

**FERNANDO GODINHO DE ARAÚJO**

**QUANTIFICAÇÃO DE MACHOS E FÊMEAS DE *Heterodera glycines* (Ichinohe,  
1952) EM CULTIVARES DE SOJA RESISTENTES E SUSCETÍVEIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia, área de concentração: Produção Vegetal.

**Orientadora:**

**Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Mara Rúbia da Rocha**

Goiânia, GO - Brasil

2009

**FERNANDO GODINHO DE ARAÚJO**

**QUANTIFICAÇÃO DE MACHOS E FÊMEAS DE *Heterodera glycines* (Ichinohe,  
1952) EM CULTIVARES DE SOJA RESISTENTES E SUSCETÍVEIS**

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA EM \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_  
de \_\_\_\_\_, pela Banca Examinadora constituída pelos membros:

---

Prof. Dr. Marcos Gomes da Cunha  
Universidade Federal de Goiás

---

Profa. Dra. Maria Amélia dos Santos  
Universidade Federal de Uberlândia

---

Prof.(a) Dr. (a) Mara Rúbia da Rocha  
Orientadora – Universidade Federal de Goiás

Goiânia, Goiás  
Brasil

## AGRADECIMENTOS

À Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (EA/UFG), pela oportunidade de realização do curso de Mestrado em Agronomia.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

À Professora e amiga Dra. Mara Rúbia da Rocha pela orientação clara e dinâmica durante todo o curso de mestrado.

Aos meus pais, Walter Luiz de Araújo e Vera Lúcia Godinho de Araújo, meus irmãos, Danielle Godinho de Araújo e Walter Luís de Araújo Junior, minha avó, Cecília Pacheco de Araújo e minha madrinha, Domary do Nascimento Godinho, por sempre acreditarem na minha capacidade e apoiarem em todas as minhas decisões.

À minha namorada Fernanda Tironi Arrais por estar sempre ao meu lado, me apoiando nos momentos em que mais precisei.

Aos amigos, Leonardo de Castro Santos, Renato Andrade Teixeira, Ulyseu da Rocha Rezende Neto e Cristiane Silva Ferreira pelo auxílio na condução e avaliação dos ensaios.

À amiga Kássia Aparecida Garcia Barbosa pelo auxílio nas análises estatísticas e na discussão dos resultados.

Às Professoras Dra. Larissa Leandro Pires e Dra. Adriana Teramoto pela agradável companhia durante o curso de mestrado.

E em especial à minha avó Maria Madalena Godinho, que mesmo não estando mais entre nós, sempre foi meu refúgio nos momentos de dificuldade.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	5
<b>ABSTRACT</b> .....	6
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	7
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	10
2.1 NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA.....	11
2.1.1 <b>Biologia e ciclo de vida</b> .....	11
2.1.2 <b>Principais medidas de controle</b> .....	12
2.1.2.1 Rotação de culturas.....	13
2.1.2.2 Manejo de solo.....	14
2.1.2.3 Cultivares resistentes.....	15
2.1.3 <b>Resistência genética ao <i>H. glycines</i></b> .....	16
2.1.4 <b>Razão macho/fêmea de <i>H. glycines</i></b> .....	18
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	21
3.1 INÓCULO.....	21
3.2 O EXPERIMENTO DO ANO DE 2007.....	22
3.3 O EXPERIMENTO DO ANO DE 2008.....	22
3.4 SISTEMA HIDROPÔNICO.....	23
3.5 QUANTIFICAÇÃO DE FÊMEAS NOS DOIS EXPERIMENTOS.....	23
3.6 QUANTIFICAÇÃO DE CISTOS NOS DOIS EXPERIMENTOS.....	24
3.7 CÁLCULO DA TAXA DE SOBREVIVÊNCIA.....	24
3.8 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	25
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	33
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	34

## RESUMO

ARAÚJO, F. G. **Quantificação de machos e fêmeas de *Heterodera glycines* (Ichinohe, 1952) em cultivares de soja resistentes e suscetíveis.** 2009. 38 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia: Produção Vegetal) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.<sup>1</sup>

O nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, é um dos principais problemas fitossanitários que afeta a cultura da soja nos principais países produtores desta oleaginosa. A erradicação do *H. glycines* nas áreas contaminadas é praticamente impossível. Dessa forma, o produtor deve adotar práticas culturais com o intuito de manter baixos os níveis populacionais. As principais medidas de controle são a rotação de culturas, o manejo de solo e a utilização de cultivares resistentes. Com o objetivo de avaliar o desenvolvimento de *H. glycines* e a proporção macho:fêmea em cultivares de soja resistentes e suscetíveis foram realizados dois experimentos, sendo um em 2007 e outro em 2008. Avaliou-se as cultivares suscetíveis BRSGO Araçu, BRSGO Jataí, BRSGO Luziânia, BRS Favorita RR, BRS Valiosa RR, BRS Silvânia RR e as cultivares resistentes BRSGO Ipameri e BRSGO Chapadões. Plântulas pré-germinadas de soja foram transferidas para vasos com solo naturalmente infestado com *H. glycines*, raça 14, e, após dez dias, parte das plantas permaneceram nos vasos para avaliação de fêmeas e cistos no solo, e outra parte foi utilizada para instalação do sistema hidropônico para avaliação de machos. No ensaio conduzido em 2008, as plantas foram divididas em três partes sendo a última destinada à coloração de raízes para contagem de juvenis e avaliação da taxa de sobrevivência. As cultivares resistentes sempre mantiveram baixo número de fêmeas e machos com exceção da cultivar BRSGO Ipameri que obteve altos índices de machos. Somente as cultivares BRS Favorita RR e BRS Silvânia RR produziram uma relação macho/fêmea de aproximadamente 1:1. As demais cultivares suscetíveis apresentaram número de machos maior que o de fêmeas com proporções variando de 5:1 a 11:1. A taxa de sobrevivência foi nula para ambas as cultivares resistentes e variou de 6,75% a 35,00% para as cultivares suscetíveis. Com relação ao número de cistos em 100 cm<sup>3</sup> de solo, a única cultivar que diferiu significativamente das demais foi a BRSGO Jataí no experimento realizado em 2007. O número de ovos por cisto variou bastante, em ambos os experimentos, sendo que a resistência não influenciou as médias encontradas.

*Palavras-chave:* *Glycine max*, nematóide de cisto, relação macho/fêmea, hidroponia.

---

<sup>1</sup> Orientadora: Profa. Dra. Mara Rúbia da Rocha. EA – UFG.

## ABSTRACT

ARAÚJO, F. G. **Quantification of males and females of *Heterodera glycines* (Ichinohe, 1952) in soybean cultivars resistant and susceptible.** 38 f. Dissertation (Master in Agronomy: Crop Science) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.<sup>1</sup>

Soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* Ichinohe, is one of the major phytopathological problems affecting the soybean, in the major producing countries of this legume. Eradication of *H. glycines* from contaminated areas is practically impossible. Thus, the soybean growers have to adapt control measures in order to maintain low population levels. The main control measures are crop rotation, soil management and use of resistant cultivars. With the purpose to evaluate the development of *H. glycines* and male/female ratio on soybean resistant and susceptible cultivars two trials were conducted during the years 2007 and 2008. Susceptible cultivars BRS Aracu, BRSGO Jatai, BRSGO Luziania, BRS Favorita RR, BRS Valiosa RR, BRS Sylvania RR and resistant cultivars BRSGO Ipameri e BRSGO Chapadoes were evaluated. Soybean seedlings were transplanted to pots containing naturally infested soil with *H. glycines*, race 14, and, 10 days later, part of the plants remained in the pots to evaluate the females, while the other part was removed for hydroponic growth to evaluate the males. In the trial of 2008 the plants were divided in three lots, with the last one having the roots stained to count the juveniles and to evaluate survival rate. Resistant cultivars always maintained a small number of females and males, except for cultivar BRSGO Ipameri that had high countings of males. Only cultivars BRS Favorita RR and BRS Sylvania RR had the expected sex ratio 1:1. All other susceptible cultivars had greater number of males than females, with ratios varying from 5:1 to 11:1. Survival rate was nil for both resistant cultivars, and varied from 6.75% to 35.00% for the susceptible cultivars. Regarding the number of cysts in 100 cc of soil the only cultivar that differed significantly from the others was the BRSGO Jatai on experiment conducted in 2007. The number of eggs per cyst varied, in both experiments, and the resistance did not influence the averages found.

*Key words:* *Glycine max*, cyst nematode, sex ratio, hydroponics.

---

<sup>1</sup> Adviser: Profa. Dra. Mara Rúbia da Rocha. EA-UFG.

## 1 INTRODUÇÃO

A soja, *Glycine max* (L.) Merr., é a mais importante oleaginosa cultivada no mundo, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial, e ainda com grande potencial de ampliação devido à opção de extração de óleos vegetais e sua transformação em biodiesel, como opção de cultura bioenergética. A produção de soja, até o início dos anos 80, concentrou-se na região Centro-Sul. A partir daí, a região Centro-Oeste teve um aumento significativo na participação da safra brasileira (Embrapa, 2008). Na década de 80, essa região brasileira se consolidou como potência agrícola. A produção de soja da região Sul do país se estabilizou e a cultura expandiu pelos Cerrados atingindo 6,4 milhões de hectares cultivados.

No Estado de Goiás, a área plantada na safra 2008/09 foi de 2,3 milhões de hectares, com uma produção de 6,8 milhões de toneladas e uma produtividade de 2.963 kg.ha<sup>-1</sup> (Conab, 2009). Devido à crise ocorrida no setor nos quatro últimos anos, a cultura da soja perdeu algumas áreas para a cultura da cana-de-açúcar. No entanto, a soja deve continuar em expansão em função do preço alcançado nas safras de 2007/08 e 2008/09. O surgimento de novas doenças é sempre um desafio para os pesquisadores da área, de forma a estar sempre à frente trazendo respostas rápidas aos produtores.

O nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* (Ichinohe, 1952), se configura como uma das principais pragas da cultura, devido aos prejuízos causados e pela sua facilidade de disseminação (Embrapa, 2006). Foi detectado pela primeira vez no Brasil na safra 1991/92 (Lima et al., 1992; Lordello et al., 1992; Monteiro & Morais, 1992). Segundo Dias et al. (2004), atualmente o nematóide de cisto da soja está presente em 109 municípios de dez estados (Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Bahia, Tocantins e Maranhão).

Esse nematóide penetra na raiz da planta dificultando a absorção de água e nutrientes. As plantas infectadas têm seu porte e número de vagens reduzidos, sendo que esses sintomas aparecem em plantas que formam uma agregação na lavoura denominada de reboleiras. O sistema radicular fica reduzido, apresentando minúsculas fêmeas com formato de limão ligeiramente alongado, de coloração branca a amarela. Quando a fêmea

morre, seu corpo se transforma em uma estrutura resistente, denominada de cisto, cheia de ovos, que se desprende da raiz e permanece no solo (Embrapa, 2005).

A erradicação de *H. glycines*, nas áreas contaminadas, é praticamente impossível. Dessa forma, o produtor deve conviver com esse nematóide, adotando práticas culturais com o intuito de manter baixos os seus níveis populacionais (Dias et al., 2007). As principais medidas de controle são a rotação de culturas (Wrather et al., 1992; Garcia & Silva 1997; Garcia et al., 1999), o manejo de solo (Andrade & Asmus, 1997; Garcia et al.; 2000; Rocha et al., 2006) e a utilização de cultivares resistentes (Arantes et al., 1999; Dias et al., 2004; Dias et al., 2007), sendo recomendado o emprego dessas três medidas de forma associada, para minimizar a pressão de seleção sobre a população do nematóide.

Na prática, a resistência genética é uma das principais estratégias de manejo do nematóide de cisto da soja. O *H. glycines* penetra de forma semelhante em cultivares resistentes e suscetíveis, sendo a resistência conferida por reação de hipersensibilidade, que ocorre após o estabelecimento do sincício. De modo geral, em cultivares resistentes, os juvenis de *H. glycines* são incapazes de estabelecer locais de alimentação, em função da deterioração do sincício que ocorre em alguns dias, acarretando a morte do nematóide dentro do tecido radicular (Kim et al., 1987; Kim & Riggs, 1992; Tylka, 2008). As fêmeas desse nematóide são as responsáveis pela maioria dos danos em função da formação de sincícios e por se alimentarem desde a fase J2 até a fase adulta, enquanto os machos se alimentam somente como J2 e J3 (Endo, 1964; 1965).

A determinação sexual em *H. glycines* está sob forte controle genético, sendo a proporção esperada de machos de 50%. No entanto, em condições de estresse, pode ocorrer mortalidade diferenciada do nematóide, implicando em uma relação macho/fêmea diferente de 1:1 (Koliopanos & Triantaphyllou, 1972). Diversos fatores podem influenciar essa proporção como a densidade de infecção (Koliopanos & Triantaphyllou, 1972; Stelle, 1975; Evans & Fox, 1977) a temperatura (Melton et al., 1986), o estado nutricional do hospedeiro (Grundler et al., 1991) e a resistência genética do hospedeiro (Endo, 1965; Luedders, 1987; Halbrendt et al., 1992; Colgrove & Niblack, 2005).

A maioria dos trabalhos de pesquisa com *H. glycines* tem levado em consideração o número de fêmeas e de cistos nas avaliações, ignorando a avaliação de machos. Levando-se em consideração que, em condições ideais, machos e fêmeas ocorrem na proporção de 1:1 (Endo, 1965; Koliopanos & Triantaphyllou, 1972; Luedders, 1987; Halbrendt et al., 1992), a quantificação de machos de *H. glycines* seria uma opção para



avaliação desses trabalhos, sendo possível coletar os indivíduos do sexo masculino em aproximadamente vinte dias através do uso de um sistema hidropônico.

A forma de avaliação de genótipos de soja, com relação à resistência ao nematóide de cisto da soja, é feita através da contagem do número de fêmeas. Visando maior rapidez e praticidade na avaliação desses genótipos, o presente estudo teve como objetivo monitorar o desenvolvimento de *H. glycines* e a proporção de macho/fêmea presentes em cultivares de soja resistentes e suscetíveis.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A soja, cultivada em todo o mundo, é muito diferente dos ancestrais que lhe deram origem. Inicialmente, a soja era planta rasteira, no leste da Ásia. Sua evolução ocorreu de plantas oriundas de cruzamentos naturais entre duas espécies selvagens, que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China (Embrapa, 2004). Apesar de sua intensa exploração na alimentação oriental, o Ocidente ignorou o seu cultivo por aproximadamente cinco mil anos. Somente na segunda década do século XX, os Estados Unidos da América iniciaram sua exploração comercial, inicialmente como forrageira, e posteriormente como grão (Embrapa, 2008).

Em relação às grandes culturas produtoras de grãos, a soja foi a que mais cresceu em termos percentuais nos últimos 37 anos, tanto no Brasil, como no restante do mundo. De 1970 a 2007, o crescimento da produção global foi de 763% (de 44 milhões para 236 milhões de toneladas), enquanto as produções de culturas como trigo, arroz, feijão, cevada e girassol cresceram, no máximo, um terço desse montante (Embrapa, 2008).

A história da agricultura brasileira foi alterada sensivelmente devido ao crescimento da produção de soja que foi cerca de 39 vezes ao longo de 47 anos. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de grãos de soja, e possui alta competitividade em termos técnicos. Mesmo com um crescimento anual da ordem de 5,74% na área cultivada com a oleaginosa, a produtividade continuou crescendo a taxas maiores que nos demais países produtores de soja (2,3%). Esse crescimento significativo na produtividade se deve também, ao fato do Brasil, ao longo dos últimos anos, ter realizado importantes investimentos na geração e difusão de tecnologias de alto nível específicas para cada região do país (FAO, 2005).

As perspectivas brasileiras em relação ao mercado de soja são bastante positivas, mesmo com os problemas fitossanitários que ameaçaram o consumo de carne de frango e, conseqüentemente o de farelo de soja. A área e a produção deverão crescer em função do aumento da demanda por carnes e biodiesel (Embrapa, 2008). O aumento na produção de soja traz, consigo, problemas novos que ocasionam a queda no rendimento da cultura. Entre os fatores que contribuíram para essa queda, em especial nas regiões

tropicais e subtropicais, estão as doenças, com destaque para aquelas provocadas por nematóides.

Existem mais de cem espécies de nematóides, envolvendo cerca de cinquenta gêneros, associadas à cultura da soja em todo o mundo (Dias et al., 2007). Dentre esses, destaca-se o nematóide de cisto da soja devido, principalmente, ao seu alto nível de dano à cultura da soja e à sua ampla disseminação nas áreas cultivadas.

## 2.1 NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA

O fitonematóide *H. glycines* é um dos principais patógenos que afeta a cultura da soja, nos principais países produtores desta oleaginosa, como os Estados Unidos e o Brasil. A diminuição de produtividade ocasionada por este nematóide nos Estados Unidos, nos anos de 2003 a 2005, foram respectivamente 2,9; 3,47 e 1,93 milhões de toneladas do grão, evidenciando a severidade da doença (Wrather & Koenning, 2006).

Na região Central do Brasil, em condições de altas populações, em especial quando associado ao excesso de calagem, as perdas causadas pelo nematóide de cisto da soja chegaram a atingir 100%. No entanto, os níveis de danos causados são variáveis, em função de diversos fatores como a fertilidade e manejo do solo, o grau de suscetibilidade das cultivares, o tempo de presença do nematóide na área e a adoção de práticas de controle, como a rotação de culturas com espécies não hospedeiras e a utilização de cultivares resistentes (Dias et al., 2007).

### 2.1.1 Biologia e ciclo de vida

O ciclo de vida do nematóide de cisto da soja varia em função de uma série de fatores. Considerando a temperatura do solo variando de 23°C a 25°C, o ciclo de *H. glycines* dura em torno de 21 dias a 24 dias. Dessa forma, é possível a obtenção de quatro a cinco gerações em um único ciclo da cultura (Young, 1992).

O gênero *Heterodera* se caracteriza pela formação de cistos que cisto é o corpo da fêmea adulta, após sua morte, de coloração amarronzada, resistente às intempéries do ambiente, contendo em média de duzentos ovos a seiscentos ovos (Cares & Baldwin, 1995). Nas condições climáticas brasileiras, o número médio de ovos por cisto está em torno de 150 a 250 (Embrapa, 2007). Os ovos, já fertilizados, no interior dos cistos, sofrem

embriogênese, dando origem ao juvenil de primeiro estágio (J1). Esse sofre ecdise dentro do ovo se tornando juvenil de segundo estágio (J2), que eclodem, migram no solo e invadem as raízes de plantas hospedeiras. Após a penetração, o J2, induz, no local da penetração, a modificação de um conjunto de células, estabelecendo o seu sítio de alimentação, denominado sincício, que passa a fornecer alimento para o nematóide. O juvenil de segundo estágio continua o seu desenvolvimento, sofrendo mais três ecdises, até atingir a fase adulta, de macho ou fêmea. As fêmeas permanecem fixadas à raiz, com a parte posterior do corpo para o lado de fora e a parte anterior internamente nos tecidos radiculares. Os machos possuem corpo alongado, migram para o solo, onde não mais se alimentam, e morrem após fertilizarem as fêmeas. Na fase de postura, a fêmea libera parte dos ovos em uma pequena matriz gelatinosa liberada pelo ânus e o restante permanece retido no interior do seu corpo. Após a morte, a fêmea adquire coloração marrom e se desprende da raiz se tornando cistos. Os cistos, contendo ovos, podem permanecer no solo por oito ou mais anos (Young, 1992).

O cisto, por ser uma estrutura leve e resistente, constitui a mais eficiente unidade de dispersão do nematóide. Dessa forma, é facilmente levado de uma área para outra, a curtas ou longas distâncias, por qualquer forma de movimentação de solo (Dias et al., 2007).

Em lavouras de soja infestadas é possível observar muitas plantas de porte reduzido e cloróticas, agrupadas em manchas ou reboleiras de forma ovalada. A nodulação é geralmente diminuída e a produção final de grãos pode sofrer redução.

### **2.1.2 Principais medidas de controle**

Com a detecção do nematóide de cisto da soja no Brasil, teve início, por parte das instituições de pesquisa e de assistência técnica, uma intensa divulgação de medidas de controle, todas baseadas na experiência relatada pelos norte-americanos. Como não haviam cultivares brasileiras de soja resistentes a esse fitonematóide, o controle inicial se restringiu a rotação de culturas e ao manejo de solo (Garcia et al., 1999). No entanto, à medida que esse problema fitossanitário foi se disseminando pelas áreas cultivadas com soja, os pesquisadores brasileiros também avançaram suas pesquisas no intuito de introduzir os genes responsáveis pela resistência a *H. glycines* nas cultivares brasileiras, e a primeira cultivar lançada foi a BRSMG Renascença, em 1997.

### 2.1.2.1 Rotação de culturas

A rotação de culturas é uma medida de controle indicada mesmo quando se tem disponibilidade de cultivares resistentes. Essa rotação permite manter baixas as densidades populacionais dos fitonematóides, e com isso, ser possível incluir a utilização de cultivares suscetíveis em esquema de rotação de cultivares. A utilização de cultivares suscetíveis é de fundamental importância para evitar ou diminuir a pressão de seleção sobre a população do nematóide, evitando a “mudança” da raça presente no local (Garcia et al., 1999). O cultivo de plantas não hospedeiras, seguido por plantio de cultivar resistente por dois ou três anos, diminui sensivelmente a população desse nematóide. Subsequentemente, ao plantar uma cultivar suscetível, a população do nematóide de cisto da soja irá aumentar, no entanto, está ficará abaixo da população inicial, e daquela que causaria queda na produção (Wrather et al., 1992).

Dentre as espécies vegetais não hospedeiras de *H. glycines*, as de ciclo anual e de interesse econômico, figuram milho, arroz, algodão, sorgo, girassol e mamona. No Centro-Oeste, as principais culturas utilizadas na rotação são milho, arroz e algodão. É importante salientar que as culturas da mandioca e do amendoim, mesmo não sendo hospedeiras do nematóide de cisto da soja, não devem ser cultivadas em áreas infestadas, devido a grande movimentação do solo durante a colheita e assim permitir o espalhamento e disseminação de cistos presentes no solo (Garcia et al., 1999).

Valle et al. (1996) verificaram a eficiência da rotação de culturas para o controle do *H. glycines*, em casa de vegetação. Foram avaliadas gramíneas forrageiras e mucuna preta, no sistema de rotação, constatando que todos os tratamentos reduziram significativamente a população do nematóide no solo em relação à testemunha soja. Dessa forma, comprovou-se a viabilidade da rotação com pastagens permanentes, o que oferece a vantagem de ter plantas no campo durante todo o ano, e não somente na estação chuvosa.

Garcia & Silva (1997) testaram em Tarumã, SP, o efeito da rotação de culturas na população de *H. glycines*, com o intuito de conhecer o comportamento de algumas espécies de verão, não hospedeiras, sobre a população de cistos no solo. Foram avaliadas as culturas da soja, milho, mucuna, algodão, mamona, arroz e girassol. Com exceção da soja, em que ocorreu um aumento de 724% dos cistos presentes em 100 cm<sup>3</sup> de solo, todas as demais rotações resultaram em diminuição, com destaque para a cultura do milho, mucuna, arroz e girassol, que apresentaram, respectivamente, uma diminuição de 79%,

68%, 77% e 73%. O algodão e a mamona proporcionaram menores reduções, 26% e 21%, respectivamente.

No estado de Missouri (USA), ao avaliar as colheitas de culturas não hospedeiras do *H. glycines*, Francl & Dropkin (1986) observaram sensível diminuição do número de ovos por cisto quando se cultivava milho, algodão ou sorgo. Dois anos, com qualquer uma das culturas citadas, eram necessários para reduzir o número de ovos abaixo do limiar de dano. No entanto, o período necessário de plantio com cultivares não hospedeiras para ocorrer a diminuição do número de ovos na área depende de uma série de fatores, como a população inicial de ovos, fatores edáficos, localização e ambiente.

Durante o inverno, em áreas com a presença do fitonematóide, devem ser cultivadas apenas espécies não hospedeiras, pois nesse período a população do nematóide pode multiplicar (Garcia et al., 1999). Como sucessão à soja, no inverno, podem ser cultivadas todas as gramíneas cultivadas no outono-inverno como: trigo, milho, sorgo, milheto, aveia-preta, aveia-branca, além de: girassol, canola, nabo forrageiro, mucuna preta e mucuna cinza. Embora não multiplique o nematóide de cisto da soja, seu cultivo não resulta na redução desse nematóide como constatado por Garcia et al. (1998). No entanto, embora não reduza a população, o cultivo com essas gramíneas proporcionaram um enriquecimento do solo, o que favorece o cultivo da soja.

#### 2.1.2.2 Manejo de solo

As diferentes formas de preparo do solo, de semeadura e de adubação, englobadas como forma de manejo do solo, podem afetar a dinâmica do nematóide de cisto da soja, em função de alterações de ordem química, física e biológica (Garcia et al., 1999). Manejar adequadamente o solo é essencial para evitar a disseminação de cisto para outras áreas e de fundamental importância para diminuir os danos causados por esse fitonematóide.

Segundo Dias et al. (2007), a adoção de semeadura direta em áreas infestadas com nematóide de cisto da soja é bastante indicada. Esse modo de cultivo potencializa a ação de inimigos naturais do nematóide e dificulta a dispersão dos cistos, em função da diminuição do revolvimento do solo e do trânsito de máquinas.

Andrade & Asmus (1997) observaram em Chapadão do Sul, MS, que após a gradagem de uma área infestada com nematóide de cisto, era possível encontrar cistos a

uma distância de 5 m, 10 m, 15 m, 30 m e até 55 m da área gradeada. Dessa forma verificou-se que a disseminação de cistos de *H. glycines*, pelo vento, é inerente, sendo o plantio direto uma prática cultural recomendada para reduzir a contaminação de áreas livres do problema.

O pH do solo também influencia o desenvolvimento de *H. glycines*. Rocha et al. (2006) avaliaram o efeito de doses crescentes de calcário sobre populações de *H. glycines*, em condição de estufa, utilizando cultivar suscetível de soja e constataram que o número de cistos no solo reduziu linearmente à medida que foram aumentadas as doses de calcário. No entanto, Garcia & Silva (1996) realizaram experimentos em lavouras de soja de Chapadão do Sul (MS) e Chapadão do Céu (GO) e observaram que pH do solo e saturação de bases muito altas, favorecem as populações de nematóide de cisto da soja. Valores de pH acima de 6,0, intensificaram os danos causados pelo nematóide e as populações de cistos se mantiveram alta, mesmo após o cultivo de milho por um ou dois anos.

A aplicação de fertilizantes também exerce influência sobre a densidade populacional de *H. glycines*. Plantas mal nutridas estão mais predispostas ao ataque de fitonematóides (Wrather et al., 1992). Uma adubação equilibrada favorece o desenvolvimento da planta permitindo que ela não apresente sintomas provocados por doenças. No caso do nematóide de cisto da soja, Wrather et al. (1984) verificaram que existem evidências consideráveis de prejuízos causados por *H. glycines* em solos de baixa fertilidade, principalmente naqueles solos com baixos teores de potássio, o que também foi comprovado por estudos realizados por Rocha et al. (2007).

### 2.1.2.3 Cultivares resistentes

A partir da safra 1993/1994, foram avaliadas todas as linhagens presentes no país, que tinham, pelo menos, um parental resistente ao *H. glycines*. Nos testes foram identificados muitos materiais resistentes à raça 3, no entanto, foram descartados por serem suscetíveis ao cancro da haste. Em 1997, a Embrapa Soja lançou a primeira cultivar de soja brasileira resistente, a 'BRSMG Renascença'. Essa cultivar foi resultante do cruzamento [F81-2129 x (Kirby x Tracy M)] x Forrest e se adaptou muito bem nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Sudeste de Goiás (Arantes et al., 1997).

Em 1998, a Embrapa Soja juntamente com seus parceiros lançaram mais cultivares resistentes ao *H. glycines*. Foi lançada a cultivar BRSMG Liderança, bem adaptada para os Estados de Minas Gerais, Goiás, Bahia e São Paulo e também a cultivar BRSMT Pintado, indicada para o Estado de Mato Grosso. Neste mesmo ano, a Monsoy sementes lançou as cultivares M-SOY 8001, recomendada para Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, e M-SOY 8401, indicada para o Mato Grosso do Sul.

As pesquisas em relação à resistência ao nematóide de cisto da soja tiveram continuidade e atualmente existem cerca de 37 cultivares de soja, recomendadas pela Embrapa, para Região Central do Brasil. As cultivares recomendadas, no entanto, em sua grande maioria, são resistentes somente às raças 1 e 3, e moderadamente resistentes à raça 14. Dessa forma, é importante a identificação da raça presente na área, pensando no manejo para o controle de *H. glycines*, antes de se utilizar cultivares resistentes e as cultivares das empresas privadas, e as transgênicas.

A utilização de cultivares resistentes não deve ser a única opção, uma vez que em função da elevada diversidade genética, o nematóide pode desenvolver novas raças quando submetido a forte pressão de seleção (Dias et al., 2007). Para amenizar esse problema, os programas de melhoramento de soja buscam a diversificação das fontes de resistência, no entanto nem sempre os agricultores procuram fazer essa rotação.

### **2.1.3 Resistência genética a *H. glycines***

O melhoramento genético da soja visando a resistência ao *H. glycines* é bastante complexo, sendo a base genética da resistência não muito bem entendida. Os primeiros estudos sobre resistência da soja a este nematóide foram feitos por Caldwell et al. (1960), em que os pesquisadores identificaram três genes recessivos independentes para a resistência, *rhg*<sub>1</sub>, *rhg*<sub>2</sub> e *rhg*<sub>3</sub>. Posteriormente, Matson & Williams (1965) encontraram o gene dominante *Rhg*<sub>4</sub>, em adição aos três genes recessivos.

Triantaphyllou (1975) testou a capacidade de reprodução de quatro populações de *H. glycines* em três linhagens diferenciadoras. Análises genéticas indicaram a presença de três grupos de genes (genes do parasitismo) que atuam ao nível quantitativo controlando a capacidade de reprodução do nematóide em PI 88788, Pickett e PI 90763. O autor verificou que populações de *H. glycines*, da raça 3, não possuem nenhum dos genes para o



parasitismo ou os possuem em baixa frequência, resultando em um índice de parasitismo inferior a 10%.

Anand & Sharma (1996) realizaram cruzamentos entre as linhagens resistentes PI 90763, PI 424595 e a cultivar suscetível Essex e observaram em F1, F2 e F3, as generalidades envolvendo a resistência ao nematóide de cisto da soja, raça 3 e 5. Os resultados encontrados são de extrema importância por descrever, pela primeira vez, um sistema de controle genético de resistência para mais de uma raça. O gene dominante de resistência e um dos genes recessivos de resistência que condiciona resistência à raça 5 na PI 90763, condiciona também resistência à raça 3. O gene recessivo adicional que controla a resistência à raça 5 na PI 424595 foi ineficaz contra a raça 3.

Assunção et al. (2004) realizaram os cruzamentos PI 89772 x 'Lee 68', PI 88788 x PI 89772 e 'Lee 68' x PI 209332, para observar o número de genes de resistência nas PI 89772 e PI 209332 que conferem resistência à *H. glycines* raça 3. As classes de resistência foram consideradas parâmetros quantitativos tendo diferentes níveis de resistência, opondo-se à tradicional denominação de duas classes resistente ou suscetível. O teste de Chi-quadrado dos dados da segregação fenotípica indicaram que dois genes conferem resistência à raça 3 de *H. glycines*. Os três parentais com resistência a *H. glycines* têm pelo menos dois genes que expressam resistência a esta raça. Um gene age como gene principal ( $Rhg_x$ ) e outro de menor efeito ( $Rhg_y$ ) conferindo resistência a *H. glycines*, raça 3, nos parentais PI 89772 ( $Rhg_{x1}Rhg_{x1}Rhg_{y1}Rhg_{y1}$ ), PI 88788 ( $Rhg_{x2}Rhg_{x2}Rhg_{y2}Rhg_{y2}$ ), e PI 209332 ( $Rhg_{x3}Rhg_{x3}Rhg_{y3}Rhg_{y3}$ ). Pode ser que os mesmos genes que ocorrem na PI 209332 também ocorram na PI 89772, entretanto, para confirmação desta hipótese, deveria ser estudado o cruzamento PI 209332 x PI 89772. Os mesmos genes principais ( $Rhg_x$ ) e os de menor efeito ( $Rhg_y$ ) ocorrem nas PI 89772 ( $Rhg_{x1}Rhg_{x1}Rhg_{y1}Rhg_{y1}$ ) e PI 88788 ( $Rhg_{x2}Rhg_{x2}Rhg_{y2}Rhg_{y2}$ ). A taxa fenotípica obtida indica que ocorre epistasia entre os gene  $Rhg_x$  e o gene  $Rhg_y$ . Os resultados desta análise indicaram que a sensibilidade de genótipos resistentes ao ambiente é diferente da sensibilidade de genótipos suscetíveis. Adicionalmente, observou-se que ocorreu um efeito materno para a herança da resistência na PI 88788 a *H. glycines*, raça 3, mas não para a PI 89772.

Na indústria de sementes de soja, a resistência ao nematóide de cisto da soja é definida com base no número de fêmeas adultas que se desenvolvem nas raízes das plantas testadas em relação a uma variedade suscetível padrão (Lee 74), em casa de vegetação. Quando o fator de reprodução é inferior a 10% em relação à variedade suscetível padrão, a

cultivar de soja é considerada resistente. Se o fator de reprodução for superior a 10% e inferior a 30%, a cultivar é considerada moderadamente resistente. Um fator variando entre 30% e 60%, a cultivar é considerada moderadamente suscetível e se for superior a 60% é considerada suscetível (Schimitt & Shannon, 1992).

A incorporação da resistência tem sido realizada com a seleção de linhagens, a partir de populações originárias de hibridizações entre genótipos adaptados e cultivares norte-americanas resistentes de “Peking” (Sharkey, Forrest, Centennial, Padre, Stonewall, Kirby, Custer, Gordon, Thomas, etc); e/ou das PI's 88788 (Bedford, Leflore, Linford, Fayette, Epps, Nathan, Avery, etc), 90763 (Cordell) e 437654 (Hartwing) (Dias et al., 2007).

Em cultivares resistentes, os juvenis de *H. glycines* são incapazes de estabelecer locais de alimentação nas raízes. Dependendo do tipo ou da fonte de resistência, o ponto de alimentação pode deteriorar-se muito rapidamente ou alguns dias após a infecção. No entanto, o resultado final é o mesmo, os juvenis morrem de fome dentro do tecido da raiz (Tylka, 2008).

#### **2.1.4 Razão macho/fêmea de *H. glycines***

A determinação sexual em *H. glycines* é de fundamental importância, pois são as fêmeas que causam maiores danos a cultura da soja. Em condições ideais machos e fêmeas de *H. glycines* ocorrem na proporção de 1:1 (Endo, 1965; Koliopanos & Triantaphyllou, 1972; Luedders, 1987; Halbrendt et al., 1992). A determinação do sexo dos indivíduos dessa espécie está sob forte controle genético, sendo o sexo determinado ainda no zigoto e não por condições ambientais durante o desenvolvimento do juvenil. Condições de estresse podem refletir em uma maior mortalidade de determinado sexo e conseqüentemente em uma razão sexual diferente de 1:1 (Koliopanos & Triantaphyllou, 1972). A maioria dos relatos de um desbalanço nessa proporção sexual está relacionada à morte diferencial de fêmeas (Evans & Fox, 1977).

Diversos fatores podem afetar a proporção sexual de *Heterodera* spp. Koliopanos & Triantaphyllou (1972), em experimentos avaliando a densidade de inóculo de *H. glycines*, observaram que em altas densidades de inóculo o número de indivíduos do sexo masculino é maior sobre os indivíduos do sexo feminino. Em plantas inoculadas com

5000 ovos e juvenis de 2º estágio o número de machos era significativamente maior e a proporção obtida diferente de 1:1, indicando uma maior mortalidade de fêmeas.

Stelle (1975), em experimentos realizados com tomate e beterraba inoculados com *H. schachtii*, observou a influência da densidade de inóculo no desenvolvimento de machos e fêmeas. Densidades ligeiramente altas favoreceram o desenvolvimento de indivíduos do sexo masculino, enquanto que em densidades extremamente altas, o desenvolvimento tanto de machos como de fêmeas é influenciado, possivelmente em função da escassez de alimento.

Evans & Fox (1977) também avaliaram a influência da densidade de inóculo na proporção sexual e concluíram que em todas as densidades de inóculo utilizadas nos experimentos, uma maior proporção de indivíduos do sexo masculino de *H. glycines* foi obtida. Estes resultados contrastaram com os já obtidos indicando que os fatores ambientais podem influenciar a embriogênese e, conseqüentemente, a determinação sexual.

A temperatura é uma variável que também pode influenciar a relação macho/fêmea. Melton et al. (1986), em experimentos avaliando o efeito da temperatura sobre a proporção macho/fêmea em plantas de feijão e soja, observaram que, em baixas temperaturas, o desenvolvimento de indivíduos do sexo masculino é favorecido enquanto que em altas temperaturas o desenvolvimento de fêmeas é acrescido. Temperaturas em torno de 16°C a 20°C favorece o desenvolvimento de machos de *H. glycines* enquanto que temperaturas variando de 28°C a 32°C favorece o desenvolvimento de fêmeas.

O estado nutricional do hospedeiro também é um fator que pode influenciar na proporção sexual. A maior concentração de determinado nutriente ou substância pode favorecer ou inibir a formação dos sincícios. Grundler et al. (1991) realizaram experimentos para testar se a determinação sexual em *H. schachtii* é controlada por fatores genéticos ou ambientais. Os resultados forneceram evidências de que em condições favoráveis a maioria dos juvenis se desenvolve como fêmeas. Quando ocorre diminuição de nutrientes (proteínas e aminoácidos), o desenvolvimento de indivíduos do sexo feminino é prejudicado.

A resistência genética das cultivares é outro fator de extrema importância que influencia sensivelmente a proporção sexual. Nas cultivares de soja resistentes, em que a degeneração do sincício ocorre de quatro a cinco dias após a infecção, um pequeno desenvolvimento de indivíduos do sexo masculino é observado (Endo, 1965). Luedders (1987) observou que os genes de resistência à *H. glycines* podem afetar machos e fêmeas

de modo diferenciado, como evidenciado na PI 88788, que parece não influenciar o desenvolvimento de machos. No entanto, para PI 89772 e cultivares Williams, Peking, Forrest e Pickett 71, a formação de fêmeas foi alterado, apresentando um maior número de indivíduos do sexo masculino.

Halbrendt et al. (1992) não observaram alteração na razão macho/fêmea para PI 209332. No entanto, nesse mesmo estudo, verificou que o desenvolvimento de indivíduos do sexo masculino é severamente alterado nas cultivares PI 89772 e Pickett. É interessante ressaltar que a resistência da PI 209332 afeta o desenvolvimento de J3 e J4, enquanto a cultivar Pickett afeta o desenvolvimento de J2 e J3. Na PI 89772, todos os estádios juvenis são afetados. Em função dos machos de *H. glycines* se alimentarem somente nos estádios J2 e J3, as fontes de resistência que afetam as últimas fases juvenis do ciclo do nematóide (J3 e J4), influenciam muito pouco na formação de machos.

Colgrove & Niblack (2005), em experimentos avaliando a influência das fontes de resistência na proporção e determinação sexual, obtiveram proporções de machos e fêmeas de 1:1 para as PI's 548402, 90763, 437654 e 89772, e números mais altos de machos para as PI's 88788, 209332 e 547316. Observaram também que a maior proporção de indivíduos do sexo masculino ocorreu em função da morte diferencial de machos e fêmeas, o que contribui para a hipótese que a determinação sexual seja uma característica genética não influenciada pelos fatores ambientais.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em condições de casa de vegetação, na Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás (EA/UFG), 16°35'47.36"S; 49°16'48.01"O; altitude 726 m, utilizando cultivares comerciais de soja suscetíveis ao fitonematóide *H. glycines*: BRSGO Araçu, BRSGO Jataí, BRSGO Luziânia, BRS Favorita RR, BRS Valiosa RR, BRS Silvânia RR e as cultivares resistentes: BRSGO Ipameri e BRSGO Chapadões. Durante o período de condução dos experimentos, foi coletada, diariamente, a temperatura média da Estação Evaporimétrica de Goiânia, localizada na EA/UFG.

#### 3.1 OBTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO

A população de *H. glycines*, raça 14, utilizada nos experimentos, foi obtida de campo naturalmente infestado, do município goiano de Campo Alegre. A multiplicação desse inóculo foi feita com o cultivo da cultivar suscetível BRSGO Luziânia em solo contendo mistura de solo com cistos do nematóide e o solo estéril em casa de vegetação.

No momento da montagem dos experimentos, o solo dos vasos que ouve a multiplicação do inóculo, foi misturado com substrato estéril contendo areia e solo, na proporção de 1:1. Esse volume total de solo foi utilizado para encher os vasos dos experimentos conduzidos em 2007 e 2008.

Para a quantificação do inóculo do solo colocado em cada vaso foram utilizadas três amostras de 100 cm<sup>3</sup> de solo. Cada alíquota de 100 cm<sup>3</sup> foi colocada em um copo de Becker de 2 L de capacidade e acrescentados 1.000 mL de água. Após agitação e decantação por 30 s, a suspensão, contendo os cistos, passou por um conjunto de peneiras de 20 mesh sobre 60 mesh, sendo essa operação repetida por três vezes. O material retido na peneira de 60 mesh foi recolhido com auxílio de jatos de água de uma pisseta em um copo de Becker e a suspensão vertida em papel de filtro sobre calha telada (Andrade et al., 1995). Posteriormente, o número de cistos foi quantificado sob microscópio estereoscópico com aumento de 15x.

A determinação do número de ovos por cistos foi efetuada rompendo-se dez cistos, coletados aleatoriamente de cada amostra, em peneiras de 100 mesh sobre 400 mesh, com o auxílio de um bastão de vidro. Após a lavagem em água corrente, os ovos retidos na peneira de 400 mesh, foram recolhidos e quantificados em câmara de Peters sob microscópio óptico com aumento de 50x.

### 3.2 O EXPERIMENTO DO ANO DE 2007

O ensaio foi conduzido nos meses de março e abril de 2007, em delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e cinco repetições. Sementes das oito cultivares de soja foram pré-germinadas em germinador tipo B.O.D. e quatro plântulas transplantadas para vasos de cerâmica, com capacidade para 1,4 L, contendo solo naturalmente infestado, com uma população inicial média de 157 cistos do nematóide por 100 cm<sup>3</sup>, com uma média de 425 ovos por cisto.

Os vasos contendo as plantas de soja foram mantidos imersos em areia sobre bancada para evitar extremos de umidade e temperatura. Dez dias após o transplântio, duas plantas foram retiradas dos vasos e levadas ao sistema hidropônico, onde foram mantidas por 19 dias, para se proceder a coleta de machos de *H. glycines*. As demais plantas permaneceram nos vasos até completarem trinta dias, e em seguida, foram retiradas para se realizar a avaliação do número de fêmeas presentes no sistema radicular e do número de ovos por fêmea.

### 3.3 O EXPERIMENTO DO ANO DE 2008

O ensaio foi conduzido nos meses de janeiro e fevereiro de 2008, em delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições. As sementes das oito cultivares foram pré-germinadas em areia esterilizada em casa de vegetação e seis plântulas foram repicadas para vasos de cerâmica, de 1,4 L de capacidade, contendo solo naturalmente infestado, com uma população inicial média de 118 cistos por 100 cm<sup>3</sup>, com uma média de 150 ovos por cisto.

Os vasos também foram mantidos imersos em areia e, dez dias após o transplântio, duas plantas foram retiradas e levadas ao sistema hidropônico para coleta de machos. No dia seguinte, mais duas plântulas foram retiradas e coloridas, utilizando a

técnica de coloração de nematóides em tecido vegetal (Byrd et al., 1983), para quantificação de juvenis e determinação da taxa de sobrevivência. As outras duas plantas permaneceram nos vasos até completarem 32 dias após o transplântio, quando então se procedeu a avaliação do número de fêmeas e de ovos por fêmea.

### 3.4 SISTEMA HIDROPÔNICO

O sistema hidropônico foi montado utilizando garrafas pet de 500 mL e um compressor de ar ajustado a pressão de 40 PSI, com finas mangueiras ligadas às garrafas para manter a oxigenação constante da água. As coletas foram iniciadas 10 dias após a montagem do sistema, sendo realizadas quatro coletas em intervalos de três dias. A água retirada das garrafas era colocada em frascos de vidros, de igual capacidade das garrafas, e levados ao laboratório para decantar, por duas horas.

Os machos de *H. glycines* deixam as raízes e ficam dispersos na água em borbulhamento. Após o período de decantação, o volume de água foi reduzido, com o auxílio de uma bomba a vácuo, para cerca de 20 mL. A suspensão obtida foi então homogeneizada e retirou-se uma alíquota para observação e contagem de machos na câmara de Peters. Cada amostra foi submetida a três contagens sob microscópio óptico (aumento de 50x) para obtenção do valor médio.

### 3.5 QUANTIFICAÇÃO DE FÊMEAS NOS DOIS EXPERIMENTOS

Para avaliação do número de fêmeas, as duas plantas que permaneceram nos vasos foram retiradas, levadas ao laboratório e as raízes lavadas, sob jato forte de água, sobre um conjunto de peneiras de 20 mesh e 60 mesh. O material retido na peneira de 20 mesh foi descartado e o retido na peneira de 60 mesh foi recolhido e vertido em papel de filtro sobre uma calha telada (Andrade et al., 1995). O papel de filtro foi levado ao microscópio estereoscópico (aumento de 15x) para contagem do número de fêmeas. Após a quantificação, dez fêmeas foram separadas aleatoriamente e rompidas em uma peneira de 100 mesh sobre outra de 400 mesh. A suspensão contendo os ovos, retida na peneira de 400 mesh, foi colocada em um copo de Becker de 50 mL de capacidade. A suspensão foi homogeneizada e os ovos presentes em uma alíquota de 1 mL foram quantificados sob microscópio óptico (aumento 50x), com auxílio da câmara de Peters. A operação de

contagem do número de ovos foi repetida por três vezes e calculada a média dos valores encontrados.

### 3.6 QUANTIFICAÇÃO DE CISTOS NOS DOIS EXPERIMENTOS

No momento da retirada das plantas de soja dos vasos, foi retirada uma alíquota de 100 cm<sup>3</sup> de solo para realizar a quantificação dos cistos presentes na rizosfera das plantas. O solo retirado foi colocado em um copo de Becker, de 2 L de capacidade, onde foi adicionada água e a suspensão obtida foi deixada decantar por trinta segundos, sendo em seguida vertida, em uma peneira de 20 mesh sobre 60 mesh. Esse processo foi realizado três vezes e o retido na peneira de 60 mesh foi filtrado em papel de filtro sobre uma calha telada (Andrade et al., 1995). O papel de filtro foi levado ao microscópio estereoscópico (aumento de 15x) para contagem do número de cistos. Após a quantificação, dez cistos foram separados aleatoriamente e rompidos em uma peneira de 100 mesh sobre outra de 400 mesh. A suspensão contendo ovos retidos na peneira de 400 mesh foi colocada em um copo de Becker de 50 mL de capacidade. A suspensão foi homogeneizada e os ovos presentes foram quantificados sob microscópio óptico (aumento 50x), com auxílio da câmara de Peters. A operação de contagem do número de ovos foi repetida por três vezes e calculada a média dos valores encontrados.

### 3.7 CÁLCULO DA TAXA DE SOBREVIVÊNCIA

Para cálculo da taxa de sobrevivência, as raízes foram coradas com a técnica que emprega o clareamento com NaOCl e coloração com fuccina ácida (Byrd et al., 1983). Os fragmentos radiculares foram embebidos, por quatro minutos, em uma solução a 1,5% de NaOCl, sendo posteriormente drenados e lavados para retirar todo o hipoclorito de sódio, e permaneceram embebidos em água por quinze minutos. Em seguida, adicionou-se uma gota de corante em cerca de 30 mL de água e o material levado a fervura. O corante foi preparado diluindo-se 3,5 g de fuccina ácida em 250 mL de ácido acético (99,7%) e 750 mL de água destilada. Após a fervura, por aproximadamente trinta segundos, os fragmentos radiculares foram drenados, deixados esfriar para evitar a formação de bolhas dentro do tecido radicular, e lavados em água corrente, para retirar o excesso de corante. Em seguida foram colocados para clarear em glicerina acidificada com duas gotas de ácido



clorídrico e levados a fervura. Após o clareamento, os fragmentos foram colocados em glicerina e armazenados em geladeira até a quantificação.

As raízes coloridas foram colocadas em placas de Petri e o número de juvenis foram quantificados sob microscópio estereoscópico (aumento de 15x). O número de juvenis nas raízes coradas e o número de fêmeas presentes nos sistemas radiculares das plantas mantidas nos vasos foram utilizados para calcular a taxa de sobrevivência.

$$\text{Taxa de sobrevivência} = \frac{\text{fêmeas presentes no sistema radicular}}{\text{número de juvenis nas raízes coradas}} \times 100$$

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos dos experimentos foram submetidos à análise de variância e, quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico “Sisvar”. O teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) foi usado para verificar a hipótese de que os machos de *H. glycines* perfazem 50% da população de adultos.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dois experimentos conduzidos observou-se diferença estatística entre as cultivares suscetíveis estudadas para o número de fêmeas de *H. glycines* nas raízes (Tabelas 1 e 2). No ano de 2007 (Tabela 1), observou-se, em geral, maiores números de fêmeas do que no experimento conduzido no ano de 2008 (Tabela 2). Isto se explica pela concentração do inóculo inicial que foi maior no experimento 1, e também pela condição do inóculo que, por ter sido trazido do campo a menos tempo, geralmente apresenta maior virulência, que inóculo mantido por varias gerações em casa de vegetação.

**Tabela 1.** Número de adultos fêmeas e machos, número de ovos por fêmea e relação sexual de *H. glycines*, em experimento conduzido nem março e abril de 2007.

Cultivares de Soja	Nº Fêmeas <sup>1</sup>	Nº Ovos/Fêmea	Nº Machos <sup>1</sup>	Relação Macho/Fêmea
BRS Valiosa RR	1184 c	183 b	839 b	0.71*
BRSGO Luziânia	528 b	285 c	818 b	1.55*
BRSGO Jataí	467 b	217 b	1003 b	2.15*
BRS Silvânia RR	401 b	231 c	334 a	0.83
BRSGO Araçá	304 b	178 b	879 b	2.88*
BRS Favorita RR	270 b	248 c	212 a	0.78
BRSGO Chapadões	19 a	36 a	51 a	2.74*
BRSGO Ipameri	3 a	15 a	201 a	62.98*
CV (%)	50,5	28,4	72,9	

<sup>1</sup> Número de fêmeas e machos produzidos por duas plantas. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente (Scott-Knott  $P < 0,05$ ).

\* = razão sexual diferente de 1:1 (Teste de  $\chi^2$  a  $\alpha = 0,05$ )

Em ambos os experimentos, as cultivares comerciais reconhecidas resistentes ao *H. glycines*, raça 14, BRSGO Ipameri e BRSGO Chapadões, confirmaram o comportamento esperado sendo observados os mais baixos números de fêmeas e também de ovos por fêmea (Tabelas 1 e 2). As demais cultivares mantiveram o seu comportamento de suscetibilidade ao nematóide. Entretanto, as cultivares suscetíveis foram divididas em dois grupos, de acordo com o teste de Scott-Knott, aplicado para o número de fêmeas, grupos estes que não foram os mesmos nos anos de 2007 e 2008. Em 2007, a cultivar

BRSGO Valiosa RR obteve o mais elevado número de fêmeas, diferindo estatisticamente das demais cultivares suscetíveis. Já em 2008, as cultivares BRSGO Luziânia e BRS Favorita RR foram as que obtiveram os maiores números de fêmeas. É importante ressaltar que no ano de 2008 a cultivar BRSGO Araçu apresentou mais baixo número de fêmeas, sendo equiparada às cultivares resistentes (Tabela 2). Isto indica que as condições climáticas durante a condução dos ensaios podem variar muito de um ano para outro interferindo na confiabilidade e consistência dos resultados.

**Tabela 2.** Número de adultos fêmeas e machos, número de ovos por fêmea, relação sexual e taxa de sobrevivência de *H. glycines*, em experimento conduzido em janeiro e fevereiro de 2008.

Cultivares de Soja	Nº Fêmeas <sup>1</sup>	Nº Ovos/Fêmea	Nº Machos <sup>1</sup>	Relação Macho/Fêmea	Taxa de
					Sobrevivência (%) <sup>2</sup>
BRSGO Luziânia	231 c	261 b	435	1.88*	35.00 b
BRS Favorita RR	213 c	264 b	1048	4.91*	26.25 b
BRS Valiosa RR	132 b	250 b	942	7.14*	10.25 a
BRSGO Jataí	118 b	195 b	627	5.32*	8.17 a
BRS Silvânia RR	116 b	262 b	866	7.46*	12.25 a
BRSGO Araçu	76 a	163 b	840	11.06*	6.75 a
BRSGO Ipameri	1 a	14 a	970	970.75*	0 a
BRSGO Chapadões	0 a	0 a	248	248.5/0*	0 a
CV (%)	49,8	53	52,8		84,8

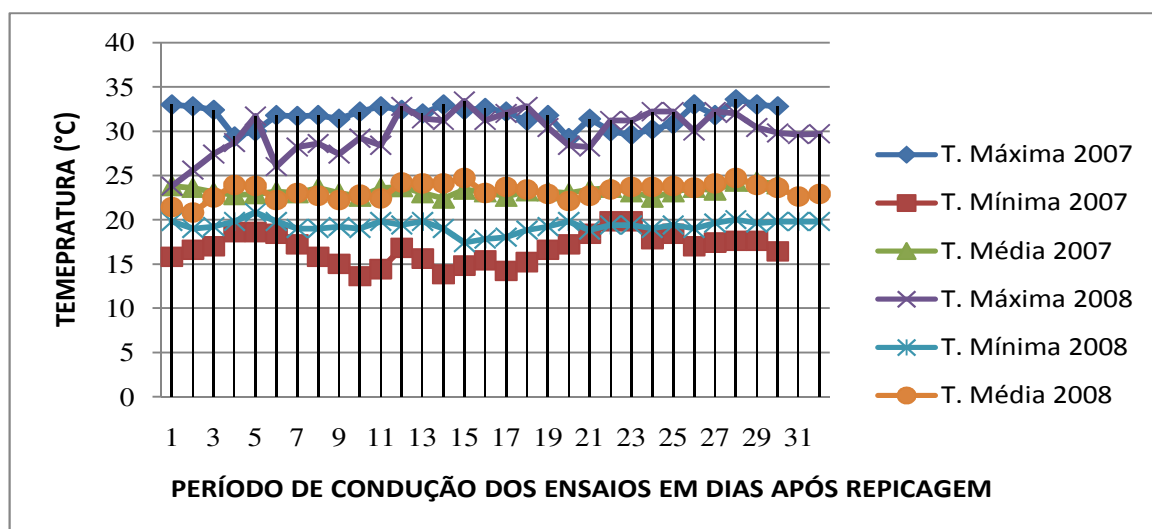
<sup>1</sup> Número de fêmeas e machos produzidos por duas plantas. Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente (Scott-Knott  $P < 0,05$ ).

<sup>2</sup> Taxa de sobrevivência (número de fêmeas presentes no sistema radicular / número de juvenis nas raízes coradas) x 100.

\* = razão sexual diferente de 1:1 (Teste de  $\chi^2$  a  $\alpha = 0,05$ )

Ao comparar as temperaturas ambientais no período de condução dos ensaios é notável que o experimento conduzido no ano de 2007 sofreu uma maior variação que o experimento conduzido em 2008 (Figura 1). É interessante ressaltar que mesmo em condições controladas a temperatura externa à casa de vegetação influencia a temperatura no interior e essa variação pode ter interferido na infecção, no desenvolvimento e mesmo na reprodução do nematóide. No experimento conduzido em 2008, as temperaturas mínimas foram relativamente altas quando comparadas com as registradas em 2007. Essas

altas temperaturas podem ter influenciado no processo de penetração e infecção do nematóide e mesmo na mortalidade dos ovos. Slack et al. (1972) contataram que temperaturas do solo superiores a 24°C afetam sensivelmente a sobrevivência do nematóide de cisto da soja. Já, Alston & Schimitt (1988) observaram que à medida que ocorre o aumento da temperatura, acima de 20°C, ocorre um aumento da mortalidade de ovos de *H. glycines*, sendo essa mortalidade máxima, quando a temperatura atinge cerca de 36°C.



**Figura 1.** Variações de temperatura da Estação Evaporimétrica de Goiânia, localizada na EA/UFG, no período de condução dos experimentos nos anos de 2007 e 2008.

Elevado número de machos de *H. glycines* foram recuperados das raízes das plantas conduzidas em sistema hidropônico nos dois experimentos (Tabelas 1 e 2). Em 2007, as cultivares foram divididas em dois grupos de acordo com a intensidade de infecção. No primeiro grupo, com menor número de machos, encontram-se as cultivares resistentes BRSGO Chapadões e BRSGO Ipameri, e as cultivares BRS Favorita RR e BRS Silvânia RR suscetíveis. No segundo grupo, as cultivares com maior intensidade de infecção BRSGO Jataí, BRSGO Araçu, BRS Valiosa RR e BRSGO Luziânia (Tabela 2).

Em 2008, não houve diferença estatística para a variável número de machos. Apesar do alto número de indivíduos do sexo masculino encontrado na cultivar BRS Favorita RR, 1.048 machos por dois sistemas radiculares, quando comparado com a cultivar BRSGO Chapadões, 248 machos por dois sistemas radiculares, esses valores não diferiram estatisticamente, indicando que não houve diferença com relação ao número de

machos coletados para as oito cultivares avaliadas. No entanto, em 2007, a cultivar BRS Favorita RR apresentou um dos mais baixos números de machos, ficando agrupada com a cultivar BRSGO Chapadões. Dessa forma, os resultados obtidos mais uma vez demonstram que as condições de condução dos ensaios podem influenciar sensivelmente nos resultados.

A resistência genética ao nematóide de cisto da soja influenciou o número de indivíduos do sexo masculino. A cultivar BRSGO Chapadões, apresentou menor número de machos nos dois experimentos (2007 e 2008), embora não significativo no ano de 2008. No entanto, a cultivar BRSGO Ipameri, que também é resistente a *H. glycines*, raça 14, apresentou maiores números de machos neste mesmo ano. Essa diferença em valores provavelmente ocorre em função da fonte de resistência de cada uma das cultivares. A cultivar BRSGO Chapadões tem sua fonte de resistência ao *H. glycines* proveniente da PI 437654 enquanto que a cultivar BRSGO Ipameri tem sua fonte de resistência oriunda da PI 88788 (Dias et al., 2007). Estudos realizados por Luedders (1987) e Colgrove & Niblack (2005) demonstraram que a PI 88788 obtém maiores proporções de machos que a PI 437654, em função da mortalidade diferenciada de machos e fêmeas.

Halbrendt et al. (1992) também verificaram a ação da fonte de resistência sobre o desenvolvimento de indivíduos do sexo masculino, o que confirma os resultados encontrados para as duas cultivares resistentes ao *H. glycines* avaliadas nos ensaios. Em seus estudos, confirmaram que a resistência que afeta o desenvolvimento de J3 e J4, como a proveniente da PI 209332, proporciona um maior desenvolvimento de machos do nematóide que as fontes de resistências que afetam os estádios J2 e J3, como a proveniente da Pickett. Esse fato ocorre em função do período de alimentação dos indivíduos do sexo masculino. Machos de *H. glycines* se alimentam somente nos estádios J2 e J3 enquanto que as fêmeas se alimentam de J2 até a fase adulta (Endo, 1964; 1965). Dessa forma, as fontes de resistência que não agem nos primeiros estádios de desenvolvimento do nematóide acarretam uma menor mortalidade de indivíduos do sexo masculino.

A relação encontrada entre machos e fêmeas só não deferiu, segundo o teste de  $\chi^2$  (5%), em 2007, para as cultivares BRS Favorita RR e BRS Silvânia RR, indicando que nessas cultivares, a proporção de machos e fêmeas presentes é próxima a 50% (Tabela 1). Para as demais cultivares, em 2007, a proporção entre machos e fêmeas variou de 1,55 a 62,98, e em 2008 de 1,88 a 970,75. É interessante ressaltar que, no segundo ensaio, para a

cultivar BRSGO Chapadões não foi possível calcular a relação entre machos e fêmeas uma vez que não foram encontradas fêmeas nos sistemas radiculares das plantas avaliadas.

Esperava-se encontrar em todas as cultivares suscetíveis uma proporção de machos e fêmeas de 1:1, já que segundo Luedders (1987), Halbrecht et al. (1992) e Colgrove & Niblack (2005), a resistência é um dos fatores de estresse que inibe o desenvolvimento de fêmeas de *H. glycines*. De um modo geral, o número de machos encontrados, principalmente nas cultivares reconhecidamente resistentes, foram superiores ao de fêmeas. Koliopanos & Triantaphyllou (1972) observaram que em maiores densidades populacionais ocorria uma tendência na formação de mais indivíduos do sexo masculino que do sexo feminino, principalmente em inoculações com 5.000 ovos e J2. Considerando que as populações iniciais no substrato utilizado foi superior a 5.000 ovos e J2, é esperada a obtenção de maiores números de machos de *H. glycines*. Stelle (1975), avaliando o desenvolvimento de machos e fêmeas de *H. schachtli*, também observou que densidades ligeiramente altas favoreceram o desenvolvimento de indivíduos do sexo masculino.

As plantas que foram utilizadas para avaliação do número de fêmeas permaneceram nos vasos, com solo naturalmente infestado, até completarem seu ciclo. Dessa forma, era esperado maior número de fêmeas pois a infecção poderia ter continuado a ocorrer ao longo do período com as raízes disponíveis. No entanto, isso não foi verificado nos dois ensaios conduzidos em 2007 e 2008. Como esses vasos continham solo naturalmente contaminado, trazido do campo, apesar da adição de areia esterilizada, pode ter ocorrido a ação de microrganismos antagonistas ao nematóide, impedindo o sucesso do processo infeccioso. Araujo et al. (2002) avaliaram a ação da bactéria *Bacillus subtilis* sobre o *H. glycines*, e observou que o tratamento de raízes de soja com esse microrganismo inibiu a migração de juvenis do nematóide. Por essa bactéria ser encontrada naturalmente no solo, é possível que estes microrganismos ou outros antagonistas ao nematóide tenham ocorrido no substrato diminuindo a ação de *H. glycines*.

Zhang et al. (2008) constataram que o fungo *Hirsutella rhossiliensis* também tem se mostrado importante antagonista ao nematóide de cisto da soja. Esse fungo, que é encontrado naturalmente no solo, quando presente, diminui sensivelmente o número de J2. Em seus estudos verificaram que o solo inoculado com *H. rhossiliensis* tinha, em média, dez vezes menos J2 de *H. glycines*, o que demonstra que em condições naturais, as populações do nematóide podem ser influenciadas por microrganismos presentes no solo.

A taxa de sobrevivência, realizada somente no experimento conduzido em 2008, variou de 0% a 35,0% (Tabela 2). Todos os sistemas radiculares foram infectados pelo nematóide, no entanto, as fêmeas só se desenvolveram nos sistemas radiculares de cultivares suscetíveis. Em ambas as cultivares resistentes, a taxa de sobrevivência foi igual a zero, valores estes próximos aos encontrados por Colgrove & Niblack (2005) para as diferenciadoras PI 88788 e PI 437654. Já, as cultivares suscetíveis obtiveram taxas de sobrevivência variando 6,75% a 35,00%. Esses valores corroboram os já encontrados por Evans & Fox (1977) e Colgrove & Niblack (2005) para a cultivar de soja utilizada como padrão de suscetibilidade Lee. Colgrove & Niblack (2005) encontraram taxas de sobrevivência variando de 41% a 112,0% para as diversas fontes de resistência testadas em seus experimentos. Halbrecht et al. (1992) relatam uma taxa de mortalidade variando entre 23% e 51% e afirmam ser normal uma alta porcentagem de mortalidade de juvenis.

Com relação ao número de cistos em 100 cm<sup>3</sup> de solo, no primeiro experimento, a única cultivar que diferiu, no teste de Scott-Knott (5%), foi a BRSGO Jatá (Tabela 3). No segundo experimento, as cultivares não diferiram com relação ao número de cistos presentes na rizosfera das plantas. Com relação ao número de ovos por cisto, os valores quantificados variaram bastante, em ambos os experimentos, sendo que a resistência não influenciou nas médias encontradas.

O fato de não ter ocorrido diferença entre cultivares resistentes e suscetíveis com relação ao número de cistos ocorreu em função do curto período em que as plantas permaneceram nos vasos, 30 dias no primeiro experimento e 32 no segundo. O ciclo de vida do nematóide de cisto da soja, em temperaturas variando entre 23°C a 25°C dura cerca de 21 dias a 25 dias (Lauritis et al., 1983; Young, 1992). Dessa forma, o período em que as plantas permaneceram no solo não foi suficiente para formação dos cistos e diferenciação quanto à resistência. Por outro lado, é importante ressaltar que as plântulas de soja foram repicadas para solo naturalmente infestado, podendo os cistos quantificados serem remanescentes da população inicial do solo. Cunha et al. (2008), avaliando o ciclo de *H. glycines*, raça 9, em condições de casa de vegetação, concluíram que o ciclo de vida desse nematóide tem duração aproximada de 29 dias e que o surgimento dos primeiros cistos ocorreu somente 32 dias após a inoculação. O número de ovos por cisto também não foi influenciado pela resistência das cultivares, o que corrobora a hipótese dos cistos presentes, em grande parte, serem oriundos da população inicial, uma vez que o número de ovos por fêmea, nas cultivares resistente, sofreu uma forte redução.

**Tabela 3.** Número de cistos e ovos por cistos em experimentos conduzidos no ano de 2007 e 2008.

Cultivares de Soja	Experimento 2007		Experimento 2008	
	Cistos/100 cm <sup>3</sup> solo	Ovos/Cistos	Cistos/100 cm <sup>3</sup> solo	Ovos/Cistos
BRSGO Jataí	33 a	214 c	18 a	86 a
BRSGO Luziânia	102 b	168 c	19 a	124 a
BRSGO Araçu	21 a	102 b	13 a	29 a
BRS Favorita RR	14 a	128 b	15 a	308 b
BRS Valiosa RR	28 a	99 b	14 a	120 a
BRS Silvânia RR	17 a	93 b	24 a	72 a
BRSGO Ipameri	9 a	8 a	7 a	44 a
BRSGO Chapadões	24 a	192 c	101 a	26 a
CV (%)	124,9	47,7	61,2	78,7

Médias seguidas das mesmas letras não diferem estatisticamente (Scott-Knott  $P < 0,05$ ).



## 5 CONCLUSÃO

O desenvolvimento de machos de *H. glycines* não se dá na mesma proporção que o desenvolvimento de fêmeas em uma mesma cultivar de soja, seja ela resistente ou suscetível.

Em cultivares de soja resistentes a *H. glycines* há inibição do desenvolvimento de fêmeas, sem que o desenvolvimento de machos esteja relacionado.

O número de machos é uma variável adequada para avaliação de genótipos de soja.

## 6 REFERÊNCIAS

- ANAND, S. C. Registration of soybean germplasm line S88-2036 having multiple-race soybean cyst nematode resistance. **Crop Science**, Madison, v. 31, n. 3, p. 856, out. 1991.
- ANDRADE, P. J. M.; ASMUS, G. L. Disseminação do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) pelo vento durante o preparo de solo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 1, p. 98-99, 1997.
- ARANTES, N. E.; ALMEIDA, L. A.; KIIHL, R. A. S. Cultivar de soja MG/BR-54 (Renascença): descrição e comportamento em Minas. In: **REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 19, 1997**. Jaboticabal: Ata e Resumos, Londrina: Embrapa – Soja, 1997, p. 244.
- ARANTES, N. E.; KIIHL, R. A. S.; ALMEIDA, L. A. Melhoramento genético visando à resistência. In: Sociedade Brasileira de Nematologia. **O nematóide de cisto da soja: a experiência brasileira/SBN - Sociedade Brasileira de Nematologia**. Jaboticabal: Artsigner Editores, 1999. p. 105-117.
- ARAÚJO, F. F.; SILVA, J. F. V.; ARAÚJO, A. F. S. Influência de *Bacillus subtilis* na eclosão, orientação e infecção de *Heterodera glycines* em soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 197-202, 2002.
- ASSUNÇÃO, M. S.; ATIBALENTJA, N.; NOEL, G. R. Soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*, resistance genes in PI 89772 and PI 209332 soybean. **Nematropica**, Gainesville, v. 34, n. 2, p. 166-182, dez. 2004.
- ALSTON, D. G.; SCHIMITT, D. P. Development of *Heterodera glycines* life stages as influenced by temperature. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 20, n. 3, p. 366-372, 1988.
- BYRD, D. W.; KIRPATRICK, T.; BARKER, K. R. An improved technique for clearing and staining plant tissue for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 15, n. 1, p. 142-143, 1983.
- CARES, J.E.; BALDWIN, J.G. Nematóides formadores de cistos do gênero *Heterodera*. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo: (RAPP Ltda), v. 3, p. 29-84, 1995.

COLGROVE, A. L.; NIBLACK, T. L. 2005. The effect of resistant soybean on male and female development and adult sex ratios of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 37, n. 2, p. 161-167, 2005.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira**. Disponível em:  
<[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/11\\_levantamento\\_ago2009.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/11_levantamento_ago2009.pdf)>.  
Acesso em: 20 ago. 2009.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Biologia e controle do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). In: **Resultados de pesquisa da Embrapa Soja 2003: ecofisiologia, biologia molecular e nematóides**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. p. 32-37.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; GARCIA, A.; CARNEIRO, G. E. S. Nematóides de importância para a soja no Brasil. In: **Boletim de Pesquisa de Soja 2007**. Rondonópolis: Fundação MT, 2007. n.11, p.173-184.

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2005. **Manual de identificação de doenças de soja**. Londrina, Embrapa – Soja. 2005. 72 p. (Documentos número 256).

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2006. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2007**. Londrina, Embrapa – Soja. 2006. 225 p. (Sistemas de Produção 11).

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2007. **O complexo agroindustrial da soja brasileira**. Londrina, Embrapa – Soja. 2007. 12 p. (Circular Técnica 43).

EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2008. **Tecnologias de produção de soja região central do Brasil 2008**. Londrina, Embrapa - Soja, 2008. 282 p. (Sistemas de Produção 12).

ENDO, B. Y. Penetration and development of *Heterodera glycines* in soybean roots and related anatomical changes. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 54, p. 79-88, 1964.

ENDO, B. Y. Histological responses of resistant and susceptible soybean varieties, and backcross progeny to entry and development of *Heterodera glycines*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 55, p. 375-381, 1965.

EVANS, D. M.; FOX, J. A. The sex ratio of *Heterodera glycines* at low population densities. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 9, n. 3, p. 207-210, 1977.

FAO. **Relatório FAO 2005**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 7 ago. 2008.

FRANCL, I. J.; DROPKIN, V. H. **Heterodera glycines population dynamics and relation of initial population to soybean yield**. Disponível em: <<http://www.fao.org/agris/search/display>>. Acesso em: 19 ago. 2008.

GARCIA, A.; SILVA, J. F. V. Interação entre a população de cistos de *Heterodera glycines* e o pH do solo. **Fitopatologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21 (suplemento), p. 420, 1996.

GARCIA, A.; SILVA, J. F. V. Efeito da rotação de culturas na população do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 21, n. 1, p. 3, 1997.

GARCIA, A.; SILVA, J. F. V.; PEREIRA, J. E.; DIAS, W. P. Rotação de culturas e manejo do solo para controle do nematóide de cisto da soja. In: Sociedade Brasileira de Nematologia. **O nematóide de cisto da soja: a experiência brasileira/SBN - Sociedade Brasileira de Nematologia**. Jaboticabal: Artsigner Editores, 1999. p. 55-63.

GARCIA, A.; DIAS, W. P.; ZITO, R. K.; PEREIRA, J. E.; SILVA, J. F. V. Efeito da calagem no controle do NCS, na rotação milho-soja. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 22., 2000, Cuiabá. **Resumos...** Cuiabá: CNPSO, 2000. p. 80-81.

GRUNDLER, F.; BETKA, M.; WYSS, U. Influence of changes in the nurse cell system (syncytium) on sex determination and development of the cyst nematode *Heterodera schachtii*: total amounts of proteins and amino acids. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 81, n. 1, p. 70-74, 1991.

HALBRENDT, J. M.; LEWIS, S. A.; SHIPE, E. R. A technique for evaluating *Heterodera glycines* development in susceptible and resistant soybean. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 24, n. 1, p. 84-91, 1992.

KIM, Y. H.; RIGGS, R. D.; KIM, K. S. Structural changes associated with resistance os soybean to *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 19, n. 2 p. 177-187, abr. 1987.

KIM, K. S.; RIGGS, R. D. Cytopathological reactions of resistant soybean plants to nematode invasion. **Biology and management of the soybean cyst nematode**, Saint Paul: APS Press, 1992, p. 157-168.

KOLIOPANOS, C. N., TRIANTAPHYLLOU, A. C. Effect of infection density on sex ratio of *Heterodera glycines*. **Nematologica**, Bari, v. 18, p. 131-137, 1972.

LIMA, R. D., FERRAZ, S., SANTOS, J. M. Ocorrência de *Heterodera* sp. em soja no Triângulo Mineiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16., Lavras. **Resumos...** Lavras: Sociedade Brasileira de Nematologia / Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1992. p. 81.

LUEDDERS, V. D. Selection against *Heterodera glycines* males by soybean lines with genes for resistance. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 19, n. 4, p. 459-462, 1987.

LORDELLO, A. I., LORDELLO, R. R. A., QUAGGIO, J. A. *Heterodra* sp. reduz produção de soja no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16., Lavras. **Resumos...** Lavras: Sociedade Brasileira de Nematologia / Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1992. p. 81.

MATSON, A. L.; WILLIAMS, L. F. Evidence of a four gene for resistance to soybean cyst nematode. **Crop Science**, Madison, v. 5, p. 477, dez. 1965.

MELTON, T. A.; JACOBSEN, B. J.; NOEL, G. R. Effects of temperature on development of *Heterodera glycines* on *Glycine* maz and *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 18, n. 4, p. 468-474, 1986.

MONTEIRO, A. R., MORAIS, S. R. A. C. (1992). Ocorrência do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura da soja no Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16., Lavras. **Resumos...** Lavras: Sociedade Brasileira de Nematologia / Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1992. p. 82.

NIBLACK, T. L.; ARELLI, P. R.; NOEL, G. R.; OPPERMAN, C.H.; ORF, J.H.; SCHIMITT, D.P.; SHANNON, J.G.; TYLKA, G.L. A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 34, n. 4, p. 279-288, 2002.

PRADO, R. C. O. Soja é alimento e energia. In: **Boletim de pesquisa de soja 2007**. Rondonópolis: Fundação MT, 2007. n. 11, p. 11-14.

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

ROCHA, M. R.; CARVALHO, I.; CORRÊA, G. C.; CATTINI, G. P.; PAOLINI, G. Efeito de doses crescentes de calcário sobre a população de *Heterodera glycines* em soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 36, n. 2, p. 89-94, 2006.

ROCHA, M. R.; CARVALHO, Y.; CORRÊA, G. C.; CUNHA, M. G.; CHAVES, L. J. Efeito da calagem e da adubação potássica sobre o nematóide *Heterodera glycines* (Ichinohe, 1952). **Agrociência**, Montevideo, v. 11, n. 2, p. 31-38, 2007.

SLACK, D.A.; RIGGS, R.D.; HAMBLLEN, M.L. The effect of temperature and moisture on the survival of *Heterodera glycines* in the absence of a host. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 4, n. 4, p. 263-266, 1972.

STEELE, A. E. Population Dynamics of *Heterodera schachtii* on tomato and sugarbeet. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 7, n. 2, p. 105-111, 1975.

TYLKA, G. L. Use of resistance for SCN management. In: **4<sup>th</sup> National Soybean Nematode Conference**. Tampa, p. 11-14, 2008.

VALLE, L. A. C.; FERRAZ, S.; DIAS, W.P.; TEIXEIRA, D.A. Controle do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, com gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 20, n. 2, p. 1-11, dez. 1996.

WRATHER, J. A.; ANAND, S. C.; DROPKIN, V. H. Soybean cyst nematode control. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 68, n. 4, p. 829-833, 1984.

WRATHER, J. A.; ANAND, S. C.; KOENNING, S. R. Management by cultural practices. In: RIGGS, R.D.; WRATHER, J.A. **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul: APS Press, 1992, p. 125-131.

WRATHER, J. A., ANDERSON, T. R., ARSYAD, D. M., GAI, J., PLOPER, L. D., PORTA-PUGLIA, A., RAM, H.H. Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean producing countries in 1994. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 81, n. 1, p. 107-110, 1997.

WRATHER, J. A., KOENNING, S. R. Estimates of disease effects on soybean yields in the United States. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 38, n. 2, p. 173-180, 2006.

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

ZHANG, L.; YANG, E.; XIANG, M.; LIU, X.; CHEN, S. Population dynamics and biocontrol efficacy of the nematophagous fungus *Hirsutella rhossiliensis* as affected by stage of the soybean cyst nematode. **Biological Control**, Boston, v. 47, n. 1, p. 244 – 249, 2008.