

Desenvolvimento de *Heterodera glycines* em cultivares resistentes e suscetível de soja

Development of *Heterodera glycines* in resistant and susceptible soybean cultivars

Valéria Carpentieri-Pípolo^{1*}; Tammy Aparecida Manabe Kiilh²; Waldir Pereira Dias³; Agnelo de Souza⁴; Paulo Henrique Nardon Felici⁵

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o desenvolvimento da raça 3 de *Heterodera glycines* nas cultivares de soja Doko, Liderança e Centennial. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições. Plantas de soja com o primeiro par de folhas desenvolvidas foram inoculadas com 4000 ovos e as avaliações foram realizadas 3, 6 e 10 dias após a inoculação (DAI). Avaliou-se o desenvolvimento do nematóide contando, sob lupa estereoscópica, o número de juvenis por sistema radicular. Nas cultivares resistentes Liderança e Centennial foram encontrados, em todas as épocas, somente juvenis de segundo estágio (J₂). Já na cultivar suscetível Doko foi observada, além de J₂ em todas as épocas, a presença de juvenis de terceiro (J₃) e quarto (J₄) estádios na avaliação 10 DAI. Assim, nas cultivares resistentes Liderança e Centennial o nematóide não completou seu ciclo que foi interrompido por volta do décimo DAI.

Palavras-chave: *Glycine Max*, nematóide de cisto da soja, resistência, melhoramento

Abstract

The objective of this study was to evaluate the development of race 3 of *H. glycines* in susceptible and resistant soybean cultivars. A completely randomized block design with four replications was used for the assessments, which involved Liderança, Centennial and Doko cultivars. Soybean plants with the first pair of leaves developed were inoculated with 4,000 eggs and evaluated 3, 6 and 10 days after the inoculation (DAI). The multiplication of the nematode was assessed by counting the numbers of nematodes per root system using a stereoscopic magnifying glass. The nematode was detected in all treatments but only second phase juveniles (J₂) were found in the resistant cultivars Liderança and Centennial, in all evaluation phases. In the susceptible cultivar Doko, however, J₂ juveniles in all evaluations and J₃ and J₄ 10 DAI were observed. The results indicate that the nematode does not complete its cycle, which was interrupted around the 10th day after inoculation, in the resistant Liderança and Centennial cultivars.

Key words: *Glycine max*, soybean cyst nematode, resistance, plant breeding

¹ Professor Associado do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina- UEL, Londrina, PR. E-mail: pipolo@uel.br

² Eng.^a Agr.^a Mestrando do Programa de Genética e Biologia Molecular- UEL –Londrina, PR

³ Pesquisador da Embrapa- CNPso, Londrina, PR

⁴ Eng. Agr. Doutorando do Programa de Pós Graduação em Agronomia- UEL, Londrina, PR

⁵ Acadêmico do curso de Agronomia da UEL- Londrina, PR

* Autor para correspondência.

O nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, é considerado um dos principais fatores limitantes na cultura da soja, ocasionando perdas estimadas, nos 10 maiores países produtores de soja, de 8,9 milhões de toneladas em 1998 (WRATHER et al., 2001). Pelo sistema de caracterização proposto por Riggs e Schmitt (1988), existem 16 raças de *H. glycines* caracterizadas. No Brasil, desde a primeira ocorrência na safra 1991/92, já foram encontradas 11 raças, sendo as raças 1 e 3 as predominantes. Estima-se que a área afetada com o nematóide seja superior a 2 milhões de ha (EMBRAPA, 2003).

Os métodos de controle do *H. glycines* têm sido a rotação de culturas, o manejo do solo e a utilização de cultivares resistentes. Pelo impacto econômico causado e por ser considerado a forma de controle mais econômica e eficiente, a utilização de cultivares resistentes para o controle desse parasita têm sido implementada em todo o mundo (NIBLACK et al., 2002; EMBRAPA, 2003).

A herança da resistência de soja à raça 3 do nematóide de cisto da soja é complexa e estudos realizados por vários autores (CALDWELL, 1960; RAO-ARELLI; ANAND, 1988 e RAO-ARELLI; ANAND; WRATHER, 1992), nos Estados Unidos, foram encontrados dois ou três genes recessivos e um dominante. Mauro, Oliveira e Mauro (1999), estudando populações derivadas de cruzamentos dos genótipos brasileiros BR 90-4722 e FT-Cristalina, determinaram que a herança da resistência nessa combinação é qualitativa e determinada por três genes, um dominante e dois recessivos.

A resistência da soja ao nematóide de cisto da soja é do tipo “reação de hipersensibilidade”, visto que tecidos afetados se necrosam, impedindo que o nematóide complete seu desenvolvimento. Os juvenis infestantes penetram igualmente em raízes de cultivares resistentes e suscetíveis, porém nas

resistentes, os tecidos do sincício se necrosam e entram em colapso, dessa forma o nematóide morre antes de atingir a fase adulta (SCHMIDT; NOEL, 1984; NOEL, 1992). Observações em cultivares suscetíveis, cultivares resistentes e progênies F₄, parcialmente resistentes, originadas por retrocruzamentos, revelaram similaridade no desenvolvimento dos sincícios entre essas cultivares, entretanto, nas cultivares resistentes os tecidos do sincício tornaram-se necróticos e o nematóide não conseguiu completar o seu ciclo (ENDO, 1964, 1965).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento de juvenis da raça 3 do nematóide de cisto da soja nas cultivares de soja suscetível Doko e nas resistentes Liderança e Centennial. Sementes das cultivares resistentes de soja Liderança e Centennial e da cultivar suscetível Doko (EDENS; ANAND; BOLLA, 1995; ARANTES et al., 2000) foram pré germinadas em rolo de papel toalha em estufa por 3 dias a 20°C. As plântulas originadas foram transplantadas para vasos de argila contendo substrato composto por solo e areia (2:1), esterilizado com brometo de metila, e conduzidas em casa de vegetação no mês de novembro de 2003. O inóculo foi obtido em áreas naturalmente infestadas, no município de Londrina, e multiplicado em tomateiro suscetível cultivar Santa Cruz. A inoculação ocorreu quando as plantas apresentavam o primeiro par de folhas unifolioladas. Foram inoculados 4000 ovos por plântula em orifícios próximos ao colo da planta. As plantas foram avaliadas aos 3, 6 e 10 dias após a inoculação (DAI). Foram quatro repetições para cada época de avaliação. O sistema radicular foi colorido pelo método de Fucsina ácida e o número de juvenis foi contado sob lupa estereoscópica.

A infecção foi eficiente tanto nas cultivares resistentes Centennial e Liderança como na cultivar suscetível Doko.

Tabela 1. Médias de quatro repetições do número de juvenis de *Heterodera glycines* (raça 3) nas cultivares resistentes de soja Centennial e Liderança e na cultivar suscetível Doko.

Cultivares	Dias após inoculação			Média
	3	6	10	
Centennial	101,1 A*	74,0 B	195,0 A	123,3 A
Liderança	51,0 B	128,0 A	43,0 C	74,0 B
Doko	36,0 C	73,0 B	142,0 B	83,67 AB

* Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Os resultados (Tabela 1) mostraram que as cultivares de soja diferiram entre si, na quantidade média de juvenis, em cada uma das avaliações realizadas. Embora as cultivares resistentes Centennial e Liderança tenham diferido entre si quanto a multiplicação dos juvenis, na média das três avaliações, o número de juvenis presentes na cultivar resistente Centennial não diferiu da suscetível Doko. A cultivar resistente Centennial e a suscetível Doko apresentaram, em média, maior número de juvenis; sendo que a cultivar suscetível Doko não diferiu da cultivar resistente Liderança. Handoo e Anand (1993) relatam que tanto nas cultivares resistentes de soja Hartwig e PI 437564 como na suscetível Essex nenhuma barreira fisiológica foi observada nas raízes e o total de juvenis que penetraram nas cultivares resistentes foi similar à cultivar suscetível. A infecção pelo nematóide de cisto da soja também foi semelhante nas cultivares resistentes Forrest e Bedford e na suscetível Lee. Kim, Riggs e Kim (1987) e Endo (1991) confirmaram a mesma taxa de infecção desse nematóide na cultivar resistente PI 88788 como na suscetível Pickett 71.

Mahalingan e Skorupska (1996) relatam que reações de incompatibilidade ao nematóide de cisto da soja foram observadas na cultivar resistente PI 437654 a partir do segundo DAI. Esses autores verificaram limitada hipertrofia de células, inibição do crescimento do sincício e iniciação de necrose sendo que a partir de 3 DAI houve colapso do citoplasma e necrose total das células ao redor do sincício.

Aos 3 e 6 DAI, observou-se nas três cultivares somente juvenis infectivos de 2º estágio (J_2). Diferentemente do trabalho de Mahalingan e Skorupska (1996) a avaliação aos 3 DAI não foi suficiente para identificar fontes de resistência ao *H. glycines*. Aos 6 DAI as cultivares Doko e Centennial não apresentaram diferença significativa quanto ao número de juvenis. A diferença no desenvolvimento do nematóide de cisto da soja nas cultivares suscetível e resistentes ocorreu aos 10 DAI, em que a cultivar suscetível Doko apresentou juvenis de 2º, 3º e 4º estágio, enquanto que as cultivares resistentes Centennial e Liderança apresentaram somente juvenis de 2º estágio.

No feijoeiro comum, Becker, Ferraz e Silva (1999) relatam que no décimo dia da penetração, o sincício desenvolveu-se no interior do cilindro central e que as diferenças entre as cultivares na evolução do sincício deu-se no 15º dia, onde se observou na cultivar suscetível um sincício volumoso com fêmeas bem desenvolvidas, enquanto na cultivar resistente observou-se um sincício de menor volume anexado às células do protoxilema.

Avaliando a biologia da resistência ao nematóide de cisto da soja, Handoo e Anand (1993) relatam que muitos juvenis imaturos foram observados nas cultivares resistentes Hartwig e PI 437654, entretanto nenhuma fêmea madura desenvolveu-se nessas duas linhagens.

A partir dos resultados, no presente estudo, observa-se que diferentemente da cultivar suscetível

Doko, nas cultivares resistentes Liderança e Centennial o ciclo do nematóide de cisto da soja foi interrompido por volta do décimo DAI.

Agradecimentos

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior - CAPES - pelo auxílio financeiro prestado para o desenvolvimento deste trabalho.

Referências

- ARANTES, N.E.; ALMEIDA, L.A.; KIIHL, R.A.S.; ZITO, R.K.; SOUZA, P.I.M.; FARIAS, L.C. Cultivar de soja BRSMG Liderança: comportamento no Mato Grosso. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 22., Cuiabá, 2000. *Resumos...* Londrina: Embrapa Soja, 2000. p.111-112.
- BECKER, W. F.; FERRAZ, S.; SILVA, E. A. M. Alterações histopatológicas em raízes de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) infectadas por *Heterodera glycines*. *Nematologia Brasileira*, Brasília, v.23, n.1, p.34-46, 1999.
- CALDWELL, B. E. Inheritance of resistance of soybeans to cyst nematode, *Heterodera glycines*. *Agronomy Journal*, Madison, v.52, n.11, p.635-636, 1960.
- EDENS, R.M.; ANAND, S.C.; BOLLA, R.I. Enzymes of the phenylpropanoid pathway in soybean infected with *Meloidogyne incognita* or *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, Hannover, v.27, n.3, p.292-303, 1995.
- EMBRAPA. *Tecnologias de produção de soja – Paraná – 2004*. Londrina: Embrapa Soja, 2003.
- 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, n.4, p.375-381, 1965.
- _____. Ultrastructure of initial responses of susceptible and resistant soybean roots to infection by *Heterodera glycines*. *Revue de Nematologie*, Montpellier, v.14, n.1, p.73-94, 1991.
- _____. Penetration and development of *Heterodera glycines* in soybeans roots and related anatomical changes. *Phytopathology*, Saint Paul, v.54, n.1, p.79-88, 1964.
- HANDOO, Z.A.; ANAND, S.C. Biological manifestation of resistance to soybean cyst nematode development in Hartwig soybean. *Crop Protection*, Oxford, v.12, n.5, p.371-372, 1993.
- KIM, Y.H.; RIGGS, R.D.; KIM, K.S. Structural changes associated with resistance of soybean to *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, Lawrence, v.19, n.2, p.177-187, 1987.
- MAHALINGAN, R.; SKORUPSKA, H.T. Cytological expression of early response to infection by *Heterodera glycines* Ichinohe in resistant PI 437654 soybean. *Genome*, Ottawa, v.39, n.5, p.986-989, 1996.
- MAURO, A. O.; OLIVEIRA, A. L.; MAURO, S. M. Z. Genetics of resistance to soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* Ichinohe (race 3), in Brazilian soybean population. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v.22, n.2, p.257-260, 1999.
- NIBLACK, T.L.; ARELLI, P.R.; NOEL, G.R.; OPPERMAN, C.H.; ORF, J.H.; SCHMITT, D.P.; SHANNON, J.G.; TYLKA, G.L. A Revised Classification Scheme for Genetically Diverse Populations of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, Lawrence, v.34, n.4, 279-288, 2002.
- NOEL, G.R. History, distribution, and economics. In: RIGGS, R.D.; WRATHER, J.A. (Ed.). *Biology and management of the soybean cyst nematode*. Saint Paul: APS Press, 1992. p.15-26.
- RAO-ARELLI, A.P.; ANAND, S.C. Genetic relationships among soybean plant introductions for resistance to race 3 of the soybean cyst nematode. *Crop Science*, Madison, v.28, n.4, p.650-652, 1988.
- RAO-ARELLI, A. P.; ANAND, S. C.; WRATHER, A. Soybean resistance to soybean cyst nematode race 3 conditioned by additional dominant gene. *Crop Science*, Madison, v.32, n.4, p.862-864, 1992.
- RIGGS, R. D.; SCHMITT, D. P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, Eaton Park, v.20, n.3, p.392-395, 1988.
- SCHMIDT, D. P.; NOEL G. R. Nematode parasites of soybeans. In: NICKLE, W.R. (Ed.). *Plant and Insect Nematodes*. New York: Marcel Dekker, 1984. p.14-59.
- WRATHER, J.A.; ANDERSON, T.R.; ARSYAD, D.M.; TAN, Y.; PLOPER, L.D.; PORTO-PUGLIA; RAM, H.H.; YORINORI, J.T. Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean-producing countries in 1998. *Canadian Journal of Plant Pathology*, Guelph, n.23, p.115-121, 2001.