

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

**ANTAGONISMO DE ESPÉCIES DE CROTALARIA AO
NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA
(*Heterodera glycines* Ichinohe)**

ADRIANA VIANA SCHWAN

DOURADOS

MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
2003
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

**ANTAGONISMO DE ESPÉCIES DE CROTALARIA AO
NEMATÓIDE DE CISTO DA SOJA
(*Heterodera glycines* Ichinohe)**

**ADRIANA VIANA SCHWAN
Engenheira Agrônoma**

Orientador: Prof. Dr. Walber Luiz Gavassoni

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul,
como requisito à obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de concentração:
Produção Vegetal

DOURADOS

MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
2003

632.2
S398a

Schwan, Adriana Viana
Antagonismo de espécies de *Crotalaria* ao
nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*
Ichinohe) / Adriana Viana Schwan. Dourados, MS :
UFMS, Campus de Dourados, 2003.

46 f

Orientador: Walber Luiz Gavassoni
Dissertação (Mestrado) – UFMS

1. Fitopatologia. 2. Soja – doenças. 3.
Nematóide de cisto. 4. *Crotalaria*. I. Título

**ANTAGONISMO DE ESPÉCIES DE CROTALARIA AO NEMATÓIDE DE CISTO DA
SOJA (*Heterodera glycines* Ichinohe)**

ADRIANA VIANA SCHWAN

Engenheira Agrônoma

Orientador: PROF. DR. WALBER LUIZ GAVASSONI

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul, como parte das
exigências do Curso de
Pós-Graduação em Agronomia,
para obtenção do Título de
Mestre.

Dourados
Mato Grosso do Sul
2003

ANTAGONISMO DE ESPÉCIES DE CROTALARIA AO NEMATÓIDE DE CISTO DA
SOJA (*Heterodera glycines* Ichinohe)

por

Adriana Viana Schwan

**Dissertação apresentada como parte dos requisitos exigidos para obtenção do
título de MESTRE EM AGRONOMIA**

Aprovada em: 30/04/2003

Prof. Dr. Walber Luiz Gavassoni
Orientador - UFMS

Dr. Guilherme Lafourcade Asmus
Co-Orientador - EMBRAPA

Prof. Dr. Lilian Maria Arruda Bacchi
Co-Orientadora - UFMS

Prof. Dr. Edson Hiydu Mizobutsi
UNIMONTES

À Deus,

Ofereço e Agradeço

*Aos meus pais,
Italo e Maria Amélia,
ao meu irmão,
Anderson
e ao meu marido
Daniel*

Dedico com amor!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pela oportunidade concedida;

Ao prof. Walber Luiz Gavassoni, pela orientação, ensinamentos, compreensão e amizade durante o curso;

Ao pesquisador Dr. Guilherme Lafourcade Asmus por ter me recebido em seu laboratório, pela grande ajuda na condução dos ensaios, pelo apoio durante as fases difíceis e pela amizade;

À EMBRAPA Agropecuária Oeste pelo suporte a pesquisa realizada;

À EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia pela doação de sementes;

À colega de curso Cláudia de Souza Zanella pela ajuda durante as avaliações e pela grande amizade que se fortaleceu;

Ao meu cunhado Frederico Stoffel pela ajuda na montagem dos experimentos;

Aos colegas Leonardo Menegucci e Mara Raquel Schirmann pelo apoio na condução e avaliação dos experimentos;

À amiga Wânia dos Santos Neves pelo auxílio em conseguir publicações;

Aos funcionários da EMBRAPA Agropecuária Oeste, que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho;

À CAPES pela bolsa concedida durante um ano de curso.

À todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Adriana Viana Schwan, filha de Italo Schwan e Maria Amélia Viana Schwan, irmã de Anderson Viana Schwan, nasceu em 02 de maio de 1974, em Alegre, ES.

Casou-se com Daniel Stoffel, em março de 2001, fixando residência em Dourados, MS.

Cursou Agronomia na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG, diplomando-se em Agosto de 1999.

Em março de 2001, ingressou no curso de mestrado em Agronomia (Área de Concentração em Produção Vegetal), na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, na cidade de Dourados, MS, submetendo-se à defesa de tese em abril de 2003. Foi bolsista da CAPES.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Histórico e Distribuição de <i>Heterodera glycines</i>	4
2.2. Importância do Nematóide de Cisto da Soja	5
2.3. Biologia e Ciclo de Vida	8
2.4. Fatores que Afetam o Ciclo de Vida de <i>Heterodera glycines</i>	9
2.5. Hospedeiros de <i>Heterodera glycines</i>	10
2.6. Plantas Antagonistas de <i>Heterodera glycines</i>	12
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1. Obtenção e Multiplicação de <i>Heterodera glycines</i>	15
3.2. Hospedabilidade de Algumas Espécies de <i>Crotalaria</i> à <i>Heterodera glycines</i>	16
3.3. Penetração e Desenvolvimento de <i>Heterodera glycines</i> em <i>Crotalarias</i>	17
3.4. Efeito de Espécies de <i>Crotalaria</i> sobre <i>Heterodera glycines</i>	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1. Hospedabilidade de Algumas Espécies de <i>Crotalaria</i> à <i>Heterodera glycines</i>	22
4.2. Penetração e Desenvolvimento de <i>Heterodera glycines</i> em <i>Crotalarias</i>	26
4.3. Efeito de Espécies de <i>Crotalaria</i> sobre <i>Heterodera glycines</i>	29
5. CONCLUSÕES	34
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

LISTA DE QUADROS

	PÁGINA
Quadro 1. Municípios brasileiros com ocorrência de <i>Heterodera glycines</i> desde 1992	7
Quadro 2. Análise química do substrato utilizado	21
Quadro 3. Número de fêmeas e ovos de <i>H. glycines</i> nas raízes de espécies de <i>Crotalaria</i> e soja, aos 30 e 45 dias de cultivo. Dourados-MS, 2002.....	23
Quadro 4. População de <i>H. glycines</i> (J2, J3, J4 e adultos) nas raízes de soja e diferentes espécies de <i>Crotalaria</i> aos 30 e 45 dias após a inoculação de 4.300 ovos de <i>Heterodera glycines</i> /planta. Dourados-MS, 2002.....	25
Quadro 5. Número e fase de desenvolvimento de nematóides nas raízes de soja BRS 133, <i>Crotalaria</i> sp., <i>C. paulina</i> , <i>C. brevisflora</i> , <i>C. retusa</i> , <i>C. ochroleuca</i> , <i>C. striata</i> , <i>C. anagyroides</i> , <i>C. spectabilis</i> e <i>C. juncea</i> até 33 dias após a inoculação de 800 juvenis de <i>Heterodera glycines</i>	27
Quadro 6. Número de cistos e juvenis de <i>H. glycines</i> recuperados em 100 cm ³ de substrato após 60 dias de cultivo de soja e diferentes espécies de <i>Crotalaria</i> . Dourados-MS, 2002.....	30

Quadro 7. Número de fêmeas, cistos e ovos de <i>H. glycines</i> por sistema radicular de soja e número de cistos, ovos e juvenis extraídos de substrato após 45 dias de cultivo de soja. Dourados-MS, 2002/2003.....	31
Quadro 8. Massa seca da parte aérea de soja cultivada 45 dias após soja, e espécies de <i>Crotalaria</i> em vasos contendo substrato infestado com <i>H. glycines</i> . Dourados-MS, 2002/2003.....	33

RESUMO

SCHWAN, Adriana Viana, M.S., Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, abril de 2003. Antagonismo de Espécies de *Crotalaria* ao Nematóide de Cisto da Soja (*Heterodera glycines* Ichinohe raça 10).

Estudou-se a hospedabilidade de *Crotalaria* sp., *Crotalaria paulina*, *C. brevisflora*, *C. retusa*, *C. ochroleuca*, *C. striata*, *C. anagiroides*, *C. spectabilis* e *C. juncea* a *Heterodera glycines* raça 10. O nematóide penetrou nas raízes de todas as espécies avaliadas. *Crotalaria retusa* e *C. ochroleuca* mostraram-se hospedeiras do nematóide, pela presença de fêmeas e ovos aos 30 e 45 dias de cultivo. Pelo estudo do desenvolvimento de *H. glycines* em raízes das crotalarias verificou-se que J2 penetraram em todas as espécies. Apenas nas espécies *C. retusa*, *C. ochroleuca* e *C. juncea*, os nematóides atingiram os estádios de juvenil de terceiro e quarto estádios, porém, não atingiram a maturidade. O nematóide atingiu o estágio adulto (fêmeas e machos) na soja BRS 133, porém, no período de condução do ensaio (33 dias) não foi observada produção de ovos.

Diferentes espécies de *Crotalaria* foram inoculadas com *H. glycines* e mantidas em casa de vegetação por 60 dias. Após este período a parte aérea das plantas foi eliminada, e o sistema radicular incorporado e homogeneizado ao substrato. Cistos e juvenis foram quantificados. Não foi possível recuperar cistos de *H. glycines* das amostras de substrato retiradas de vasos onde se cultivou as crotalarias, enquanto que, no tratamento testemunha recuperou-se 31,2 cistos por 100 cm³ de substrato. Menor número de juvenis de segundo estágio foi recuperado nos tratamentos com crotalaria comparado a soja. Transplantou-se soja BRS 133, suscetível a *H. glycines*, para cada um dos vasos contendo o substrato e as raízes de crotalaria. Aos 45 dias após o transplante, o sistema radicular da soja foi avaliado quanto a presença de fêmeas, cistos e ovos. Os

números de cistos, ovos e juvenis de segundo estágio (J2) presentes no substrato foram também quantificados. Em adição, foram coletados os sistemas radiculares de duas plantas de cada espécie, e foram examinados para constatação da penetração de *H. glycines*. Todas as variáveis avaliadas evidenciaram efeito antagonista de crotalaria a *H. glycines*.

ABSTRACT

SCHWAN, Adriana Viana, M.S., Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, april 2003. Antagonism of *Crotalaria* species to the Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe).

The reaction of *Crotalaria paulina*, *C. breviflora*, *C. retusa*, *C. ochroleuca*, *C. striata*, *C. anagiroides*, *C. sp.*, *C. spectabilis* e *C. juncea* to *Heterodera glycines* was studied under greenhouse conditions. Second-stage juveniles penetrated all plant species tested. *Crotalaria retusa* and *C. ochroleuca* had females and eggs in their roots, and were regarded as *H. glycines* hosts.

Nine *Crotalaria* species were inoculated with *H. glycines* and maintained under greenhouse conditions for 60 days. After that period the above ground plant parts were removed, and the crotalaria roots mixed with the soil. Cysts and juveniles were enumerated from substratum samples. No cysts were recovered from any crotalaria treatment, whereas a smaller number of juveniles were extracted from crotalarias treatment compared to the check treatment (*H. glycines*-susceptible soybean BRS 133).

Soybean plants were transferred to each pot, previously cropped with *Crotalaria* for 60 later days. Forty-five days after soybean roots were examined for the presence of *H. glycines* females, cysts and eggs. Cysts, eggs and second-stage juveniles (J2) present in the soil were also assessed. We collected the systems root of two plants from each species tested, and they were examined for *H. glycines* penetration. Data analysis indicated a strong antagonistic effect of all *Crotalaria* species against *H. glycines*.

We also studied *H. glycines* development in *Crotalaria* roots and observed penetration by J2 in all species. Only third and fourth-stage juveniles were detected on *C. retusa*, *C. ochroleuca* and *C. juncea*. No females nor males were observed.

1. introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) é a mais importante oleaginosa cultivada no mundo, participando com 51% do total das principais oleaginosas. A produção mundial de soja, cujo volume é significativo no mercado internacional de produtos agrícolas, é oriunda principalmente dos Estados Unidos, Brasil e Argentina. Esses países participam com 80% da produção e 90% do mercado mundial de soja (Roessing & Guedes, 1993). A China ocupa o quarto lugar na produção mundial, porém não participa do mercado internacional, consumindo internamente sua produção. O Brasil é o segundo maior produtor e exportador mundial de soja, com uma área plantada de cerca de 17.956.300 de hectares e produção estimada em 49.647.300 de toneladas na safra 2002/2003 (CONAB, 2003).

Entre os principais fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos em soja estão as doenças que, em geral, são de difícil controle. Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus já foram identificadas no Brasil. Esse número continua aumentando com a expansão da soja para novas áreas e como consequência da monocultura. A importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo da condição climática de cada safra. As perdas anuais de soja por doenças são estimadas em cerca de 15% a 20%, entretanto, algumas doenças podem ocasionar perdas de quase 100%, individualmente (Embrapa, 2000).

O nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe, 1952), constitui-se num dos principais fatores limitantes para a produção dessa leguminosa em todo o mundo (Wrather *et al.*, 1997). A doença causada por este nematóide, primeiramente observada no Japão em 1915, recebeu a denominação de nanismo amarelo, devido aos sintomas exibidos pelas plantas infectadas. A infecção por *H. glycines* pode resultar em perdas elevadas na produção ou até mesmo na destruição total das lavouras, obrigando os produtores a abandonarem as áreas infestadas por longo período (Manso & Tenente, 1984).

O controle de *Heterodera glycines*, é bastante complexo. Primeiramente, medidas preventivas devem ser tomadas, evitando a introdução destes organismos em áreas onde ainda não estão presentes (Ferraz *et al.*, 2001). Uma vez presente no solo, o nematóide de cisto da soja não pode ser eliminado, entretanto, deverá ser manejado para minimizar sua reprodução e maximizar a produção da soja (Tylka, 1994). O manejo da cultura da soja para o controle do nematóide de cisto da soja baseia-se na manipulação de algumas práticas culturais, visando reduzir a população e criar condições desfavoráveis ao desenvolvimento do nematóide no solo. Com isso, qualquer prática que reduza o estresse deverá aumentar a capacidade das plantas em tolerar o parasitismo do nematóide (Schmitt, 1991).

O uso de cultivares resistentes foi a primeira tática de manejo utilizada para reduzir os danos causados pelo nematóide de cisto da soja, entretanto, o uso contínuo de uma mesma variedade resistente exerce pressão de seleção sobre a população do patógeno, podendo levar ao predomínio de raças capazes de parasitar tal variedade (Riggs & Schmitt, 1988; Niblack, 1992). A utilização da resistência genética, embora desejável, é limitada pela escassez de cultivares resistentes adaptadas às diferentes regiões produtoras de soja (Ferraz *et al.* 1999).

O controle químico através de nematicidas apresenta vários inconvenientes, pois estes produtos são caros, altamente tóxicos, persistentes, têm amplo espectro, e podem contaminar águas subterrâneas, representando desta forma um grande risco a outros organismos e ao ambiente. Devido a estes problemas, nematicidas disponíveis no mercado vêm sofrendo grandes restrições de uso em muitos países (Ferraz & Valle, 1995).

Rotação de culturas é um método prático e efetivo no controle do nematóide de cisto da soja. Mesmo dispondo de cultivares resistentes, a rotação de culturas é

recomendável, com o propósito de manter em níveis baixos a população do nematóide no solo e permitir a utilização, também, de cultivares suscetíveis em rotação. A utilização de cultivares resistentes e suscetíveis em rotação com uma espécie não hospedeira tem a função de diminuir a pressão de seleção das cultivares resistentes na população do nematóide evitando a mudança de raça (Garcia *et al.*, 1999). As vantagens deste método se tornam mais atrativas quando se tem um maior número de espécies de plantas não hospedeiras e de importância econômica disponíveis para uso em esquema de rotação com a soja (Diogo *et al.*, 2000).

Outro método para o controle de fitonematóides é o uso de plantas antagonistas. A atividade antagônica de diversas plantas já foi comprovada sobre várias espécies de nematóides. A descoberta de plantas que exerçam efeito antagônico e que possam ser cultivadas em rotação de cultura ou sucessão com a soja pode fornecer novas alternativas para extensas áreas de plantio de soja, que se encontram comprometidas devido aos elevados níveis populacionais deste nematóide (Ferraz *et al.*, 1999).

No Brasil, o estudo da ação antagônica de diversas espécies de *Crotalaria* tem se concentrado em relação à *Meloidogyne* sp. (Jaehn & Mendes, 1979; Asmus & Ferraz, 1988; Silva, 1988; Silva *et al.*, 1990a, b; Andrade & Ponte, 1999). Poucos pesquisadores têm estudado o efeito de *Crotalaria* spp. sobre populações de *Heterodera glycines* (Riggs, 1987; Valle, 1996; Schwan *et al.*, 2001). Assim, este trabalho teve por objetivos: a- Estudar a reação de algumas espécies de *Crotalaria* à *Heterodera glycines*; b- Verificar o antagonismo destas plantas ao nematóide e c- Estudar a penetração e o desenvolvimento de *Heterodera glycines* em espécies de *Crotalaria*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Histórico e Distribuição Geográfica de *Heterodera glycines*

Noel (1992), em ampla revisão sobre o histórico e a distribuição de *H. glycines*, relata que em época anterior ao ano 235 a.C., Lu Bu Wei, na China, escreveu sobre a ocorrência de certa doença associada com determinado organismo em raízes de soja, acreditando tratar-se do nematóide de cisto da soja. A primeira descrição do nematóide de cisto da soja é atribuída a Hori em 1915, no Japão. Apesar de ter sido relatada na região da Manchúria em 1880 (Noel, 1992), a doença já era conhecida naquele país há pelo menos 30 anos antes do relato de Hori, pelo o nome de “doença de noite de luar”, devido ao sintoma de reboleiras amarelas na lavoura.

Em 1919, Katsufugi criou o termo “nanismo amarelo da soja”, para referir-se à doença provocada pelo nematóide, que naquela época acreditava-se tratar de *Heterodera schachtii* A. Schmidt. Somente em 1952, a espécie do nematóide foi nomeada por Ichinohe como *H. glycines*. Após seu primeiro registro no Japão, em 1915, a presença de *H. glycines* foi documentada em várias regiões do mundo, como na Coreia em 1936; na província de Heilongjiang, na antiga União Soviética em 1938; em Taiwan em 1958, e na ilha de Java na Indonésia em 1984 (Noel, 1992).

Na América do Norte, *H. glycines* ocorre nos Estados Unidos e Canadá. O primeiro relato da ocorrência do nematóide de cisto da soja nos Estados Unidos foi feito

no Estado da Carolina do Norte, numa área com histórico de cultivo de flores a partir de bulbos importados do Japão, podendo ser esta uma das possibilidades de introdução do patógeno naquele país (Winstead *et al.*, 1955). O primeiro registro do nematóide de cisto da soja no Canadá foi feito na região de Ontário em 1987 (Anderson *et al.*, 1988).

Na América do Sul, foi relatado pela primeira vez, em 1983, ocorrendo em áreas de soja e feijão, no Vale de Cauca na Colômbia (Gomez-Tovar & Medina, 1983) e no Brasil em Nova Ponte-MG (Lima *et al.*, 1992), Campo Verde-MT (Lordello *et al.*, 1992) e Chapadão do Céu e Aporé-GO (Monteiro & Moraes, 1992).

2.2. Importância do Nematóide de Cisto da Soja

A partir dos relatos iniciais de *H. glycines* no Brasil, a disseminação ocorreu rapidamente, pelas principais regiões produtoras de soja do País, atingindo uma área estimada em 2.000.000 de ha, cinco anos após sua constatação (Silva, 1999). Hoje, o nematóide de cisto da soja já está presente em cerca de 85 municípios brasileiros, distribuídos nos Estados de Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais, São Paulo, Rio Grande do Sul e Paraná (Embrapa, 2000; Portz *et al.*, 2001). O maior número de municípios com áreas infestadas ocorre no Centro-Oeste brasileiro, em regiões de cerrado (Quadro 1). Atualmente a área infestada está estimada em mais de 3.000.000 de ha, causando prejuízos superiores a 200 milhões de dólares (Yorinori, 2000).

A disseminação ocorre de várias maneiras, isso porque os cistos de *Heterodera glycines* podem ser levados de uma área para outra, a curtas e longas distâncias, por qualquer meio que envolva movimentação do solo, tais como vento, água de superfície (enxurrada, irrigação ou inundação), máquinas e implementos agrícolas, veículos, homem, animais domésticos e selvagens, pássaros, sementes mal beneficiadas que contenham partículas de solo e materiais inertes contaminados (Embrapa, 2000). Os cistos são resistentes às condições desfavoráveis como temperatura, umidade, aeração do solo e ausência de plantas hospedeiras, podendo permanecer viáveis no solo por mais de 8 anos (Manso & Tenente, 1984).

Em países como Japão, Coréia, Indonésia, China, Taiwan, Colômbia e especialmente nos E.U.A., onde se encontra largamente disseminado, *H. glycines* é considerado um dos maiores problemas fitossanitários da cultura da soja. Em 1979, foi responsável por perda de 352 milhões de dólares na produção norte-americana (Moore *et al.*, 1990). Como o nematóide de cisto da soja se adapta às mesmas condições favoráveis à cultura da soja, o patógeno é uma ameaça em toda área onde for cultivada (Manso & Tenente, 1984).

Trata-se de um nematóide muito agressivo que infecta raízes e provoca amarelecimento das folhas e diminuição na produtividade de grãos. Nas áreas produtoras de soja com alta infestação do nematóide, normalmente observa-se manchas em reboleiras. Em muitos casos, encontram-se plantas mortas (Manso & Tenente, 1984). Esses sintomas são, em grande parte, devido à deficiência de nitrogênio resultante da supressão da nodulação da bactéria simbiote *Bradyrhizobium japonicum* (Huang & Barker, 1983) e destruição do sistema radicular. Existem relatos de áreas, que, mesmo com baixa densidade populacional desse nematóide, com reduções significativas da produção sem ocorrer a expressão típica dos sintomas da parte aérea, comuns em áreas com altas populações do nematóide de cisto da soja (Young, 1996 citado por Andrade & Asmus, 1997). Wang & Niblack (1993), observaram perdas significantes em campo utilizando cultivares de soja suscetível, com relação a cultivares resistentes, entretanto, a redução à campo não foi acompanhada de sintomas visuais. Apesar de não se observar sintomas claros na parte aérea, em áreas produtoras de soja infestadas por *H. glycines*, existe a possibilidade que esteja ocorrendo danos, expressos em redução de grãos (Asmus & Andrade 1999).

QUADRO 01. Municípios brasileiros com ocorrência de *Heterodera glycines* desde 1992.

UF	ANO										TOTAL
	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	
GO	Chapadão do Céu		Jataí Mineiros Serranópolis			Perolândia Portelândia	Rio Verde Vianópolis	Campo Alegre Catalão	Ipameri		11
MG	Iraí de Minas Monte Carmelo Nova Ponte	Romaria	Indianópolis Patos de Minas Pedrinópolis Sta. Juliana	Uberlândia Uberaba Perdizes Patrocínio Sacramento	Estrela do Sul Conquista Tupaciguara Água Comprida Araguari Cascalho Rico João Pinheiro Buritís Paracatu Pres. Olegário Coromandel			Cons. das Alagoas			25
MS	Chapadão do Sul	Costa Rica	Cassilândia	Água Clara São Gabriel D'Oeste Camapuã		Alcinópolis			Sonora		08
MT	Campo Verde	Campo Novo dos Parecis Diamantino Jaciará Primavera do Leste	Ch. dos Guimarães Deciolândia Dom Aquino N.S. Joaquim São José do Rio Claro	Sapezal Poxoréo Arenópolis Itiquira Tangará da Serra	Alto Taquari	Sorriso Campos de Júlio	General Carneiro Nova Ubiratã Tapurá Nova Marilândia	Guiratinga	Tesouro		24
RS				Cruzeiro do Sul				S. Miguel das Missões			02
SP			Palmital Tarumã	Florínea Cruzália Assis	Cândido Mota Pedrinhas Paulista Maracáí	Campos Novos Paulista Pitangueiras					10
PR					Sertaneja Sertanópolis Leópolis			Cornélio Procopio		Mal. Cândido Rondon	05
TOTAL	06	06	15	17	18	07	06	06	03	01	85

EMBRAPA (2000), com modificações.

2.3. Biologia e Ciclo de Vida

A duração do ciclo de vida do nematóide de cisto da soja pode variar de 21 a 24 dias sob temperatura favorável de 23 a 25°C (Tihohod, 2000). Em um único cultivo de soja podem ocorrer de 4 a 5 gerações (Young, 1992). Temperaturas do solo entre 22 e 30°C permitem que o nematóide complete uma geração em 21 dias, porém, abaixo de 22°C a geração completa-se em 28 dias (Alston, 1985 citado por Alston & Schmitt, 1987).

Heterodera glycines passa por quatro estádios juvenis, intercalados por quatro trocas de cutículas (ecdises) em seu ciclo de vida até a formação de fêmeas, machos e cistos. Os dois primeiros estádios juvenis são observados ainda no interior do ovo. O primeiro estágio juvenil (J1) sofre ecdise e torna-se um juvenil de segundo estágio (J2). Juvenis de segundo estágio eclodem dos ovos, movem-se a pequenas distâncias através do solo, e penetram nas raízes das plantas. A penetração freqüentemente ocorre abaixo da zona de maturação da raiz, onde o tecido é jovem porém diferenciado (Schmitt & Riggs, 1989; Young, 1992). Ao penetrar a raiz, provoca ruptura dos tecidos e migra através do córtex, dilacerando as células no caminho percorrido. A ação de enzimas pré-digestivas, excretadas em torno da região labial do nematóide, estimula a dilatação e coalescência das células do tecido vascular, pela dissolução da parede de células adjacentes, tornando-as multinucleadas e ricas em nutrientes, originando um sítio de alimentação denominado sincício (Tihohod & Santos, 1993). A indução do sincício por *H. glycines* em raízes de soja é vital para o seu desenvolvimento e sobrevivência (Gómez-Tovar & Medina, 1983). O juvenil aumenta de tamanho, ocorre a troca de cutícula e torna-se juvenil de terceiro estágio (J3). O estágio J3 dura menos que 24 horas. Após ocorre outra ecdise e torna-se juvenil de quarto estágio (J4), onde a diferenciação sexual é evidente. A última ecdise que dará origem a machos, ocorre 1 a 3 dias antes da ecdise de fêmeas. Os machos migram e cingem-se na matriz gelatinosa produzida pela fêmea. Ocorre a cópula e o esperma migra para a spermateca onde os ovos são fertilizados (Schmitt & Riggs, 1989).

A fêmea adulta tem formato limoniforme e muda de cor, passando do branco ao amarelo e marrom, quando se transforma em cisto. A fêmea pode produzir de 200 a 600 ovos, que são inicialmente depositados em uma matriz gelatinosa, sendo que

a maioria permanece dentro do corpo da fêmea que após sua morte, transforma-se em cisto (Schmitt & Riggs, 1989).

2.4. Fatores que Afetam o Ciclo de Vida de *Heterodera glycines*

Muitos processos do ciclo de vida de *H. glycines* são influenciados pela temperatura e pelo movimento do nematóide no solo em direção às raízes. A movimentação de juvenis no solo é dependente do espaço poroso e de um filme de água ao redor de partículas do solo. O nível de dano pode depender parcialmente do ambiente do solo no qual as raízes das plantas estão crescendo. Uma vez que o nematóide penetra a raiz, seu crescimento e desenvolvimento se deve em grande parte por sua habilidade para iniciar e manter o sítio de alimentação responsável pela sua nutrição (Young, 1992).

A temperatura é o fator físico mais importante que afeta o desenvolvimento do nematóide. Temperaturas próximas a 24°C são mais favoráveis à eclosão, mas esta pode ocorrer entre 24 e 30°C. Porém, em temperatura de 40°C juvenis emergidos morrem rapidamente (Slack & Hamblen, 1961). O maior índice de penetração ocorre à 28°C (Hamblen *et al.*, 1972). Adultos aparecem 12-14 dias após a inoculação em temperaturas entre 24 e 31°C. Após a infecção, juvenis não se desenvolvem em raízes de plantas cultivadas em temperaturas do solo de 10°C ou 35°C (Ross, 1964), e degeneração de juvenis nas raízes torna-se mais freqüente em temperatura acima de 28°C (Alston & Schmitt, 1988).

Embora a eclosão ocorra espontaneamente sob temperatura favorável, é maior na presença de plantas hospedeiras, aparentemente devido aos estímulos proporcionados pelos exsudatos radiculares (Koenning & Schmitt, 1985). Muitos juvenis que penetram a raiz não completam seu ciclo de vida devido a incompatibilidade com o hospedeiro (Acedo *et al.*, 1984).

Em altas densidades populacionais, é comum, haver um maior desenvolvimento de machos do que fêmeas. O aumento do índice de machos é atribuído

à morte de juvenis fêmeas em condições de estresse por falta de alimento devido ao adensamento da população (Koliopanos & Triantaphyllou, 1972).

A umidade do solo também é importante devido a necessidade de um filme de água ao redor das partículas do solo para os nematóides se locomoverem, sendo que, os potenciais de umidade do solo favoráveis deverão estar levemente abaixo da capacidade de campo (Young, 1992).

O genótipo da soja é outro fator importante associado ao ciclo de vida do nematóide de cisto da soja. A cultivar de soja utilizada pode ter um grande impacto em suprimir a população inicial do nematóide no campo. (Young, 1992). Entretanto, o uso contínuo de uma mesma variedade resistente exerce pressão de seleção, favorecendo o desenvolvimento de outras raças capazes de parasitar essa variedade (Niblack, 1992).

2.5. Hospedeiros de *Heterodera glycines*

Estudos sobre a gama de hospedeiros de *H. glycines* demonstram que este nematóide é capaz de parasitar um grande número de espécies vegetais (Riggs, 1992). O hospedeiro principal é a soja, porém, outras plantas também podem ser infectadas por este nematóide, tais como: *Phaseolus vulgaris* L., *P. angularis* L., *Lespedeza stipulaceae* Maxim., *Vicia sativa* L., *Lupinus albus* L., *Sesbania macrocarpa* Muhlenberg e *Lamium amplexicaul* L. (Manso & Tenente, 1984).

Espécies de ervas daninhas têm sido relatadas como hospedeiras do nematóide de cisto da soja. Trapoeraba (*Commelina bengalensis* L.) foi considerada hospedeira de *H. glycines*, devido a observação de fêmeas em seu sistema radicular (Carnielli, 1995). Dias *et al.* (1995), estudando 17 espécies de plantas daninhas, entre elas: beldroega (*Portulaca oleracea* L.), botão-de-ouro (*Galinsoga ciliata* (Raf.) Blake), capim carrapicho (*Cenchrus echinatus* L.), capim-pé-de-galinha (*Eleusine indica* (L.) Gaertn), corda-de-viola (*Ipomoea purpurea* (L.) Roth), picão preto (*Bidens pilosa* L.), mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) não observaram a presença de fêmeas de *Heterodera glycines*, raça 3.

Outras espécies vegetais estudadas por Carnielli (1995): ervilha (*Pisum sativum* L.), ervilhaca peluda (*Vicia Villosa* Roth), feijão fava (*Phaseolus lunatus* L.) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris*) também foram consideradas hospedeiras de *H. glycines*, por ter sido verificada a presença de fêmeas em seus sistemas radiculares.

Riggs & Schmitt (1988) consideram o índice de fêmeas calculado pela fórmula $IF = (\text{número de fêmeas no material testado/número de fêmeas na soja suscetível}) \times 100$, para classificar a planta como hospedeira ou não hospedeira de *H. glycines*. Quando o índice de fêmeas for igual ou maior que 10% a planta é hospedeira e quando o índice de fêmeas for menor que 10%, não hospedeira. Entretanto, Riggs (1992), considera planta hospedeira de *H. glycines* quando pelo menos uma fêmea com ovos é formada. Este mesmo autor considera que a planta pode ser uma hospedeira não eficiente ou uma hospedeira eficiente do nematóide, de acordo com o número de fêmeas no sistema radicular comparado com a cultivar suscetível, levando em consideração o índice 10% citado por Riggs & Schmitt (1988).

Alguns trabalhos relatam a penetração de juvenis de segundo estágio de *H. glycines* nas raízes de algumas espécies de plantas, sem a subsequente formação de fêmeas (Riggs, 1987; Schmitt & Riggs, 1991). Riggs (1987), trabalhando com 66 espécies vegetais, dividiu as plantas por ele testadas quanto à reação a *H. glycines* em 5 categorias: 1- não houve penetração; 2- penetração sem desenvolvimento; 3- penetração e desenvolvimento somente até J3; 4- penetração e desenvolvimento até J4, mas o número de adultos fêmeas produzidas foi menor que 10% em relação a soja suscetível e 5- penetração e desenvolvimento de fêmeas maior que 10% em relação a soja suscetível. Sendo portanto, apenas plantas pertencentes a categoria 5 consideradas hospedeiras eficientes. Diogo *et al.* (2000), testaram 51 espécies de plantas e apenas nas espécies ervilhaca-comum (*Vicia sativa*), grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) do grupo Kabuli, ervilha-forrageira (*Pisum sativum* L. var. *arvense*) e feijão vagem (*Phaseolus vulgaris*) permitiram a multiplicação de *H. glycines*. As espécies ervilhaca comum e ervilha-forrageira comportaram-se como hospedeiras não eficientes pois, permitiram a multiplicação do nematóide numa taxa inferior a 10% em relação a soja.

Riggs (1992) relacionou os resultados de vários estudos sobre a gama de hospedeiros de *H. glycines* em tabelas, dividindo as plantas hospedeiras em hospedeiros eficientes e hospedeiros não eficientes, sendo estas últimas plantas nas quais são formadas poucas fêmeas. Este mesmo autor verificou que a reação de uma espécie

vegetal a *H. glycines* pode variar em função do cultivar testado e da população do nematóide.

2.6. Plantas Antagonistas de *Heterodera glycines*

Plantas antagonistas afetam negativamente a população de fitonematóides, como plantas armadilhas (o nematóide penetra mas não completa o seu desenvolvimento), hospedeiros ruins (há penetração, mas poucos nematóides se desenvolvem) ou aquelas que contêm compostos nematicidas/nematostáticos em seus tecidos, que podem ser liberados no meio externo ou atuar apenas no interior das plantas (Ferraz & Valle, 1995). O uso de plantas antagonistas em esquema de rotação, plantio consorciado ou como cultura de cobertura vegetal tem se mostrado uma alternativa bastante eficiente no controle de *H. glycines*. Algumas delas são capazes de fixar nitrogênio da atmosfera e todas fornecem expressivos volumes de matéria orgânica que aumentam a atividade de fungos antagonistas, melhoram as características gerais do solo, além de liberarem ácidos graxos voláteis, produtos da sua decomposição que são tóxicos aos nematóides. Substâncias químicas, com efeito nematicida, têm sido isoladas dessas plantas e produtos naturais já estão sendo comercializados (Ferraz *et al.*, 2001).

A mucuna preta (*Stizolobium aterrimum* Piper & Tracy) tem sido a espécie mais plantada e estudada deste gênero no Brasil, tendo se mostrado eficiente no controle de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Ferraz *et al.*, 1977). Resultados obtidos em casa de vegetação mostram que esta espécie também é eficiente em reduzir a população de *H. glycines* no solo, pois permite a penetração, porém, não ocorre o desenvolvimento (Valle, 1996).

Mucuna (*Mucuna pruriens* (L.) DC.) e capim pensacola (*Paspalum notatum* Fluegge) reduziram populações de *Meloidogyne* spp. e *H. glycines* em campo após dois anos de rotação com soja. As duas espécies foram consideradas igualmente eficientes em reduzir as populações dos nematóides, entretanto, mucuna promoveu efeito mais duradouro sobre a população destes nematóides (Weaver *et al.*, 1998).

As leguminosas *Aeschynomene americana* L. e *Indigofera hirsuta* L. (anileira), rotacionadas com soja por dois anos, reduziram em 95-100% as populações de juvenis de *H. glycines* raças 3 e 4 e *Meloidogyne arenaria* (Neal) Chitwood no solo (Rodriguez-Kábana *et al.*, 1990).

Várias espécies de *Crotalaria* apresentam ação antagônica a nematóides, com destaque para *Meloidogyne* (Andrade & Ponte, 1999; Asmus & Ferraz, 1988; Jaehn & Mendes, 1979; Silva *et al.*, 1990a, b). Asmus & Ferraz (1988), testando o antagonismo de algumas espécies leguminosas a *M. javanica* (Treb) Chitwood, observaram que *Crotalaria spectabilis* Roth, *C. juncea* L. e *C. paulina* Schrank, incorporadas ao solo, reduziram drasticamente a população de *M. javanica* no solo, comparadas ao tomateiro que dobrou a população deste nematóide. Jaehn & Mendes (1979) avaliaram a penetração e desenvolvimento de *M. incognita* em raízes de *C. spectabilis*. Através da coloração do seu sistema radicular e de exames histológicos, observaram que o nematóide penetra mas não se multiplica em *C. spectabilis* e concluíram que o uso da leguminosa como adubo verde pode reduzir a população desse nematóide no solo. Andrade & Ponte (1999), estudando o controle de *M. incognita* em quiabeiro (*Hibiscus esculentus* L.) mediante o plantio consorciado com *C. spectabilis*, observaram redução significativa do número de galhas incitadas pelo nematóide.

Os mecanismos de resistência de *Crotalaria* à *M. javanica* foram estudados por Silva *et al.* (1990b). Em um ensaio com *C. juncea* e *C. spectabilis* estes autores observaram que o nematóide era atraído para as raízes destas plantas, ocorria penetração, mas em intensidade inferior à observada em tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) utilizado como testemunha suscetível. Bringel & Silva (2000), também observaram o efeito antagônico de *C. spectabilis* e *C. juncea* à *Helicotylenchus multicinctus* (Cobb) Golden, no solo e em raízes de bananeira (*Musa cavendishii* L.).

Em casa de vegetação, cultivando soja cv. FT Cristalina em sucessão as espécies *C. ochroleuca* G. Don., *C. breviflora* DC e *Crotalaria anagyroides* Kunth em substrato infestado com uma população de *H. glycines* raça 3, Schwan *et al.* (2001), encontraram redução significativa no número de fêmeas por sistema radicular.

Há várias espécies de plantas com propriedades antagônicas e que podem ser incluídas em programas de controle de fitonematóides. A utilização dessas plantas em épocas em que a cultura principal não pode ser explorada é uma alternativa atraente.

Outra possibilidade é o plantio tardio da cultura principal, precedido por 2 a 3 meses de cultivo de uma planta antagônica de crescimento rápido (Ferraz & Valle, 1995).

3. Material e Métodos

3.1. Obtenção e Multiplicação de *H. glycines*

A população de *Heterodera glycines* raça 10, utilizada nos experimentos foi obtida junto ao Laboratório de Nematologia da Embrapa Agropecuária Oeste – Dourados, MS. A população originalmente foi coletada no município de Chapadão do Céu – GO. A identificação da raça foi obtida junto à Embrapa. A escolha da raça foi devido a grande ocorrência da mesma no Estado do Mato Grosso do Sul, e pela sua disponibilidade em casa de vegetação.

A partir desta amostra a população de *H. glycines* foi mantida em vasos de cerâmica contendo como substrato solo, areia grossa e areia fina na proporção 1:1:1, previamente autoclavado, e cultivados com soja BRS 133 como planta hospedeira por períodos superiores a 30 dias, para multiplicação do inóculo. As raízes foram cuidadosamente removidas dos vasos, colocadas sobre peneira de 0,85 mm de abertura (20 mesh) acoplada sobre uma peneira de 0,15 mm de abertura (100 mesh) e submetidas a jato forte de água para a remoção de fêmeas. Fêmeas e cistos retidos na peneira de 100 mesh, foram purificados pelo método da flotação centrífuga em solução densa de sacarose (615 g de sacarose/L de água). O material retido na peneira de 0,15 mm de abertura, foi centrifugado em água à 420 G por 5 minutos, após, foi descartado o

sobrenadante e o restante centrifugado com a solução de sacarose densa por 1 minuto. O sobrenadante foi vertido na peneira de 0,15 mm de abertura, lavado em água corrente para remoção do excesso de sacarose e recolhido com água. Fêmeas e cistos foram esmagados para a liberação dos ovos com auxílio de um macerador de tecidos. Em seguida, foi feita a contagem dos ovos em câmara de Peters em microscópio estereoscópico.

Para atender os objetivos propostos, foram desenvolvidos três experimentos, os quais serão descritos a seguir.

3.2. Hospedabilidade de Algumas Espécies de *Crotalaria* à *Heterodera glycines*

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Embrapa Agropecuária Oeste – Dourados, MS, no período de fevereiro a maio de 2002.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com dez tratamentos e oito repetições. Os tratamentos consistiram de nove espécies de *Crotalaria*: *Crotalaria* sp. (designada pela Embrapa Recursos e Biotecnologia como *C. sp2*), *C. spectabilis*, *C. juncea*, *C. breviflora*, *C. striata*, *C. paulina*, *C. retusa* L., *C. ochroleuca*, *C. anagyroides* e soja FT Cristalina utilizada como testemunha suscetível. As sementes das espécies de *Crotalaria* foram obtidas na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Brasília, DF.

As sementes de todas as espécies de *Crotalaria* e soja foram semeadas em bandejas contendo como substrato uma mistura de solo, areia grossa e areia fina na proporção 1:1:1, previamente autoclavados. Uma planta de cada espécie, com aproximadamente 10 cm de altura, foi transplantada para vaso de polietileno com capacidade 4 L, contendo substrato. Dois dias após o transplântio, as plantas foram inoculadas com 10 mL de uma suspensão contendo 430 ovos de *Heterodera glycines*/mL, depositada em orifícios equidistantes no solo, imediatamente preenchidos com substrato.

Foram feitas duas avaliações, aos trinta e aos quarenta e cinco dias após a inoculação. As avaliações consistiram em contar o número de fêmeas e ovos/sistema radicular.

Para a contagem do número de fêmeas, as raízes foram cuidadosamente separadas do solo, colocadas sobre uma peneira de 0,85 mm acoplada sobre uma de 0,15 mm de abertura, e então submetidas a um jato forte de água. Fêmeas retidas na peneira de 0,15 mm, foram recolhidas em uma placa quadriculada e contadas em microscópio estereoscópico. Após a contagem, as fêmeas foram purificadas pelo método de flotação centrífuga em solução densa de sacarose, onde a suspensão foi centrifugada durante 5 min à 420 G, descartou-se o sobrenadante, acrescentou-se a solução de sacarose e centrifugou-se por 1 min a 420 G. O sobrenadante foi então recolhido em peneira de 0,15 mm de abertura e lavado em água para retirar o excesso de sacarose. Em seguida, as fêmeas foram recolhidas e esmagadas com auxílio de um macerador de tecidos para liberação e contagem de ovos.

Para observar se houve penetração do nematóide nas espécies de *Crotalaria*, em cada época de avaliação, raízes de duas plantas de cada espécie foram separadas submetidas à técnica de coloração de Byrd *et al.* (1983). As raízes foram cuidadosamente colocadas entre duas lâminas, observadas em microscópio estereoscópico, e os nematóides enumerados de acordo com o estágio de desenvolvimento (J2, J3/J4 e adultos).

Para análise estatística, os dados foram transformados em $\log(x+1)$ e submetidos a análise de variância utilizando-se o programa SAS. As médias dos tratamentos foram comparadas entre si, pelo teste LSD de Fisher, a 5% de probabilidade. A partir do número de fêmeas obtidas nas espécies de *Crotalaria* e na soja calculou-se o índice de fêmeas.

3.3. Penetração e Desenvolvimento de *Heterodera glycines* em *Crotalarias*

O experimento foi conduzido no período de novembro de 2002 à janeiro de 2003, na Embrapa Agropecuária Oeste – Dourados, MS. As espécies de *Crotalaria*:

C. spectabilis, *C. juncea*, *C. brevipflora*, *C. striata*, *C. paulina*, *C. retusa*, *Crotalaria* sp., *C. ochroleuca*, *C. anagyroides* e soja BRS 133 foram semeadas em copos de plástico com capacidade de 180 mL contendo como substrato solo e areia grossa na proporção 1:2 previamente autoclavados.

Plantas com aproximadamente 7 cm de altura foram inoculadas com 4 mL de uma suspensão contendo 200 J2 (juvenis de segundo estágio) de *H. glycines*/mL. Para obtenção dos J2, seguiu-se a metodologia de Acedo & Dropkins (1982), ovos de *H. glycines* foram colocados em câmara de eclosão, mantida em água por três dias e em 0,01 M de ZnSO₄.7H₂O por 7 dias em condições de temperatura ambiente. Os juvenis foram coletados diariamente, lavados em água sob peneira de 500 mesh e conservados sob refrigeração, até a data da inoculação.

Após 48 horas da inoculação, as plantas foram removidas dos copos e tiveram seu sistema radicular lavado em água para limitar a penetração do nematóide a este período. As plantas foram transplantadas para copos com capacidade de 300 mL contendo o mesmo tipo de substrato e mantidos em condições de casa de vegetação.

Dois plantas de cada espécie no período de 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 28 e 33 dias após a inoculação, foram submetidas a técnica de coloração de Byrd *et al.* (1983), para avaliação do desenvolvimento dos nematóides. O estágio de desenvolvimento foi classificado de acordo com Taylor & Sasser, (1978) e Garcia-Martinez (1982) em: J2; J3/J4; adulto macho e adulto fêmea.

3.4. Efeito de Espécies de *Crotalaria* sobre *Heterodera glycines*

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, na Embrapa Agropecuária Oeste – Dourados, MS, no período de novembro de 2002 a fevereiro de 2003.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com dez tratamentos e dez repetições. Os tratamentos foram nove espécies de *Crotalaria*: *Crotalaria* sp., *C. spectabilis*, *C. juncea*, *C. brevipflora*, *C. striata*, *C. paulina*, *C. retusa*, *C. ochroleuca*, *C. anagyroides* e soja BRS 133 utilizada como testemunha suscetível.

Sementes das crotalárias e da soja foram semeadas em vasos de polietileno com capacidade 4 L, contendo como substrato solo e areia grossa na proporção 1:2

previamente autoclavados. Plantas foram desbastadas com aproximadamente 10 cm de altura, mantendo-se uma planta por vaso. Em seguida, foram inoculadas com 10 mL de uma suspensão contendo 500 ovos de *H. glycines*/mL depositados em orifícios equidistantes no solo e imediatamente preenchidos com substrato.

Aos 23 dias após a emergência das plantas, observou-se sintoma de fitotoxidez de manganês, caracterizado pelo aparecimento de manchas necróticas ao longo do tecido condutor e encarquilhamento das folhas. Para minimizar o efeito desse elemento, foi adicionado ao substrato 3,75 g de cal hidratada/vaso, equivalente a três ton/ha, imediatamente após o surgimento dos sintomas. A análise química do substrato revelou altos teores de manganês (Quadro 2).

Aos 60 dias de cultivo, a parte aérea das plantas foi removida e o sistema radicular incorporado e homogeneizado ao solo. Retirou-se uma amostra de solo de cada vaso para quantificação do número de fêmeas, cistos e juvenis presentes em 100 cm³ de solo em cada tratamento. Plantas de soja BRS 133, com aproximadamente 10 cm de altura, cultivadas em substrato solo e areia grossa na proporção 1:2 previamente autoclavado, foram transplantadas para os vasos.

Na extração de fêmeas, cistos e juvenis do solo foi utilizada a metodologia de Dunn (1969), onde amostras de 100 cm³ de solo foram agitadas em água e passadas em peneiras de 0,85, 0,15 e 0,037 mm de abertura, acopladas. O material retido na peneira de 0,15 mm foi recolhido em uma placa quadriculada e observado em microscópio estereoscópico onde procedeu-se a contagem dos cistos e fêmeas presentes em cada amostra. Após a contagem, os cistos e fêmeas foram esmagados com auxílio de um tubo macerador de tecidos para liberação dos ovos que foram contados em uma câmara de Peters em microscópio estereoscópico. Juvenis retidos na peneira de 0,037 mm de abertura foram removidos por jato de água de uma piseta. Para eliminar resíduos na suspensão de juvenis, utilizou-se o método de flotação centrífuga em solução de sacarose, Jenkins (1964). Em seguida, os juvenis foram contados em microscópio estereoscópico, utilizando-se de uma câmara de Peters.

Aos 45 dias de cultivo da soja, a parte aérea das plantas foi coletada para determinação da massa seca. O sistema radicular foi cuidadosamente removido do solo, submetido a extração e contagem de fêmeas, cistos e ovos. Foi retirada uma amostra de solo de cada vaso para determinação do número de cistos e juvenis do solo, extraídos pelo método de Dunn (1969). Após contados, os cistos foram macerados para obtenção e quantificação do número de ovos.

Para análise estatística os dados foram transformados em $\log(x+1)$ exceto peso de massa seca da parte aérea onde a transformação usada foi raiz quadrada de x . Em seguida foram submetidos a análise de variância no programa SAS. As médias dos tratamentos foram comparadas entre si, pelo teste LSD de Fisher, a 5% de probabilidade.

QUADRO 2. – Análise química do substrato utilizado.

pH		MO	P	K	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	T	V%	S	Fe	Mn	Zn	Cu	B
CaCl ₂	H ₂ O	g/dm ³	mg/dm ³	mmolc/dm ³							mg/dm ³		mg/dm ³				
5,3	6,1	18	14	3,5	33	11	0	31	48	79	60	6	19	96,8	1,3	8,0	0,36

Análise realizada no laboratório de análises agronômicas da Fundação Shunji Nishimura de Tecnologia – Pompéia, SP

MO – Matéria orgânica

P, K, Ca, Mg - extraídos pela metodologia de resina

SB – soma de bases, ou Ca + Mg + K

T – capacidade de troca de cátions, ou SB + (H + Al)

V – índice de saturação por bases ou $V = (SB/T) \times 100$

Fe, Mn, Zn e Cu – duplo ácido – extração por Melich-1

B – extração por água quente

4. Resultados e Discussão

4.1.

HOSPEDABILIDADE DE ALGUMAS ESPÉCIES DE *CROTALARIA* À *HETERODERA GLYCINES*

Entre as espécies de *Crotalaria* testadas, *H. glycines* multiplicou-se em *C. retusa* e *C. ochroleuca*, além da testemunha suscetível soja (Quadro 3). Nas outras espécies não houve formação de fêmeas e ovos. No presente trabalho observamos fêmeas com ovos nas raízes das espécies *C. retusa* e *C. ochroleuca*. De acordo com Riggs (1992), *C. retusa* e *C. ochroleuca* são hospedeiras do nematóide. O índice de fêmeas na *C. ochroleuca* nos dois períodos de cultivo foi inferior a 10% e na *C. retusa* o índice de fêmeas foi maior que 10% no primeiro período de cultivo e menor que 10 % no segundo período, portanto, *C. ochroleuca* é considerada hospedeira não eficiente de *H. glycines*, enquanto *C. retusa* comportou-se como hospedeira eficiente no primeiro período de cultivo e hospedeira não eficiente no segundo período. Esse menor índice de fêmeas na segunda avaliação possivelmente se deva a ocorrência de mais ciclos do nematóide na soja. Valle (1996), avaliando a hospedabilidade de *C. juncea* à *H. glycines* raça 3, também observou que o índice de fêmeas na segunda avaliação foi menor que o índice de fêmeas encontrado na primeira avaliação. Riggs (1992) resumiu os resultados de vários estudos sobre a gama de hospedeiros do nematóide de cisto da soja,

classificando-os em hospedeiros eficientes e hospedeiros não eficientes. Entre as espécies de *Crotalaria* consideradas hospedeiras não eficientes estão: *C. juncea*,

QUADRO 3. Número de fêmeas e ovos de *H. glycines* nas raízes de espécies de *Crotalaria* e soja, aos 30 e 45 dias de cultivo. Dourados-MS, 2002.

Tratamentos	30 Dias			45 Dias		
	Fêmeas	IF(%)	Ovos	Fêmeas	IF(%)	Ovos
Soja (ET Cristalina)	75,3*a	100,0**	3644,0 a	236,1 a	100,0	7821,0 a
<i>C. retusa</i>	8,4 b	11,2	562,4 a	11,1 b	4,7	596,0 b
<i>C. ochroleuca</i>	2,9 c	3,9	293,8 b	7,6 b	3,2	454,0 b
<i>C. paulina</i>	0,0 d	0,0	0,0 c	0,0 c	0,0	0,0 c
<i>C. striata</i>	0,0 d	0,0	0,0 c	0,0 c	0,0	0,0 c
<i>C. anagyroides</i>	0,0 d	0,0	0,0 c	0,0 c	0,0	0,0 c
<i>C. spectabilis</i>	0,0 d	0,0	0,0 c	0,0 c	0,0	0,0 c
<i>Crotalaria sp.</i>	0,0 d	0,0	0,0 c	0,0 c	0,0	0,0 c
<i>C. juncea</i>	0,0 d	0,0	0,0 c	0,0 c	0,0	0,0 c
<i>C. breviflora</i>	0,0 d	0,0	0,0 c	0,0 c	0,0	0,0 c
	84,2	-	62,5	36,4	-	41,0

CV (%)

*Médias originais de 8 repetições

-Para análise do número de fêmeas e ovos os dados foram transformados em $\log(x+1)$

-Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste LSD de Fisher ($\alpha=0,05$)

** Índice de Fêmeas calculado a partir da média de 8 repetições

IF= (Nº fêmeas na cultivar testada / Nº fêmeas na soja suscetível) x 100

C. rhodesiae Barker f., *C. saltiana* Andrews e *C. verrucosa* L. e hospedeiras eficientes: *C. intermedia* Kotschy, *C. incana* L., *C. lanceolata* E. Mey., *C. leioloba* e *C. ochroleuca*.

No presente trabalho as espécies *C. juncea*, *C. spectabilis*, *C. striata*, *C. paulina*, *C. breviflora*, *C. anagyroides* e *Crotalaria sp.* comportaram-se como não hospedeiras de *H. glycines* raça 10, pois a multiplicação do nematóide não foi verificada, ou seja, fêmeas e ovos não foram observados nas raízes. Valle (1996), estudou a hospedabilidade de algumas espécies de leguminosas e gramíneas forrageiras à *H. glycines* raça 3, e observou que *C. juncea* comportou-se como hospedeira. *Crotalaria spectabilis*, *C. striata* e *C. paulina* comportaram-se como não hospedeiras desse nematóide, apesar de permitirem a penetração de juvenis, não foi verificada a

presença de fêmeas em seus sistemas radiculares. Riggs (1987), também considerou *Crotalaria spectabilis* não hospedeira de *H. glycines* raça 3.

O número de fêmeas nas raízes das espécies *C. retusa*, *C. ochroleuca* e da soja foi maior na segunda época de avaliação. Acedo *et al.* (1984), observaram fêmeas com ovos nas raízes de soja a partir de 13 dias após a inoculação. As avaliações aos 30 e 45 dias foram suficientes para que o nematóide completasse pelo menos um ciclo de vida.

Na primeira avaliação, o número de ovos encontrados nas fêmeas associadas às raízes de *C. retusa* não diferiu do número de ovos encontrados nas raízes da soja. Entretanto, nestas duas espécies, as fêmeas produziram mais ovos que as encontradas em *C. ochroleuca* que por sua vez também diferiu das demais espécies testadas. Na segunda avaliação as fêmeas associadas às raízes da soja produziram mais ovos do que as encontradas nas espécies *C. retusa* e *C. ochroleuca*, nas demais espécies de *Crotalaria* testadas não foi possível recuperar ovos do nematóide. Também foi observada maior produção de ovos na segunda avaliação em relação à primeira, o que provavelmente se deva à ocorrência de mais ciclos do nematóide até o segundo período de avaliação. Contudo, nas espécies *C. paulina*, *C. striata*, *C. anagyroides*, *C. spectabilis*, *Crotalaria* sp., *C. juncea* e *C. breviflora*, não foi observada a presença de ovos, evidenciando o efeito antagônico dessas espécies ao nematóide.

Aos 30 dias de avaliação foram observados indivíduos de *H. glycines* associados às raízes de todas as espécies testadas. Apesar de ter ocorrido penetração de juvenis nos tecidos vegetais, *H. glycines* só completou o seu ciclo, resultando na produção de ovos, nas espécies *C. retusa*, *C. ochroleuca* e na soja (Quadro 4), comprovando a não hospedabilidade das demais espécies ao nematóide. Nas demais espécies testadas, a não verificação de fêmeas e ovos pode ter sido em consequência da inibição da formação do sincício ou necrose das células na região onde o sincício foi formado seguido de pequena ou nenhuma regeneração dos tecidos. Este fato foi observado em outro trabalho visando o estudo da resistência de plantas à *Heterodera glycines* (Endo, 1965).

QUADRO 4. População de *H. glycines* (J2, J3, J4 e adultos)¹ nas raízes de soja e diferentes espécies de *Crotalaria* aos 30 e 45 dias após a inoculação de 4.300 ovos de *Heterodera glycines*/planta. Dourados-MS, 2002.

Tratamentos	<i>HETERODERA GLYCINES</i> ¹	
	30 Dias	45 Dias
	102,5 ²	639,5
<i>Crotalaria</i> sp.	93,0	20,5
<i>C. paulina</i>	49,0	15,0
<i>C. brevipflora</i>	28,5	61,0
<i>C. retusa</i>	69,5	45,0
<i>C. ochroleuca</i>	57,0	61,0
<i>C. striata</i>	51,5	61,0
<i>C. anagyroides</i>	31,0	47,5
<i>C. spectabilis</i>	64,5	48,0
<i>C. juncea</i>	102,5	94,0

¹J2 – Juvenil de segundo estágio

J3 – Juvenil de terceiro estágio

J4 – Juvenil de quarto estágio

Adultos – machos e fêmeas

²Médias de duas repetições

Riggs (1987) observou a penetração de *H. glycines* raça 3 em raízes de *C. spectabilis* sem a subsequente formação de fêmeas. Já foi verificado que *H. glycines* também penetra, mas não se desenvolve em raízes de outras espécies vegetais. Diogo *et al.* (2000) testaram a penetração de *H. glycines* raça 3 em: rabanete (*Raphanus sativus* var. *oleiferus* L.), café (*Coffea arabica* L.), melancia (*Citrullus lanatus* (Schrad.) Mansf.), melão (*Cucumis melo* L.), gergelim (*Sesamum indicum* L.) e amor perfeito (*Viola tricolor* L.). Houve penetração, mas fêmeas não foram verificadas. Dias *et al.* (1995) não observaram fêmeas de *H. glycines* raça 3 em mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), desmódio (*Desmodium tortuosum* (Sw.) DC) e feijão-bravo (*Cassia* sp. L.), entretanto, a coloração do sistema radicular dessas plantas revelou a presença de juvenis que não se desenvolveram além do segundo estágio.

4.2. Penetração e Desenvolvimento de *Heterodera glycines* em *Crotalaria*s

Juvenis de segundo estágio penetraram nas raízes de *Crotalaria sp.*, *C. anagyroides*, *C. breviflora*, *C. juncea*, *C. ochroleuca*, *C. paulina*, *C. retusa*, *C. spectabilis*, *C. striata* e soja (Quadro 5). Apesar de ter ocorrido penetração de *H. glycines* em todas as espécies testadas, verificou-se que apenas nas espécies *C. retusa*, *C. ochroleuca*, *C. juncea* ocorreu desenvolvimento do nematóide atingindo os estádios J3/J4. Nas demais espécies de *Crotalaria* testadas, não foi observada ecdise do nematóide, sendo o desenvolvimento do nematóide restrito ao estágio infectivo J2. Também não foi observada a presença de fêmeas em todas as espécies de *Crotalaria* testadas, o que reforça o efeito antagonista dessas espécies à *H. glycines*. Ecdise de J3/J4 foram observadas nas raízes de *C. retusa* e *C. ochroleuca* aos 17 dias após a inoculação. Em *Crotalaria juncea* o estágio J3/J4 foi observado a partir de 20 dias após a inoculação. Schmitt & Riggs (1991) testaram cultivares de repolho quanto ao estímulo à eclosão de *H. glycines* e observaram que o repolho apesar de não estimular eclosão, permitiu a penetração e o desenvolvimento do nematóide até J4. Não foi observada a presença de fêmeas e cistos.

QUADRO 5. Número e fase de desenvolvimento de nematóides nas raízes de soja BRS 133, *Crotalaria* sp., *C. paulina*, *C. breviflora*, *C. retusa*, *C. ochroleuca*, *C. striata*, *C. anagyroides*, *C. spectabilis*, e *C. juncea* até 33 dias após a inoculação de 800 juvenis de *H. glycines*. Dourados-MS, 2002/2003.

DAI	Estádio do nematóide	Tratamentos									Soja
		<i>C. ANAGYROIDES</i>	<i>C. breviflora</i>	<i>C. JUNCEA</i>	<i>C. ochroleuca</i>	<i>C. paulina</i>	<i>C. retusa</i>	<i>CROTALARIA</i> SP.	<i>C. STRIATA</i>		
2	J2 ¹	82,5 ³	42	145	42,5	55	23,5	27,5	39	16	78,5
	J3/J4 ²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	J2	82	78,5	179	32,5	64,5	54	43	65	106,5	118
	J3/J4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	J2	35	50,5	117,5	36,5	76,5	51,5	81	53,5	101,5	100,5
	J3/J4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	J2	44	49	111	45,5	44,5	15	15,5	35	67,5	22,5
	J3/J4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,5
14	J2	29,5	65	33,5	29	52	19,5	44,5	51	40,5	2
	J3/J4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,5
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
17	J2	66,5	51,5	112	36	32	40,5	37	54	55,5	4
	J3/J4	-	-	-	2,5	-	1,5	-	-	-	46
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,5
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,5
20	J2	39	15,5	26	12	21	21	4	16,5	33,5	3,5
	J3/J4	-	-	1,5	-	-	-	-	-	-	59,5
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16
23	J2	19	54	32,5	37,5	26	28	12	48	44	1,5
	J3/J4	-	-	2	3,5	-	2	-	-	-	38
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26,5
28	J2	29	33	37	25,5	14,5	19,5	9	62	36	1
	J3/J4	1	-	1,5	4,5	-	2,5	-	-	-	17,5
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27,5
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11,5
33	J2	14	19	25,5	23,5	26,5	12,5	18,5	39	23,5	-
	J3/J4	-	-	1	2,5	-	2	-	-	-	16,5
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8

DAI – Dias após a inoculação

¹ Juvenil de segundo estágio

² Juvenil de terceiro ou quarto estágio

³ Médias de duas repetições

Em raízes da soja suscetível, 11 dias após a inoculação foi verificada a presença de J3/J4, fêmeas e machos de *H. glycines*. Acedo *et al.* (1984), estudando o desenvolvimento *H. glycines* em cultivares de soja, observou a presença de fêmeas aos 13 dias após a inoculação. Em nosso trabalho, o número de machos encontrados na soja foi superior ao número de fêmeas. Uma explicação para este fato é que o experimento foi conduzido em copos plásticos com capacidade limitada de substrato, podendo assim ter limitado o crescimento radicular da soja. Desta forma, é de se esperar que com altas populações de *H. glycines* no solo, grande quantidade de juvenis de segundo estágio que penetraram nas raízes, em decorrência da grande competição não tenham conseguido estabelecer sítios de alimentação, os sincícios, essenciais para a sobrevivência e o desenvolvimento do nematóide no tecido vascular da planta. Trabalho realizado por Koliopanos & Triantaphyllou (1972), também permite explicar os resultados obtidos, pois, esses autores observaram que em baixas densidades de infecção, igual número de machos e fêmeas desenvolve-se nas raízes de planta hospedeira. Porém, com o aumento populacional e conseqüentemente, sob estresse alimentar há aumento na proporção de machos, em decorrência da mortalidade de fêmeas.

A presença de juvenis de segundo estágio foi constatada até o final do experimento em todas as espécies de *Crotalaria* testadas. Em *Crotalaria retusa*, *C. ochroleuca* e *C. juncea* não foi verificada a presença de fêmeas, apenas J3/J4 foram observados até os 33 dias após a inoculação. Entretanto, no teste de hospedabilidade, fêmeas e ovos foram formados aos 30 dias de cultivo, divergindo dos resultados encontrados neste ensaio. É possível, que fatores ambientais tenham prolongado o ciclo do nematóide, indicando que o tempo de avaliação estabelecido não tenha sido suficiente para que o nematóide completasse o ciclo nestas espécies. Outro fato importante observado nestas espécies foi a degeneração de juvenis no interior do tecido radicular. A degeneração foi observada a partir de 23 dias após a inoculação. Uma hipótese para a degeneração é a ocorrência de reação de hipersensibilidade, caracterizada por necrose das células ao redor do sincício, havendo colapso de células nutrizas responsáveis pela alimentação, conseqüentemente o desenvolvimento dos juvenis também é cessado. Na soja, J2 foram observados até os 28 dias após a inoculação, e degeneração de juvenis não foi verificada, possivelmente devido ao ciclo

ter ocorrido mais rapidamente nesta espécie. Aos 33 dias poucos machos foram observados nas raízes da soja, isso se deve ao fato de eles abandonarem as raízes para fecundar fêmeas.

Futuros experimentos avaliando o efeito de esquemas de rotação de culturas em áreas naturalmente infestadas com *Heterodera glycines* poderão incluir em seus tratamentos diferentes espécies de *Crotalaria* para avaliação de seus potenciais antagonistas à nível de campo.

4.3. Efeito de Espécies de *Crotalaria* sobre *Heterodera glycines*

A avaliação do número de cistos no substrato onde se cultivou as crotalarias e a soja por 60 dias (Quadro 6), mostrou que o nematóide não se multiplicou nas espécies de *Crotalaria* testadas. Entretanto, o sistema radicular das plantas foi incorporado ao solo sem a prévia quantificação do número de fêmeas associadas, desta forma não descartando a possibilidade da presença de fêmeas. Também foram encontrados juvenis no solo em todos os tratamentos, sendo que, no tratamento onde se cultivou as crotalarias, o número de juvenis encontrados foi menor comparado ao tratamento onde se cultivou a soja.

QUADRO 6. Número de cistos e juvenis de *H. glycines* recuperados em 100 cm³ de substrato após 60 dias de cultivo de soja e diferentes espécies de *Crotalaria*. Dourados-MS, 2002.

TRATAMENTOS	CISTOS	JUVENIS
Soja	31,2 * a	418,6 a
<i>Crotalaria sp.</i>	0,0 b	28,7 b
<i>C. spectabilis</i>	0,0 b	72,0 b
<i>C. paulina</i>	0,0 b	69,4 b
<i>C. juncea</i>	0,0 b	51,1 b
<i>C. ochroleuca</i>	0,0 b	43,2 b
<i>C. breviflora</i>	0,0 b	36,3 b
<i>C. retusa</i>	0,0 b	33,6 b
<i>C. anagyroides</i>	0,0 b	30,1 b
<i>C. striata</i>	0,0 b	26,6 b
CV (%)	156,2	31,4

* Médias originais de 10 repetições

Dados transformados para análise em $\log(x+1)$

-Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste LSD de Fisher ($\alpha=0,05$)

A avaliação do sistema radicular da soja cultivada após as crotalarias, evidenciou a presença de fêmeas, cistos e ovos em todos os tratamentos (Quadro 7), entretanto, o número total de fêmeas e cistos nos tratamentos onde as crotalarias precederam a soja, foi menor comparado ao tratamento onde se cultivou soja após soja. Nos tratamentos onde as espécies *Crotalaria sp.*, *C. retusa*, *C. anagyroides*, *C. paulina*, *C. spectabilis*, *C. breviflora*, *C. juncea*, *C. striata* e *C. ochroleuca* precederam a soja, não houve diferença entre o número total de fêmeas e cistos. Schwan et al., 2001, testando o efeito do cultivo de algumas espécies de *Crotalaria* sobre a população de *H. glycines* no solo, observaram a presença de três fêmeas do nematóide no sistema radicular da soja cultivada após as espécies *C. ochroleuca*, *C. breviflora* e *C. anagyroides*, enquanto que, na soja cultivada após soja a foram encontradas 833 fêmeas por sistema radicular.

QUADRO 7. Número de fêmeas, cistos e ovos de *H. glycines* por sistema radicular de soja e número de cistos, ovos e juvenis extraídos de substrato após 45 dias de cultivo de soja. Dourados-MS, 2002/2003.

	Sistema Radicular		Substrato ¹		
	Fêmeas e Cistos	Ovos	Cistos		Juvenis
Soja – soja	248,2 ² a	26.371a	31,3 a	5832,2 a	412,0a
<i>Crotalaria sp.</i> – soja	109,7 b	3.201 b	0,8 b c	24,3 c d	110,5 b
<i>C. retusa</i> – soja	121,9 b	3.512 b	2,3 b	135,3 b	135,8 b
<i>C. anagyroides</i> – soja	100,2 b	3.204 b	0,8 b c	35,8 b c d	165,9 b
<i>C. paulina</i> – soja	90,8 b	2.148 c	1,8 b	83,1 b c	103,0 b
<i>C. spectabilis</i> – soja	115,5 b	4.334 b c	2,1 b	82,9 b c	122,8 b
<i>C. breviflora</i> – soja	54,7 b	3.231 b c	2,8 b	159,2 b c	250,8 b
<i>C. juncea</i> – soja	48,1 b	2.668 b c	1,3 b c	131,8 b	101,2 b
<i>C. striata</i> – soja	95,0 b	3.298 b c	2,1 b	135,6 b	114,1 b
<i>C. ochroleuca</i> - soja	34,0 b	1.299 b c	0,1 c	6,8 d	123,6 b
CV(%)	29,6	23,5	78,6	69,9	21,7

¹ Amostra de 100 cm³

² Médias originais de 10 repetições

Dados transformados para análise em log (x+1)

-Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente entre si, pelo teste LSD de Fisher ($\alpha=0,05$)

As espécies de *Crotalaria* utilizadas contribuíram para a redução do número de ovos/sistema radicular de soja. A redução de ovos foi na ordem de 83,6% a 95,1%, mostrando que todas as espécies de *Crotalaria* testadas neste experimento foram eficientes em reduzir populações de *H. glycines*, evidenciando o efeito antagônico sobre esse nematóide.

A recuperação de fêmeas, cistos e ovos no sistema radicular da soja após o cultivo das crotalarias, é consequência da presença de juvenis *H. glycines* no substrato onde se cultivou as espécies de *Crotalaria* por 60 dias (Quadro 6). Nesse experimento utilizou-se uma suspensão de ovos como inóculo, por isso, a população remanescente

pode ser explicada devido ao diferente desenvolvimento e estádios fisiológicos dos ovos, o que provavelmente afetou a eclosão. Outra possibilidade, é o fato de exsudatos radiculares das crotalarias terem afetado os estádios fisiológicos dos ovos retardando a eclosão. O plantio subsequente de soja suscetível contribuiu para a multiplicação do nematóide nesta cultura. É provável, que um maior período de cultivo das crotalarias possa levar a uma diminuição ou até mesmo erradicação desse nematóide. Já foi verificado que a mobilidade de juvenis é afetada por exsudatos radiculares de espécies de *Crotalaria* (Villar & Zavaleta-Mejia 1990). Estes autores avaliaram a ação de exsudatos radiculares de *Crotalaria longirostrata* Hook y Arnott sob juvenis de *Meloidogyne* spp., e observaram que após 12 horas de contato foi possível notar o efeito sobre a mobilidade das larvas alcançando 100% de inativação após 72 horas de exposição, entretanto, quando expostas a água estéril, 86% das larvas recuperaram o movimento, evidenciando um efeito nematostático dos exsudatos da crotalaria testada.

Cistos e juvenis foram encontrados nas amostras de substrato retiradas dos vasos após 45 dias de cultivo da soja. Nos tratamentos onde se cultivou as espécies de *Crotalaria* previamente a soja, o número de cistos e juvenis foi menor comparado ao tratamento soja após soja. O número de ovos extraídos dos cistos nos tratamentos onde as crotalarias precederam a soja também foi menor que no tratamento soja após soja. Isto se deu em consequência da ação antagônica das espécies de *Crotalaria*.

Valle (1996), avaliando o efeito de leguminosas sobre *Heterodera glycines* raça 3, verificou a eficiência de *Crotalaria spectabilis* e *Crotalaria striata* em reduzir populações desse nematóide. Outros trabalhos já comprovaram o efeito antagônico de espécies de *Crotalaria* a outros fitonematóides, como *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp. e *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (Silva, 1988; Asmus & Ferraz, 1988).

O efeito antagônico das diferentes espécies de *Crotalaria*, foi também evidenciado quando se analisou o peso da massa seca da soja cultivada por 45 dias (Quadro 8). Observou-se maior produção de massa seca na soja cultivada sucessivamente às espécies de *Crotalaria* em relação ao cultivo da soja após soja.

QUADRO 8. Massa seca da parte aérea de soja cultivada 45 dias após soja, e espécies de *Crotalaria* em vasos contendo substrato infestado com *H. glycines*. Dourados-MS, 2002/2003.

<i>C. retusa</i> – soja	2,2*	a
<i>C. paulina</i> – soja	2,1	a
<i>C. anagyroides</i> – soja	1,9	a
<i>C. spectabilis</i> – soja	1,9	a
<i>C. ochroleuca</i> - soja	1,8	a
<i>C. juncea</i> – soja	1,8	a
<i>C. striata</i> – soja	1,8	a
<i>Crotalaria</i> sp. – soja	1,7	a
<i>C. breviflora</i> – soja	1,8	a
Soja - soja	0,6	b
CV(%)	20,1	

* Médias originais de 10 repetições

Dados transformados para análise em \sqrt{x}

-Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente entre si, pelo teste LSD de Fisher ($\alpha=0,05$)

5. conclusões

ENTRE AS ESPÉCIES DE *CROTALARIA* TESTADAS, *C. PAULINA*, *C. STRIATA*, *C. ANAGIROIDE*, *C. SPECTABILIS*, *CROTALARIA* SP., *C. JUNCEA* E *C. BREVIFLORA* COMPORTARAM-SE COMO NÃO HOSPEDEIRAS DE *HETERODERA GLYCINES*. OCORREU PENETRAÇÃO DE JUVENIS EM TODAS AS ESPÉCIES, PORÉM, EM *C. RETUSA*, *C. OCHROLEUCA* E *C. JUNCEA*, O DESENVOLVIMENTO OCORREU SOMENTE ATÉ OS ESTÁDIOS J3/J4.

As espécies *Crotalaria* sp., *C. paulina*, *C. striata*, *C. anagyroides*, *C. spectabilis*, *C. juncea*, *C. breviflora*, *C. retusa* e *C. ochroleuca*, atuaram como antagonistas de *H. glycines*, pois foram eficientes na redução da população do nematóide quando precederam a soja.

Crotalaria sp., *C. paulina*, *C. striata*, *C. anagyroides*, *C. spectabilis*, *C. juncea*, e *C. breviflora* atuaram como plantas armadilhas, pois apesar de terem permitido a penetração de *H. glycines*, o nematóide não conseguiu se desenvolver.

6. Referências
Bibliográficas

ACEDO, J.R. & DROPKIN, V.H. Technique for Obtaining Eggs and Juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v.14, n.3, p.418-420, 1982.

ACEDO, J.R.; DROPKIN, V.H. & LUEDDERS, V.D. Nematode Population Attrition and Histopathology of *Heterodera glycines*–Soybean Association. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.16, n.1, p.48-57, 1984.

ALSTON, D.G. & SCHMITT, D.P. Development of *Heterodera glycines* Life Stages as Influenced by Temperature. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.20, n.3, p.366-372, 1988.

ALSTON, D.G. & SCHMITT, D.P. Population Density and Spatial Pattern of *Heterodera glycines* in Relation to Soybean Phenology. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.19, n.3, p.336-345, 1987.

ANDERSON, T.R.; WELACKY, T.W.; OLECHOSWKI, T.H.; ABLETT, G. & EBSARY, B.A. First Report of *Heterodera glycines* in Ontario. **Plant Disease**, St Paul, v.72, 1988. p.453.

ANDRADE, N.C. de & PONTE, J.J. da. Efeito do Sistema em Camalhão e do Consórcio com *C. spectabilis* no Controle de *M. incognita* em Quiabeiro. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.11-16, 1999.

ANDRADE, P.J.M. & ASMUS, G.L. Disseminação do Nematóide de Cisto da Soja, *Heterodera glycines*, pelo Vento Durante o Preparo do Solo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.21, n.1, p.98-100,1997.

ASMUS, G.L. & ANDRADE, P.J.M. Níveis de Danos. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA. **O Nematóide de cisto da Soja: A Experiência Brasileira**. Jaboticabal, p. 71-81, 1999.

ASMUS, R.M.F. & FERRAZ, S. Antagonismo de Algumas Espécies Vegetais, Principalmente Leguminosas, a *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.13, n.1, p.20-24, 1988.

BRINGEL, J.M.M. & SILVA, G. Efeito Antagônico de Algumas Espécies de Plantas a *Helicotylenchus multicinctus*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.2, p.179-181, 2000.

BYRD, Jr. D.W.; KIRPATRICK, J. & BARKER, K.R. An Improved Technique for Clearing and Staining Plant Tissues for Detection of Nematodes. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v.15, n.1, p.142-143, 1983.

CARNIELLI, A. Reação de Culturas Utilizadas em Rotação e Sucessão à Soja ao Nematóide *Heterodera glycines*. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, 1995, Rio Quente, GO. **Programa e anais...** Brasília, DF: SBN/ONTA, 1995. p.35.

CONAB, 2003. **Indicativos de Agropecuária**. Disponível em URL: <http://www.conab.gov.br>. Consultado em 17 abr. 2003.

DIAS, W.P., FERRAZ, S., SILVA, A.A., LIMA, R.D. & VALLE, L.A.C. Hospedabilidade de Algumas Ervas Daninhas ao Nematóide de Cisto da Soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE

NEMATOLOGIA TROPICAL, 1995, Rio Quente, GO. **Programa e anais...** Brasília, DF: SBN/ONTA, 1995. p.36.

DIOGO, A.M.; SEDIYAMA, T.; LIMA, R.D. de & SEDIYAMA, C.S. Penetração e Reprodução de *Heterodera glycines*, Raça 3, em Algumas Espécies Vegetais. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.24,n.1. p.27-32, 2000.

DUNN, R.A. Extraction of Cysts of *Heterodera glycines* from Soils by Centrifugation in High Density Solutions. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.1, n.2, p.7, 1969.

EMBRAPA. **Recomendações Técnicas para a Cultura da Soja na Região Central do Brasil**. Embrapa Soja, Londrina: Embrapa Soja/Fundação MT, 2000. 245p.

ENDO, B.Y. Histological Responses of Resistant and Susceptible Soybean Varieties, and Backcross Progeny to Entry and Development of *Heterodera glycines*. **Phytopathology**, St. Paul, v.55, p.249-372, 1965.

FERRAZ, C.A.M.; CIA, E. & SABINO, N.P. Efeito da Mucuna e Amendoim em Rotação com Algodoeiro. **Bragantia**, Campinas, v.36, p.1-9, 1977.

FERRAZ, S. & VALLE, L.A.C. da. Utilização de Plantas Antagônicas no Controle de Fitonematóides. In: XIX CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA E XXVII CONGRESSO DA ORGANIZAÇÃO DOS NEMATOLOGISTAS DA AMÉRICA TROPICAL. Rio Quente, Brasil, **Anais...**, p.257-276, 1995.

FERRAZ, S.; DIAS, C.R. & FREITAS, L.G. de. Controle de Nematóides com Práticas Culturais. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Manejo Integrado Fitossanidade: Cultivo Protegido, Pivô Central e Plantio Direto**, Viçosa, ed. Suprema, p.1-51, 2001.

FERRAZ, S.; VALLE, L.A.C. do & DIAS, C.R. Utilização de Plantas Antagônicas no Controle do Nematóide de Cisto da Soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). In:

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA. **O Nematóide de cisto da Soja: A Experiência Brasileira.** Jaboticabal, p. 25-53, 1999.

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.** Jaboticabal, , p.55-70, 1999.

GARCIA-MARTINEZ, R. Post-infection Development and Morphology of *Meloidogyne cruciani*. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v.14, n.3, p.332-338, 1982.

GOMEZ-TOVAR, J. & MEDINA, C. *Heterodera glycines* em Soya y Frijol en el Valle del Cauca, Colômbia. **Nematropica**, Auburn, v. 13, p.229-237, 1983.

HAMBLEEN, M.L.; SLACK, D.A. & RIGGS, R.D. Temperature Effects on Penetration and Reproduction of Soybean-Cyst Nematode. **Phytopathology**, St Paul, v.62, 1972. p.762. (abstract).

HUANG, J.S. & BARKER, K.R. Influence of *Heterodera glycines* on Leghemoglobins of Soybean Nodules. **Phytopathology**, St Paul, v.73, n.7, p.1002-1004, 1983.

JAEHN, A. & MENDES, B.V. Avaliação da Penetração e Desenvolvimento de *Meloidogyne incognita* em *Crotalaria spectabilis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 7, Araxá, 1979. **Resumos...**, Rio de Janeiro, IBC, 1979. p.28-29.

JENKINS, W.R. A Rapid Centrifugal-flotation Technique for Separating Nematodes from Soil. **Plant Disease Reporter**, St Paul, v.48, 1964. p.692.

KOENNING, S.R. & SCHMITT, D.P. Hatching and Diapause of Field Populations of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, DeLeon Springs, v.17, n.4, 1985. p. 502.

KOLIOPANOS, C.N. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. Effect of Infection Density on Sex Ratio of *Heterodera glycines*. **Nematologica**, E. J. Brill, 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, 1992. Lavras. **Resumos...** Lavras: Sociedade Brasileira de Nematologia/Escola superior de Agricultura de Lavras, 1992. p.81.

LORDELLO, A.I.; LORDDELLO, R.R.A. & GUAGGIO, J.A. *Heterodera* sp. Reduz Produção de Soja no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16, 1992. Lavras. **Resumos...** Lavras: Sociedade Brasileira de Nematologia/Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1992. p.81.

MANSO, E.S.B.G.C. & TENENTE, R.C.V. Nematóide (*Heterodera glycines* Ichinohe) Formador de Cisto em Soja. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, CENARGEN. **Comunicado Técnico**, 8, Brasília, 1984. p.5.

MONTEIRO, A.R. & MORAIS, A.R.A.C. Ocorrência de Nematóide de Cisto *Heterodera glycines*, 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.81.

MOORE, W.F.; BOST, S.C.; BREWER, L.F. & DUNN, R.A. **Soybean Cyst Nematode**. American Soybean Association and the Southern Disease Works, 1990, 23p.

NIBLACK, T.L. The Race Concept. In: RIGGS, R. D. & WRATHER, A.A. (Eds.). **Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode**. St. Paul: APS Press. 1992. p.73-86.

NOEL, G.R. History, Distribution and Economics. In: RIGGS, R. D. & WRATHER, A.A. (Eds.). **Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode**. St. Paul: APS Press. 1992. p.1-13.

PORTZ, R.L.; GARTNER, M.; VIGO, S.C.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J.R. & FURLANETTO, C. Ocorrência do Nematóide de Cisto da Soja (*Heterodera glycines*) no Oeste do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, suplemento, 2001. p.502.

RIGGS, R.D. Host range. In: RIGGS, R. D. & WRATHER, A.A. (Eds.). **Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode**. St. Paul: APS Press. 1992. p.107-114.

RIGGS, R.D. Nonhost Root Penetration by Soybean Cyst Nematode. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.19, n.2, p.251-254, 1987.

RIGGS, R.D. & SCHMITT, D.P. Complete Characterization of the Race Scheme for *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, St. Paul, v.20, n.3, p. 39-395, 1988.

RODRIGUEZ-KÁBANA, R.; WEAVER, D.B.; ROBERTSON, D.G.; YOUNG, R.W.; CARDEN, E.L. Rotations of Soybean with two Tropical Legumes for the Management of Nematode Problems. **Nematropica**, Auburn ,v.20, p.101-110, 1990.

ROESSING, A.C. & GUEDES, L.C.A. Aspectos Econômicos do Complexo Soja: Sua Participação na Economia Brasileira e Evolução na Região do Brasil Central. In: ARANTES, N.E. & SOUZA, P.I. de M. ed. **Cultura da soja nos Cerrados**. Piracicaba, SP: POTAFOS, 1993. p.399-416.

ROSS, J.P. Effect of Soil Temperature on Development of *Heterodera glycines* in Soybean Roots. **Phytopathology**, St Paul, v.54, p.1228-1231, 1964.

SCHMITT, D.P. Management of *Heterodera glycines* by Cropping and Cultural Practices. **Journal of Nematology**, St. Paul, v.23, n.3, p.348-352, 1991.

SCHMITT, D.P. & RIGGS, R.D. Influence of Selected Plant Species on Hatching of Eggs and Development of Juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.23, n.1, p.1-6. 1991.

SCHMITT, D.P. & RIGGS, R.D. Population Dynamics and Management of *Heterodera glycines*. **Agricultural Zoology Reviews**, Arkansas, v.3, p.253-269, 1989.

SCHWAN, A.V.; DIAS, C.R.; NEVES, W.S. & FERRAZ, S. Efeito do Cultivo de Espécies de *Crotalaria* Sobre a População de *Heterodera glycines*, no Solo. In: XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, Marília, 2001, **Anais...** Marília, 2001. p.77.

SLACK, D.A. & HAMBLEEN, M.L. The Effect of Various Factors on Larval Emergence from Cysts of *Heterodera glycines*. **Phytopathology**, St Paul, v.51, p.350-355, 1961.

SILVA, G.S.; **Antagonismo de Espécies de *Crotalaria* a Fitonematóides**. 1988, 86f. Dissertação (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1988.

SILVA, G.S.; FERRAZ, S. & SANTOS, J.M. Efeito de *Crotalaria* sp. sobre *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* raça 3 e *M. exigua*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.1, p.94-96, 1990a.

SILVA, G.S.; FERRAZ, S. & SANTOS, J.M. Histopatologia de Raízes de *Crotalaria* Parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.1, p.46-48, 1990b.

SILVA, J.F.V. Um Histórico. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA. **O Nematóide de cisto da Soja: A Experiência Brasileira**. Jaboticabal, p. 15-23, 1999.

TAYLOR, A.L. & SASSER, J.N. **Biology, Identification and Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne species*)**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1978. 111p.

TIHOHOD, D. **Nematologia Agrícola Aplicada**. 2 ed., Jaboticabal, 2000. 473p.

TIHOHOD, D. & SANTOS, J.M. do. *Heterodera glycines*: Novo Nematóide da Soja no Brasil. Detecção e Medidas Preventivas. FUNEP, **Boletim Técnico**, n.4, Jaboticabal, 1993. 23p.

TYLKA, G. **Soybean Cyst Nematode**. Disponível em: URL: <http://www.tylkalab.org>. (janeiro de 1994). Acesso em abril de 2003.

VALLE, L.A.C. **Controle do Nematóide de Cisto da Soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, com Leguminosas e Gramíneas Forrageiras**. 1996, 74f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

VILLAR, M.J. de & ZAVALETA-MEJIA, E. Efecto de *Crotalaria longirostrata* Hook y Arnott sobre Nematodos Agalladores (*Meloidogyne* spp.). **Revista Mexicana de Fitopatologia**, Chapingo, v.8, n.2, p.166-172, 1990.

WANG, J. & NIBLACK, T.L. Soybean Cyst Nematode Reduces Soybean Yield Without Causing Obvious Aboveground Symptoms. **Plant Disease**, St. Paul, v.87, n.6, p.623-628, 1993

WEAVER, D.B.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. & GARDEN, E.L. Velvetbean and Bahiagrass as Rotation Crops for Management of *Meloidogyne* sp. and *Heterodera glycines* in Soybean. **Journal of Nematology**, v.30, suplemento, n.4, p.563-568, 1998.

WINSTEAD, N.N.; SKOTLAND, C.B. & SASSER, J.N. Soybean-Cyst Nematode in North Carolina. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.39, 1955. p.911.

WRATHER, J.A.; ANDERSON, T.R.; ARSYAD, D.M.; GAI, J.; PORTO-PUGLIA, A.; RAM, H.H. & YORINORI, J.T. Soybean Disease Loss Estimates for the Top 10 Soybean Producing Countries in 1994. **Plant Disease**, St Paul, v.81, n.1, p.107-110, 1997.

YORINORI, J.T. Riscos de Surgimento de Novas Doenças na Cultura da Soja. In: CONGRESSO DE TECNOLOGIA E COMPETITIVIDADE DA SOJA NO MERCADO GLOBAL,1, Cuiabá, 2000. **Anais**. Cuiabá: Fundação MT, 2000. p.165-169.

YOUNG, L.D. Epiphytology and Life Cycle. In: RIGGS, R.D. & WRATHER, J.A. (Eds.). **Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode**. St. Paul, APS, 1992. p.27-36.

APÊNDICE

QUADRO A. Quadrados médios da análise de variância do número de fêmeas e ovos de soja e espécies de *Crotalaria* aos 30 e 45 dias de cultivo

Fonte de Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		30 Dias		45 Dias	
		Fêmeas ¹	Ovos	Fêmeas	Ovos
Espécies	9	2,56	13,26	4,60	17,44
Resíduo	70	0,07	0,42	0,023	0,15
Total	79				

¹Dados transformados em log x+1 para análise.

QUADRO B. Quadrados médios da análise de variância do número de cistos e juvenis recuperados em 100 cm³ de substrato aos 60 dias de cultivo de soja e diferentes espécies de *Crotalaria*.

Fonte de Variação	G.L.	Quadrados Médios	
		Cistos ¹	Juvenis ¹
Espécies	9	1,44	0,94
Resíduo	90	0,04	0,24
Total	99		

¹Dados transformados em log x+1 para análise.

QUADRO C. Quadrados médios da análise de variância do número de fêmeas, cistos e ovos por sistema radicular de soja e número de cistos, ovos e juvenis extraídos do substrato após 45 dias de cultivo de soja.

Quadrados Médios						
		Sistema Radicular		Substrato ¹		
Fonte de Variação	G. L.	Fêmeas ²		Cistos	Ovos	Juvenis
		+	Ovos			
		Cistos				
Tratamentos	9	0,65	2,16	1,25	7,77	0,40
Resíduo	90	0,28	0,59	0,10	0,93	0,93
Total	99					

¹ Amostra de 100 cm³

² Dados transformados em log x+1 para análise.

QUADRO D. Quadrados médios da análise de variância do peso de massa seca da parte aérea de soja cultivada 45 dias após soja e demais espécies de *Crotalaria*.

Quadrados Médios		
Fontes de Variação	G.L.	Massa seca parte aérea ¹ (g)
Soja	9	3,97
Resíduo	90	5,30
Total	99	

¹ Dados transformados em \sqrt{X} para análise.