de fêmeas. A operação de extração das fêmeas já foi explicada durante a etapa de preparação do inóculo. A contagem foi realizada utilizando-se um microscópio estereoscópio (lupa).

2.5. Identificação das raças

Foi realizada com base no índice de fêmeas (IF) (11), que é calculado pela fórmula: 'IF = número de fêmeas recuperadas em cada diferenciadora x 100/número de fêmeas recuperadas no cultivar suscetível Lee '68''. Para cada diferenciadora, se o $IF < 10\%$, identifica-se com um sinal negativo (-) como sendo resistente e se o $IF \geq 10\%$, (resistência); (+) (suscetibilidade). A raça é definida pela combinação seqüencial dos sinais, a qual possibilita identificar até 16 raças (Quadro 1).

QUADRO 1 - Esquema para identificação de raças fisiológicas de <i>H. glycines</i>				
Raças	Reação das raças diferenciadoras			
	Pickett	Peking	PI88788	PI90763
1	-	-	+	-
2	+	+	+	-
3	-	-	-	-
4	+	+	+	+
5	+	-	+	-
6	+	-	-	-
7	-	-	+	+
8	-	-	-	+
9	+	+	-	-
10	+	-	-	+
11	-	+	+	-
12	-	+	-	+
13	-	+	-	-
14	+	+	-	+
15	+	-	+	+
16	-	+	+	+

(-) = IF < 10% (resistente); (+) = IF ≥ 10% (suscetível).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos podem ser vistos no Quadro 2, que mostra o comportamento de cada genótipo diferenciador, o número médio de fêmeas de *H. glycines* por planta e as raças identificadas em cada isolado, nas diferentes localidades.

Pode-se observar, ao analisar o Quadro 2, que foram identificadas as raças 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 10. Contudo, houve predominância da raça 3, considerada a mais agressiva. A raça 5 apareceu em duas das treze populações, mostrando também boa capacidade de se disseminar. As demais raças 1, 2, 4, 6 e 10 só se manifestaram uma vez. É válido ressaltar que, das nove raças existentes no Brasil, sete foram detectadas apenas nestas treze populações, o que dá uma demonstração clara da alta disseminação deste patógeno nas lavouras de soja brasileiras.

Com relação à raça 3, observa-se que algumas populações apresentaram índice de fêmeas igual a zero em todas as diferenciadoras. Este resultado expressa o caráter mais selvagem desta raça, explicando de certa forma o porquê da sua predominância nas áreas infestadas pelo NCS.

QUADRO 2 - Identificação das raças fisiológicas de *H. glycines*, em diferentes populações, com base no índice de fêmeas (IF) expressado pelas variedades e linhagens diferenciadoras

Isolados	Índice de Fêmeas - IF (%)					Raças
	Pickett	Peking	PI88788	PI90763	Lee 68	
Faz. Minuano	14,6 (+)	2,2 (-)	21,2 (+)	0,4 (-)	100	5
Faz. Querência	0,4 (-)	0,4 (-)	17,2 (+)	0,3 (-)	100	1
Faz. União	0,0 (-)	0,0 (-)	2,2 (-)	0,0 (-)	100	3
Campo Verde	101,9 (+)	13,7 (+)	63,7 (+)	0,0 (-)	100	2
Agrop. Formosa	42,5 (+)	1,3 (-)	13,3 (+)	0,0 (-)	100	5
Chapadão do Sul 1	2,5 (-)	0,0 (-)	1,6 (-)	0,0 (-)	100	3
Chap. do Sul 2	2,3 (-)	0,3 (-)	1,3 (-)	0,2 (-)	100	3
Chap. do Céu 1	35,7 (+)	5,0 (-)	2,5 (-)	14,8 (+)	100	10
Chap. do Céu 2	10,2 (+)	5,1 (-)	2,6 (-)	3,4 (-)	100	6
Chap. do Céu 3	87,4 (+)	30,0 (+)	24,5 (+)	36,6 (+)	100	4
Chap. do Céu 4	3,7 (-)	0,4 (-)	2,2 (-)	0,2 (-)	100	3
Monte Carmelo	0,0 (-)	0,0 (-)	0,0 (-)	0,0 (-)	100	3
Santa Juliana	0,0 (-)	0,0 (-)	0,0 (-)	0,0 (-)	100	3

(-) = IF < 10% (resistente); (+) = IF ≥ 10% (suscetível).

Obs.: Considera-se 100%. O número médio de fêmeas obtido em Lee '68' (suscetível padrão).

4. RESUMO E CONCLUSÕES

No último bimestre de 1996, foi realizado, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), um ensaio envolvendo 13 populações de nematóide de cistos da soja, *Heterodera glycines* (NCS), para identificação de raças fisiológicas, utilizando o método das diferenciadoras (Pickett; Peking; PI88788 e PI90763) e Lee '68' (suscetível padrão). As treze amostras de solos foram coletadas em lavouras infestadas pelo NCS, nos Estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Minas Gerais. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, com 13 tratamentos e 7 repetições. Cada repetição foi representada por uma planta, cultivada em vaso de cerâmica, com cerca de 500 g de uma mistura de solo e areia (1:1). Cinco dias após a emergência, as plantas eram repicadas e, simultaneamente, inoculadas com cerca de 4.000 ovos de fêmeas maduras. A avaliação, 30 dias após a inoculação, foi realizada, contando-se o número de fêmeas de *Heterodera* por sistema radicular. Após a contagem, calculou-se o índice de fêmeas (IF = número de fêmeas na diferenciadora x 100/número de fêmeas na cultivar suscetível padrão). A diferenciadora com IF < 10% é resistente; com IF ≥ 10%, suscetível. A combinação dos sinais, nas quatro diferenciadoras, dá a identificação da raça. Identificaram-se as raças 1, 2, 3 e 5 em populações de Mato Grosso; raça 3, 4, 6 e 10 em Goiás, e raça 3 em duas populações de Mato Grosso do Sul e duas de Minas Gerais.

5. SUMMARY

(PHYSIOLOGIC RACES OF SOYBEAN CYST NEMATODE, *Heterodera glycines*, IN THE STATES OF GOIÁS, MATO GROSSO, MATO GROSSO DO SUL AND MINAS GERAIS, BRAZIL)

An assay was conducted in November-December 1996 at the Universidade Federal de Viçosa on 13 populations of soybean cyst nematode *Heterodera glycines* for the identification of physiological races by the differential host test (Pickett; Peking; PI88788 and PI90763) and Lee 68 (susceptible standard). Thirteen soil samples were collected from soybean fields infested with the nematodes in the States of Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás and Minas Gerais. A randomized experimental design was used with 13 treatments and 7 replicates. Each replicate was represented by one plant grown in a clay pot with approximately 500 mg of a sand and soil mixture (1:1). Five days after emergence, the plants were transplanted and simultaneously inoculated with approximately 4000 eggs from mature females. Thirty days after inoculation, the evaluation was

performed by counting the number of *Heterodera* females on each rooting system. After counting, the female index was calculated (IF = number of females in the differential x 100/ number of females in the standard susceptible cultivar). Differentials with IF < 10% are resistant; with IF ≥ 10% are susceptible. These signal combinations in the four differentials provide the race identification. The races were identified as follows: 1, 2, 3 and 5 in Mato Grosso populations; 3, 4, 6 and 10 in Goiás, and race 3 in two populations of Mato Grosso do Sul and two of Minas Gerais.

6. LITERATURA CITADA

1. ANJOS, J.R.N. & SHARMA, R.D. Ocorrência do nematóide de cistos da soja, *Heterodera glycines*, no Estado de Goiás. *Fitopatologia Brasileira* 17(2):183, 1992.
2. ALSTON, J.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, GO, SBN/ONTA, 1995. p. 73.
5. GOMEZ-TOVAR, J. & MEDINA, C. *Heterodera glycines* en soya y frijol en el Valle del Cauca, Colombia. *Nematropica*, 13(2):229-237, 1983.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. MONTEIRO, A.R. & MORAIS, S.R.A.C. Ocorrência do nematóide de cistos da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. *Nematologia Brasileira*, 16 (1/2):101, 1992.
10. 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.
11. RIGGS, R.D. & SCHMITT, D.P. Complete characterization of the races scheme for *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 20(3):392-395, 1988.
12. SCHMITT, D.P. & NICKLE, G.R. Nematodes parasites of soybeans. In: NICKLE, W.R. (ed). *Plant and Insect Nematodes*. New York, Marcel Dekker, 1984. p. 14-43.
13. 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).

14. WAIN, A.L. & SILVA, J.F.L.. Levantamento de ocorrência de raças de *Heterodera glycines* no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 20, Gramado, 1997. *Resumos...* Gramado, RS, SBN, 1997. p. 58.