



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

ELISE NOCKO SCHIDLOWSKI

**DESENVOLVIMENTO DE *Heterodera glycines* RAÇA 3 EM
DIFERENTES ESPÉCIES DE CROTALÁRIA**

Londrina
2016

ELISE NOCKO SCHIDLOWSKI

**DESENVOLVIMENTO DE *Heterodera glycines* RAÇA 3 EM
DIFERENTES ESPÉCIES DE CROTALÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Santiago.

Londrina
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Schidlowski, Elise Nocko.

Desenvolvimento de *Heterodera glycines* raça 3 em diferentes espécies de crotalária / Elise Nocko Schidlowski. - Londrina, 2016.
56 f.

Orientador: Débora Cristina Santiago.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2016.
Inclui bibliografia.

1. Nematóide de cisto da soja - Tese. 2. Soja - Doenças e pragas - Tese. 3. Leguminosa - Tese. 4. Fitopatologia - Tese. I. Santiago, Débora Cristina. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

ELISE NOCKO SCHIDLOWSKI

**DESENVOLVIMENTO DE *Heterodera glycines* RAÇA 3 EM
DIFERENTES ESPÉCIES DE CROTALÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina
Santiago
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Dra. Neucimara Rodrigues Ribeiro
Genética do Brasil – GDM

Prof. Dra. Aparecida Donisete de Faria
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 29 de abril de 2016.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me dado forças para continuar determinada em cada etapa deste processo.

À minha orientadora, Prof^a Dra. Débora Cristina Santiago, pelo grande apoio e incentivo ao longo desses anos, pela orientação, dedicação e amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade de realizar o Mestrado com disponibilidade de bolsa.

À Prof^a Dra. Aparecida Donisete de Faria que contribuiu com conhecimento e assistência durante a condução do trabalho.

À Dra. Neucimara Rodrigues Ribeiro que disponibilizou espaço e instalações da empresa GDM Seeds para que o trabalho pudesse dar continuidade.

À minha família, a base de tudo, pelo constante encorajamento. Minha mãe, Sonia Maria Nocko, minha grande inspiração, modelo de mulher e ser humano, a qual devo, e ofereço, todas as minhas conquistas. Ao meu pai, Antônio Eloy Schidlowski, que revelou-se como um exemplo de motivação, determinação, força de vontade e atitude para enfrentar os obstáculos no decorrer do caminho. E minha irmã, Laíse Nocko Schidlowski, por ser minha eterna defensora e parceira de vida.

À Katyuscia C. Kubaski, pela tamanha paciência exercida comigo nos últimos oito anos. Por ter saído da Graduação para minha vida, estar sempre ao meu lado me acompanhando e ensinando. Por ser tão especial, amiga e companheira de todas as horas.

Ao Giovani de Oliveira Arieira, meu amigo, irmão, que me incentivou a chegar onde cheguei. Meu eterno agradecimento por tudo o que me proporcionou nesses mais de cinco anos de parceria.

Aos meus amigos Aline Fernandez, Cristiano Freitas, Felipe Canizela, Filipe Guilherme, Júlio Nunes, Marlon Pegoraro de Moraes e Vitor Pessoa, por me mostrarem o verdadeiro significado da palavra amizade.

Às amigas Alessandra Koltun e Débora Ingrid de Souza pela “melhor rotina do mundo”.

Aos colegas de laboratório Adriele Silva do Prado, Adriely Alves de Almeida, Camila Nishimura, Gabriel Ribeiro de Lima, Lana Taiane Cruz, Lucas Herrera Camilotti, Poliana Aline Flora Catarino e Thaise Nagafuchi, pelos tantos momentos de descontração que confortaram minha ansiedade, e por tornármos tão agradável e divertido nosso ambiente de trabalho.

A todas as pessoas envolvidas nesta conquista que dedicaram um pouco de seu tempo em conselhos, auxílio, incentivo e colaboração para que a Dissertação se concretizasse.

SCHIDLOWSKI, Elise Nocko. **Desenvolvimento de *Heterodera glycines* raça 3 em diferentes espécies de crotalária.** 2016. 56f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

RESUMO

A utilização de plantas antagonistas para o manejo de fitonematoides é uma ferramenta promissora, por se tratar de um método que afeta negativamente a população desses patógenos no solo. O gênero *Crotalaria* é uma boa opção, principalmente, por serem não hospedeiras e/ou não permitirem a multiplicação de diversos nematoides. Porém, algumas informações sobre a forma de condução dos ensaios podem ser melhor elucidadas visando a eficiência das metodologias, assim como a confirmação sobre o comportamento de resistência de *Crotalaria* spp. ao nematoide de cisto da soja. Sendo assim, os objetivos do presente trabalho foram avaliar a infectividade, desenvolvimento de juvenis e a reprodução de *Heterodera glycines* raça 3 em plantas de *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. ochroleuca* e *C. spectabilis* obtidas de diferentes formas, em diferentes períodos, em condições de casa de vegetação. A dissertação está apresentada em dois artigos. No primeiro, avaliou-se a influência de três formas de obtenção de plântulas, para as espécies *C. breviflora*, *C. juncea*, *C. spectabilis* e *C. ochroleuca* sobre a penetração e o desenvolvimento de juvenis de *H. glycines* raça 3 nas raízes aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação (DAI). Com base nos resultados, verificou-se que o desenvolvimento inicial das espécies de crotalária deve ser considerado no momento da inoculação de *H. glycines*, principalmente, em experimentos conduzidos em casa de vegetação, pois estão diretamente relacionados com os resultados obtidos. E que, a semeadura realizada diretamente no vaso, porém de forma escalonada de acordo com o desenvolvimento inicial da espécie, foi o tratamento que resultou em maior penetração de *H. glycines* raça 3 nas raízes de *Crotalaria* spp. No segundo artigo, determinou-se a hospedabilidade das mesmas espécies de *Crotalaria* à *H. glycines* raça 3, padronizando-se a obtenção das plântulas através da semeadura direta e escalonada de acordo com o desenvolvimento inicial das espécies. Também foi utilizada a soja cv. Lee como padrão de suscetibilidade. Aos 10, 20 e 30 DAI, foram avaliadas a massa fresca de raiz e o desenvolvimento dos juvenis. E, aos 30 DAI calculou-se, ainda, o índice de fêmeas e a produção de ovos por fêmea nas espécies de crotalária e na soja. Os resultados apontam que as espécies avaliadas permitem a penetração de juvenis de *H. glycines* raça 3. Também confirmam que *C. ochroleuca* é hospedeira do nematoide, permitindo o desenvolvimento de juvenis até a formação de fêmeas e a produção de ovos. E que *C. breviflora*, *C. juncea* e *C. spectabilis*, apesar de terem permitido a penetração de *H. glycines*, não possibilitam o desenvolvimento completo do ciclo de vida do nematoide.

Palavras-chave: Manejo cultural. Nematóide de cisto da soja. Plantas antagonistas.

SCHIDLOWSKI, Elise Nocko. ***Heterodera glycines* race 3 development in several *Crotalaria* species**. 2016. 56p. Dissertation (Master's degree in Agronomy). Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2016.

ABSTRACT

The use of antagonistic plants to management plant nematodes is a promising tool because it is a method that negatively affects the population of these pathogens in the soil. The genus *Crotalaria* is a good option, mainly because they are non-host and / or they do not allow the multiplication of several nematodes. However, some information is required about how to perform the tests to improve the efficiency of the methodologies and which is the resistance level of *Crotalaria* spp. to the soybean cyst nematode. The objective of this work was to evaluate the infectivity, development of juveniles and the reproduction of *Heterodera glycines* race 3 in *Crotalaria brevipflora*, *C. juncea*, *C. ochroleuca* and *C. spectabilis* plants obtained by different ways, at different times under greenhouse conditions. The dissertation is presented in two articles. In the first one, was investigated the influence of three ways of seedling production of *C. brevipflora*, *C. juncea*, *C. spectabilis* and *C. ochroleuca* on the efficiency of inoculation, penetration and juvenile development of *H. glycines* race 3 in roots at 10, 20 and 30 days after inoculation (DAI). Based on the results, it was verified that the initial development of *Crotalaria* species should be considered at the time of inoculation of *H. glycines*, mainly in greenhouse experiments, because they are directly related to the results obtained. The sowing done directly in the pot (in a staggered form according to the initial development of the species), was the treatment that resulted in greater penetration of *H. glycines* race 3 in the roots of *Crotalaria* spp. In the second article the hospedability of the same species of *Crotalaria* to *H. glycines* race 3 was determined, being standardized the seedlings production by direct sowing and staggered according to the initial development of the species. Soybean cv. Lee was used as the standard of susceptibility. At 10, 20 and 30 DAI, fresh root mass and juvenile development were evaluated. And, at 30 DAI, the female index and the egg production per female were also calculated in *Crotalaria* spp. and in soybean. The results indicate that all tested *Crotalaria* species allow the penetration of juveniles of *H. glycines* race 3. Results also confirmed that *C. ochroleuca* is host of the nematode, allowing the development of juveniles until the formation of females and the production of eggs. Although *C. brevipflora*, *C. juncea* and *C. spectabilis* were penetrated by juveniles of *H. glycines*, do not allow the complete development of the nematode life cycle.

Key-words: Cultural management. Soybean cyst nematode. Plants antagonists.

LISTA DE TABELAS

Quadro 1 – Raças de nematoides de cisto da soja, <i>Heterodera glycines</i> , de acordo com o esquema de determinação de raças de Riggs e Schmitt (1988) e Dias et al. (1998).....	22
Tabela 1 – Descrição dos tratamentos e forma de condução de acordo com as diferentes formas de obtenção das plântulas de <i>Crotalaria</i> spp. Londrina, PR. 2016	37
Tabela 2 – Penetração de juvenis de <i>H. glycines</i> raça 3 em plântulas das espécies de crotalaria, obtidas de diferentes formas e avaliadas aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação (DAI). Londrina, 2016	38
Tabela 3 – Massa fresca de raízes de <i>Crotalaria</i> spp., penetração de juvenis e população de <i>H. glycines</i> raça 3 nas raízes, aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação (DAI) do nematoide. Londrina, PR. 2016	46
Tabela 4 – Reprodução de <i>H. glycines</i> raça 3 em <i>Crotalaria</i> spp. e soja cv. Lee (n=10). Londrina, PR. 2016	47

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	FILO NEMATODA.....	13
2.1.1	Nematoides Fitoparasitas.....	14
2.2	NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA (NCS).....	16
2.2.1	Biologia e Ciclo de Vida	17
2.2.2	Morfologia	18
2.2.3	Sintomatologia	19
2.2.4	Disseminação.....	20
2.2.5	Raças Fisiológicas	21
2.2.6	Métodos de Controle	22
2.2.6.1	Cultivares resistentes	23
2.2.6.2	Rotação de culturas	24
2.2.6.3	Plantas antagonistas.....	25
2.2.6.3.1	<i>Crotalaria spp.</i>	27
3	ARTIGO A: INFECTIVIDADE DO NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA EM PLANTAS DE <i>Crotalaria spp.</i> OBTIDAS DE DIFERENTES FORMAS	31
	RESUMO	31
	ABSTRACT	32
	INTRODUÇÃO	33
	MATERIAL E MÉTODOS	35
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
	CONCLUSÃO	40

4	ARTIGO B: HOSPEDABILIDADE DE ESPÉCIES DE CROTALÁRIA A HETERODERA GLYCINES RAÇA 3.	41
	RESUMO	41
	ABSTRACT	42
	INTRODUÇÃO	43
	MATERIAL E MÉTODOS	44
	RESULTADOS	46
	DISCUSSÃO	47
	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

Devido às condições de clima e solos adequados, a área de produção agrícola brasileira está em constante expansão. No entanto, a ampliação da área agricultável está sujeita a fatores que limitam a obtenção de altos rendimentos. No caso da cultura da soja, entre esses fatores estão os problemas fitossanitários, sendo que no Brasil merecem destaque as doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus (EMBRAPA, 2011).

O maior impacto causado pelas doenças na cultura da soja se dá, principalmente, na esfera econômica, em que as perdas anuais causadas por essas, dependendo das condições climáticas de cada safra, estão estimadas entre 15 a 20 % da produção; à medida que algumas doenças podem ocasionar até 100% (EMBRAPA, 2011).

No Brasil, os fitonematoides mais prejudiciais à cultura da soja têm sido os formadores de galhas (*Meloidogyne* spp.), o de cisto (*Heterodera glycines*), o das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*) e o reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) (EMBRAPA, 2010).

Heterodera glycines, denominado nematoide de cisto da soja (NCS), é um dos mais importantes, pois o cisto torna-se uma estrutura rígida de proteção aos ovos, que confere capacidade de sobrevivência por até oito anos no solo, mesmo na ausência de plantas hospedeiras, o que dificulta as medidas de manejo.

O nematoide de cisto da soja possui uma grande variabilidade genética entre sua população, possuindo 11 raças da espécie descritas no Brasil, além de estar distribuído em, pelo menos, 10 estados. Sendo assim, sua severidade se dá tanto pela extensão de áreas afetadas quanto pelas perdas de produção ocasionadas. Estima-se que a área infestada com este nematoide seja superior a 2,0 milhões de hectares (EMBRAPA, 2013).

A possibilidade de manejo desse organismo por meio da utilização de plantas antagonistas tem se mostrado uma alternativa para o produtor, pois estas afetam negativamente a população de fitonematoides no solo. Além disso, quando utilizadas em esquemas de rotação ou sucessão de culturas, apresentam algumas vantagens devido à capacidade de fixar nitrogênio e fornecer expressivos volumes de matéria orgânica, aumentando a atividade de fungos antagonistas, reduzindo o crescimento de plantas daninhas e melhorando as características gerais do solo.

Atualmente, muitas são as espécies vegetais possíveis de serem utilizadas como plantas antagonistas. A utilização de *Crotalaria* spp. tem se mostrado uma das melhores opções, além de ser um eficiente adubo verde, não são hospedeiras para muitos fitonematoides. Dessa maneira, o uso de *Crotalaria* spp. como cobertura vegetal pode oferecer alternativas ao uso de nematicidas (WANG; SIPES; SCHMITT, 2002). Segundo Ferraz et al. (2010), as espécies mais difundidas no Brasil são *C. juncea*, *C. spectabilis* e *C. paulina*.

Riggs (1992) resumindo resultados de vários estudos sobre a gama de hospedeiros do nematoide de cisto da soja, classificou as espécies *C. juncea*, *C. rhodesiae*, *C. saltiana* e *C. verrucosa* como hospedeiras não eficientes; e como hospedeiras eficientes estão *C. intermedia*, *C. incana*, *C. lanceolata*, *C. leioloba* e *C. ochroleuca*. 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. Schwan (2003), em casa de vegetação, observou que apesar das espécies *C. retusa* e *C. ochroleuca* terem se comportado como hospedeiras de *H. glycines* raça 10, essas espécies atuaram como antagonistas de *H. glycines* quando precederam a soja cv. BRS 133, pois foram eficientes na redução da população do nematoide ao final do ciclo.

A maioria dos resultados conduzidos em casa de vegetação mostra que algumas espécies de *Crotalaria* afetam a reprodução do nematoide de cisto. Porém, Soares et al. (2015) reportaram a primeira ocorrência do *H. glycines* raça 3 em *C. ochroleuca*, em uma área de campo em Montividiu-GO, alertando sobre a necessidade de se evitar a sua utilização em áreas com a presença do nematoide de cisto da soja.

A diferença de resposta das espécies de crotalária frente ao nematoide de cisto da soja, também, pode estar relacionada ao desenvolvimento vegetativo que varia de acordo com a espécie, sendo que as formas de obtenção das plântulas assim como a época de inoculação podem interferir diretamente no ciclo de vida do nematoide afetando sua reprodução.

Sendo assim, os objetivos do presente trabalho foram avaliar a influência de diferentes formas de obtenção de plântulas sobre a infectividade de *Heterodera glycines* raça 3 nas espécies *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C.*

ochroleuca e *C. spectabilis* e a hospedabilidade de *Crotalaria* spp. ao nematoide de cisto, considerando a semeadura direta e escalonada de acordo com a emergência das espécies.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FILO NEMATODA

A palavra nematoide é de origem grega e significa "em forma de fio", sendo seu nome utilizado para classificar os animais do Sub-Reino Metazoa e Filo Nematoda. Entre os organismos multicelulares são os mais abundantes e constituem um grupo muito diverso, pertencendo a um Filo próprio, proposto por Cobb, em 1919, e restabelecido por Chitwood, em 1958 (GOULART, 2007).

Os nematoides possuem o corpo formado por uma parede externa que delimita a cavidade interna, a qual é preenchida por um fluido, denominado fluido pseudocelomático, onde os órgãos estão imersos. É altamente complexo em sua composição e, por estar sob pressão, funciona como um esqueleto eletrostático (FERRAZ et al., 2010).

Além disso, os nematoides possuem simetria bilateral e são animais invertebrados não-segmentados que habitam os vários biomas do planeta que contenham uma fonte disponível de carbono orgânico, ocupando nichos no mar, água doce ou ambientes terrestres (BONGERS; FERRIS, 1999). Possuem sexos separados e, geralmente, acentuado dimorfismo (FONSECA, 2002).

O filo Nematoda compreende as classes Secernentea (esôfago dividido em três partes e presença de um par de órgãos sensitivos, os fasmídios) e Adenophorea (esôfago com uma, duas, ou raramente três partes e fasmídios ausentes) e as subclasses Enoplia, Chomadoria, Rhabditia, Spiruria e Diplogasteria (DE LEY; BLAXTER, 2002). Os Secernentea são quase exclusivamente terrestres, raramente sendo de água doce ou marinha, ao passo que os Adenophorea ocupam nichos nos três habitats (BONGERS; FERRIS, 1999). São 19 ordens, das quais apenas 13 estão associadas ao solo (CARES; HUANG, 2008).

Yeates et al. (1993) propuseram a ocorrência de oito grupos de nematoides no solo, que seriam: a. Fitoparasitas ou fitófagos, aqueles que se alimentam de plantas vasculares; b. Fungívoros ou micófagos, os que têm como fonte de alimento hifas de fungos saprófitos, penetrando-as com um pequeno estilete; c. Bacteriófagos, que têm como base alimentar qualquer fonte procariótica; d. Ingestores de substrato, que utilizam principalmente a ingestão de substrato onde há crescimento de bactérias, geralmente nematoides marinhos; e. Carnívoros ou

predadores, que se alimentam de invertebrados do solo (protistas, rotíferos e outros nematoides); f. Os que se alimentam de eucariotos unicelulares, como algas e diatomáceas; g. Nematoides que apresentam estágios infectivos ou de dispersão como parasitas de animais (vertebrados e invertebrados) e que podem ter um ciclo reprodutivo alimentar bacteriano ou fúngico no solo; h. Onívoros (uma combinação de a-f acima), mas geralmente aplicado a nematoides da ordem Dorylaimida. Basicamente, os principais grupos presentes no solo são fitoparasitas, fungívoros, bacteriófagos, carnívoros e onívoros (GOULART, 2007).

A maioria dos nematoides é de vida livre, alguns se alimentam de microrganismos e outros organismos complexos. Alguns nematoides são parasitas de plantas superiores (fitonematoides), principalmente de seus órgãos subterrâneos (raízes, tubérculos, bulbos, rizomas ou frutos hipógeos). Há, também, os parasitas de órgãos aéreos (caules, folhas, frutos e sementes) e parasitas de animais, os quais se alimentam de vertebrados e invertebrados (GOULART, 2007).

A morfologia da região anterior e da cavidade bucal do nematoide está relacionada a seu hábito alimentar. Nematoides fitoparasitas apresentam estilete, porém, essa estrutura também pode ocorrer em nematoides fungívoros, carnívoros e onívoros (GOULART, 2007).

2.1.1 Nematoides Fitoparasitas

São nematoides que se alimentam de plantas vasculares através de estruturas denominadas estiletos, que podem ser odontostílicos (por derivar de um dente) ou estomatostílicos (desenvolvido pela fusão das paredes da cavidade bucal), os quais propiciam o parasitismo em plantas. Sua alimentação oportuniza a destruição do sistema radicular, a qual induz a formação de nodulações ou lesões necróticas nas raízes, além de impedir a absorção de água e nutrientes pelas plantas (RITZINGER et al., 2010).

Representam o grupo de nematoides com maior importância em virtude dos prejuízos causados à agricultura, sendo também ecologicamente importantes, pois podem consumir, em pastagens, de 7 a 10% da matéria seca ou 2 a 3% das raízes (CURRY, 1994).

Existem várias classificações para nematoides fitoparasitas, como a proposta por Hussey e Grundler (1998), que os classifica em quatro grupos de

acordo com a relação alimentar com o hospedeiro: ectoparasitas migradores, ectoparasitas sedentários, endoparasitas migradores e endoparasitas sedentários.

Ectoparasitas migradores têm o modo de parasitismo mais primitivo, onde se mantém fora das raízes e utilizam seu estilete para se alimentar de células epidérmicas. Ectoparasitas sedentários se alimentam em um sítio específico ou célula da raiz por um período prolongado, se mantendo exteriormente à raiz. Endoparasitas migradores penetram nas raízes e se alimentam por certo período de tempo, migram intracelularmente, podendo, inclusive, retornar ao solo e parasitar outro hospedeiro. Os endoparasitas sedentários são aqueles que envolvem as relações alimentares mais complexas e especializadas com a planta hospedeira. Invadem as raízes na forma de juvenis de segundo estágio e seu desenvolvimento leva a modificações na morfologia e função de células radiculares específicas, que se tornam uma fonte permanente de alimentação para o parasita. Enquanto estabelece a relação alimentar, o corpo do juvenil aumenta de tamanho e este vem a se tornar imóvel, permanecendo no interior da raiz (HUSSEY; GRUNDLER, 1998).

Em relação ao ciclo de vida dos nematoides fitoparasitas, as fêmeas produzem ovos que após o processo de segmentação originam em seu interior uma larva (juvenil). A maioria dos fitonematoides é ovípara, ou seja, o desenvolvimento embriogênico ocorre após a postura do ovo, fora do corpo do nematoide. Alguns são ovovivíparos, pois os ovos são depositados com o juvenil formado em seu interior (FERRAZ et al., 2011).

O crescimento é precedido pela troca da cutícula, a ecdise. A ecdise ocorre em quatro fases, a saber: recebimento e condução de estímulos para descarga do material neurosecretor, separação da cutícula velha da hipoderme, formação da nova cutícula e ruptura da cutícula velha (TIHOHOD, 2000). Os juvenis de primeiro estágio se desenvolvem dentro do ovo, onde ocorre a primeira ecdise. Os juvenis de segundo estágio eclodem do ovo e sofrem mais três ecdises até se tornarem adultos (LEE, 2002).

Durante o ciclo de vida, geralmente só desenvolvem o aparelho reprodutor e aumentam o tamanho. Nematoides no estágio juvenil apresentam todos os sistemas completamente formados, diferindo dos adultos somente por não apresentarem aparelho reprodutor completo, mas apenas algumas células que irão originá-lo, chamadas "primordium genitale" (FERRAZ et al., 2011).

A movimentação dos nematoides no solo se dá entre as partículas no filme de água (GOULART, 2007). A grande maioria se encontra na camada entre 0 a 30 cm de solo, pois nesta porção se concentra a maior parte das raízes, ótimas condições de oxigenação, temperatura e umidade.

Os nematoides, em íntima relação parasitária com as plantas hospedeiras, podem apresentar diferentes ações sobre estas, a saber: ação traumática, provocada por injúrias mecânicas decorrentes do movimento do nematoide nos tecidos; ação espoliadora, provocada pelo desvio de nutrientes essenciais; e ação tóxica, provocada por toxinas ou enzimas secretadas pelo nematoide e que são prejudiciais à planta (AGRIOS, 2005).

Por parasitarem as raízes e não causarem sintomas visíveis e evidentes, muitas vezes, os nematoides fitoparasitas são ignorados durante vários ciclos de plantio, tendo atenção somente quando provocam sérios danos e perda significativa de produção. Segundo Ferraz (2001), mais de cem espécies de nematoides, envolvendo cerca de 50 gêneros, foram associadas a cultivos de soja em todo o mundo. No Brasil, entre as espécies que causam maiores danos, estão o nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe, 1952), o nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans-Stekhoven, 1941), os formadores de galhas (*Meloidogyne* Goeldi 1887), e o reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira 1940) (EMBRAPA, 2010). A importância dessas espécies no país se deve a aspectos relevantes, como a presença endêmica em diversas regiões produtoras, elevada variabilidade genética e risco potencial de dano com o incremento da área cultivada com espécies suscetíveis. (DIAS et al., 2009).

2.2 NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA (NCS)

O nematoide de cisto da soja teve sua primeira descrição atribuída a Hori em 1915, no Japão. Apesar de ter sido relatada na região da Manchúria em 1880 (NOEL, 1992), a doença causada pelo NCS já era conhecida naquele país há pelo menos 30 anos antes deste relato, pelo nome de “doença de noite de luar”, devido ao sintoma de reboleiras amarelas na lavoura.

No Brasil, o primeiro relato desta espécie ocorreu nos estados de Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso do Sul, na safra de 1991/1992

(MENDES; DICKSON, 1993). Posteriormente, *H. glycines* foi citado nos estados de São Paulo (NOEL et al., 1994), no Rio Grande do Sul e no Paraná (CARVALHO, 1999).

O nematoide de cisto da soja (NCS) é um dos nematoides mais importantes, tanto pela extensão das áreas afetadas quanto pelas perdas de produção ocasionadas (ALMEIDA et al., 1997). Estima-se que a área infestada com este nematoide seja superior a 2,0 milhões de hectares (EMBRAPA, 2013).

2.2.1 Biologia e Ciclo de Vida

A duração do ciclo de vida do NCS pode variar de 21 a 24 dias à temperatura favorável de 23 a 25°C sendo, portanto, possíveis quatro a cinco gerações em um único cultivo de soja (TIHOHOD, 2000). Em solos com umidade adequada e temperaturas variando entre 28 a 31°C, o desenvolvimento pode ser mais rápido. Temperaturas inferiores a 10°C e superiores 34°C são desfavoráveis ao desenvolvimento desta espécie (FERRAZ; MONTEIRO, 1995).

O gênero *Heterodera* caracteriza-se pela formação de cistos, que são estruturas de proteção dos ovos, compostas pelo corpo da fêmea morta, de cor marrom, altamente resistente à deterioração, às condições adversas, ao calor e dessecação, e contendo, no seu interior, em média 500 ovos (TAYLOR, 1971). Os cistos são formados devido à compressão progressiva dos órgãos internos das fêmeas, causada pela retenção de ovos, levando-as à morte (FERRAZ; MONTEIRO, 2005). Estes podem ser encontrados aderidos às raízes ou dispersos no solo, sendo muito resistentes a estresses edafo-climáticos, servindo de proteção aos ovos, também, contra inimigos naturais. Além disso, os ovos protegidos pelo cisto podem sobreviver por até oito anos na ausência de plantas hospedeiras (MOORE et al., 1984).

Os ovos no interior do cisto sofrem embriogênese, originando o juvenil de primeiro estágio (J1). Este sofre uma ecdise, ou seja, uma troca de cutícula, e se transforma no juvenil de segundo estágio (J2), que eclode do ovo, move-se a pequenas distâncias através do solo e penetra nas raízes das plantas. A penetração frequentemente ocorre abaixo da zona de maturação da raiz, onde o tecido é jovem, porém diferenciado. Ademais, o J2 é a forma infectiva, sendo a única forma capaz da penetração radicular (SCHMITT; RIGGS, 1989; YOUNG, 1992).

Após a eclosão, os juvenis são atraídos para as raízes de plantas hospedeiras pelos exsudatos radiculares. Ao encontrar uma raiz suscetível, os juvenis penetram nas raízes secundárias ou radículas, geralmente pelo ápice, e migram até o cilindro central, estabelecendo-se próximos ao sistema vascular (WRATHER et al., 1984).

No tecido vascular, os juvenis param de se mover, perdem a maioria dos músculos e iniciam a alimentação, com a injeção de toxinas, pelo estilete, que modificam algumas células no seu entorno, criando locais especializados à alimentação chamados sincitos ou sincícios (AGRIOS, 2005). O sincito é formado a partir da expansão de células do câmbio, devido à degradação da parede celular e fusão de protoplastos, ocorrendo ainda aumento do núcleo celular e incremento no metabolismo dessas células (WYSS, 2002). Durante a formação desses sincitos, os J2 tornam-se imóveis e sofrem três ecdises antes de se tornarem adultos (FERREIRA, 2007).

As fêmeas tornam-se agigantadas, sedentárias, de formato liminiforme, e mudam sua coloração de branca à amarelada, permanecendo fixadas à raiz, com o corpo do lado de fora e a parte anterior internamente conectada aos tecidos radiculares. Já os machos tornam-se vermiformes e móveis, abandonando a raiz no estágio adulto em busca de fêmeas para fecundação (TAYLOR, 1971).

Gradativamente, os demais juvenis, ao se desenvolverem, assumem o formato globoso das fêmeas. Esta fêmea, ao se formar, rompe o córtex da raiz e emerge para a superfície, permanecendo presa apenas pela parte anterior, expondo o restante do corpo para que possa ser fecundada pelos machos, que já estão no solo. No início, a coloração da fêmea é branca a creme, tornando-se caramelo a marrom, com o passar dos dias (TIHOHOD, 2000), quando se transforma em cisto.

2.2.2 Morfologia

Os J2 são vermiformes e apresentam tamanho entre 0,35 a 0,5 mm de comprimento (TIHOHOD, 1997). Possuem seis lábios dispostos radialmente, com coberturas anfídias laterais, e nódulos basais do estilete arredondados. Além disso, cerca da metade do comprimento da cauda é ocupada pela porção hialina (TURNER; ROWE, 2006)

As fêmeas são obesas (0,4 – 0,8 mm de comprimento), têm formato de limão, com coloração inicial branca, mas quando próximas de se desprenderem da raiz, sua tonalidade se torna amarronzada. São didelfas (com dois ovários), prodelfas (os ovários estendem-se anteriormente, sendo a vulva posterior ou terminal) e os ovários ocupam toda a cavidade pseudocelomática. A matriz gelatinosa é externada antes do início da postura, e permanece presente na fase inicial de formação dos cistos. Os ovos possuem dimensões entre $104,5 \pm 14,5 \mu\text{m}$ de comprimento e $42 \pm 7,0 \mu\text{m}$ de largura (TURNER; ROWE, 2006).

Os machos são vermiformes e possuem de 0,6 a 1,6 mm de comprimento, sendo comuns em muitas espécies (TIHOHOD, 1997). Apresentam quatro incisuras no campo lateral do corpo. As espículas são bidentadas e o governáculo é simples (TURNER; ROWE, 2006).

2.2.3 Sintomatologia

Heterodera glycines é o agente causador da doença denominada “nanismo amarelo da soja”, em função dos sintomas apresentados na parte aérea da planta (DHINGRA et al., 2009).

Por ser um nematoide endoparasita sedentário, promove alterações morfológicas nas raízes parasitadas, as quais sofrem redução na translocação de água e nutrientes, levando a formação de sintomas reflexos na parte aérea como nanismo, deficiência mineral, amarelecimento das folhas, queda precoce de vagens e pobre enchimento de grãos (DA SILVA et al., 2006).

Os sintomas diretos ocasionados por *H. glycines* são notados pela diminuição do sistema radicular, aumento da proliferação de raízes secundárias e, também, pela redução ou ausência da nodulação por bactérias simbióticas (DA SILVA et al., 2006). Locais em que a população do patógeno é muito alta pode haver a morte prematura de plantas (BRITO et al., 1999).

Os sinais apresentados por *H. glycines* podem ser observados no sistema radicular pela presença de fêmeas de cor branca a creme e/ou cistos de coloração marrom escuro. Os cistos, encontrados no solo, permanecem próximos a rizosfera de plantas infectadas (RIGGS; WRATHER, 1992).

Quando os níveis populacionais no solo são elevados e as condições ambientais são favoráveis ao desenvolvimento do NCS, as plantas

atacadas podem morrer com 30 a 40 dias após a emergência. Em lavouras de soja, cuja área apresenta baixa população de nematoides, pode haver ausência de sintomas e, por isso, o diagnóstico por meio da observação dos sintomas na parte aérea não é preciso (DHINGRA et al., 2009).

2.2.4 Disseminação

Desde a sua descoberta, o NCS tem se disseminado muito rapidamente e, em determinados casos, inviabilizam o cultivo da soja em solos com alta infestação. Os danos do NCS, geralmente, são mais severos em solos arenosos, mas ocorrem em todos os tipos de solo (CARES; BALDWIN, 1995). Observações de campo têm mostrado, contudo, que os prejuízos são maiores em culturas estabelecidas em solos mais arenosos, talvez devido à facilidade de movimentação e, conseqüentemente, uma maior disseminação (TIHOHOD, 2000).

Os nematoides, por si só, movem-se apenas poucos metros por ano (BALDWIN; MUNDO-OCAMPO, 1991). Entretanto, o cisto é a forma mais eficaz de dispersão, por carregar os ovos férteis em seu interior, desprendendo-se das raízes das plantas e permanecendo no solo (EMBRAPA, 2008). Mesmo na ausência de planta hospedeira, o cisto pode sobreviver e permanecer viável no solo por mais de oito anos (MANSO; TENENTE, 1984), por ser resistente às condições desfavoráveis de temperatura, umidade, e aeração do solo (AZEVEDO et al., 2002; DHINGRA et al., 2009).

A disseminação de *H. glycines* se dá principalmente pelo transporte de solo infestado. Isso pode ocorrer por meio dos equipamentos agrícolas, das sementes mal beneficiadas que contenham partículas de solo, pelo vento, pela água e até por pássaros que, ao coletar alimentos do solo, podem ingerir junto os cistos. Nas propriedades em que se pratica o sistema integrado lavoura-pecuária é, igualmente, importante conhecer a procedência das sementes de pastagem utilizadas, visto que as mesmas, não raramente, contêm torrões que podem disseminar os cistos do nematoide (EMBRAPA, 2014). Pela fácil disseminação, o NCS se encontra presente em mais de 10 Estados (MG, MT, MS, GO, SP, PR, RS, BA, TO e MA) (EMBRAPA, 2013).

2.2.5 Raças Fisiológicas

A existência de raças fisiológicas em NCS foi relatada, pela primeira vez, nos Estados Unidos da América, por Ross e Brim (1957), sendo o termo raça referido para diferenciar os isolados do patógeno, com base nas suas habilidades em reproduzir-se sobre uma série de genótipos de soja (DIAS et al., 2005).

Devido à constatação de Ross (1962) sobre a existência de variabilidade fisiológica entre populações de *H. glycines*, Golden et al. (1970) propuseram um modelo de diferenciação de raças baseado em quatro materiais de soja diferenciadoras (Peking, Pickett 71, PI 88788 e PI 90763) e um padrão de suscetibilidade (Lee 74), permitindo a identificação de quatro raças diferentes de *H. glycines*.

Posteriormente, Riggs e Schmitt (1988) observaram isolados que não se enquadravam nas raças propostas por Golden et al. (1970), e então propuseram um modelo mais completo, permitindo a caracterização de até 16 raças de *H. glycines* com base nas mesmas plantas hospedeiro-diferenciadoras, utilizando o índice de fêmeas (IF). O índice proposto foi calculado com base no número de fêmeas e cistos produzidos por raiz da planta diferenciadora e dividido pelo número de fêmeas e cistos produzidos na cultivar Lee (padrão de suscetibilidade), tendo sido consideradas resistentes (-) as diferenciadoras com $IF < 10\%$ e suscetíveis (+) aquelas com $IF > 10\%$.

Dias et al. (1998) incluíram a cultivar Hartwig como diferenciadora de modo que, toda vez que a resistência dessa cultivar fosse quebrada, o número da raça viria complementado de um sinal positivo (+) (Quadro 1). Então, as raças 4⁺ e 14⁺ diferiram, respectivamente, das raças 4 e 14 clássicas, por apresentarem habilidade em parasitar a cultivar Hartwig.

Quadro 1. Raças de nematoides de cisto da soja, *Heterodera glycines*, de acordo com o esquema de determinação de raças de Riggs e Schmitt (1988) e Dias et al. (1998).¹

RAÇA	PICKETT	PEKING	PI 88788	PI 90763	HARTWIG
1	-	-	+	-	-
2	+	+	+	-	-
3	-	-	-	-	-
4	+	+	+	+	-
4+	+	+	+	+	+
5	+	-	+	-	-
6	+	-	-	-	-
7	-	-	+	+	-
8	-	-	-	+	-
9	+	+	-	-	-
10	+	-	-	+	-
11	-	+	+	-	-
12	-	+	-	+	-
13	-	+	-	-	-
14	+	+	-	+	-
14+	+	+	-	+	+
15	+	-	+	+	-
16	-	+	+	+	-

¹ A determinação da raça foi realizada com base no padrão de classificação (“+” e “-”) para cada cultivar diferenciadora.

No Brasil, já foram encontradas 11 raças (1, 2, 3, 4, 4⁺, 5, 6, 9, 10, 14, 14⁺), sendo que a distribuição do NCS nos estados brasileiros se apresenta da seguinte forma: Mato Grosso (raças 1, 2, 3, 4, 4⁺, 5, 6, 9, 10, 14, 14⁺), Mato Grosso do sul (1, 3, 4, 5, 6, 9, 10 e 14), Goiás (raças 3, 4, 5, 6, 9, 10, 14), Minas Gerais (3, 4, 6 e 10), Rio Grande do Sul (raças 3, 5 e 6), Bahia (raça 1, 3 e 14), Maranhão (raça 5, 6 e 9), Tocantins (raça 1), Paraná e São Paulo (raça 3) (EMBRAPA, 2011).

2.2.6 Métodos de Controle

Uma área já infestada com NCS requer um manejo diferenciado, visto que, uma vez presente na área, sua erradicação é praticamente impossível. O cisto de *H. glycines* consegue sobreviver em condições adversas, tornando sua disseminação facilitada, pois esta ocorre por qualquer meio de dispersão do solo (YORINORI; GALERANI; GARCIA, 1994).

Os métodos mais eficientes de controle para o NCS consistem na utilização de cultivares resistentes de soja, através do manejo genético, e a utilização de plantas antagonistas (ou não hospedeiras) em esquemas de rotação/sucessão de culturas, sendo ainda mais eficazes quando utilizados concomitantemente (DIAS et al., 2009; EMBRAPA, 2011).

Além disso, devido à dificuldade de eliminação do patógeno da área, ainda recomendam-se o uso de sementes livres de patógeno, desinfestação de implementos agrícolas, bom manejo do solo com aumento dos níveis de matéria orgânica, adubação equilibrada e descompactação (DHINGRA et al., 2009).

2.2.6.1 Cultivares resistentes

Dentre os métodos de controle existentes para o *H. glycines*, a utilização de cultivares resistentes tem sido adotada em todo o mundo, em função da viabilidade econômica e eficiência (NIBLACK et al., 2002), além de apresentar-se como uma das maiores contribuições do melhoramento de plantas (SEDIYAMA et al., 2009).

O mecanismo de resistência da soja ao nematoide de cisto vem do modelo “reação de hipersensibilidade”, ou seja, os tecidos afetados morrem e o nematoide não consegue completar seu ciclo de desenvolvimento. A penetração dos juvenis ocorre de modo semelhante para plantas resistentes e suscetíveis, mas nas resistentes os tecidos do sincício se necrosam e entram em colapso, terminando na morte dos nematoides antes de atingirem a fase adulta (SCHMITT; NOEL, 1984).

Embora a utilização de cultivares resistentes seja o método mais econômico e eficiente para o controle de nematoide de cisto da soja, este não deve ser a única opção, pois o NCS apresenta uma elevada diversidade genética que, quando submetido a forte pressão de seleção, pode desenvolver novas raças (DIAS et al., 2007), além de aumentar a quebra de resistência (RIGGS; SCHMITT, 1993).

Das cultivares recomendadas para o Brasil, apenas 10,2 % apresentam resistência a pelo menos uma raça do NCS. Os programas de melhoramento continuam desenvolvendo cultivares, principalmente, com resistência à raça 3 (EMBRAPA, 2008).

Complementarmente, YOUNG (1992) evidenciou que o uso de cultivares tolerantes é desejável desde que outros métodos sejam utilizados em conjunto, pois permitem aumento de inóculo de nematoides durante o crescimento.

Neste sentido, a combinação da utilização de cultivares resistentes associada à rotação com plantas não hospedeiras, como as plantas antagonistas, vem apresentando bons resultados.

2.2.6.2 Rotação de culturas

A rotação de culturas é uma medida de controle indicada mesmo quando existe a disponibilidade de cultivares resistentes, pois permite que as densidades populacionais de fitonematoides se mantenham baixas, incluindo, também, o emprego de cultivares suscetíveis em esquemas de rotação de culturas. O uso de cultivares resistentes é de fundamental importância para evitar ou diminuir a pressão de seleção sobre a população de fitonematoides, evitando-se a alteração da raça presente no local (GARCIA et al., 1999).

A adoção do sistema de rotação, na maioria das vezes, esbarra na viabilidade econômica das culturas em determinadas regiões. Entretanto, a rotação de verão, com espécies não hospedeiras reduz a população de *H. glycines* a níveis toleráveis mesmo para cultivares de soja suscetíveis (EMBRAPA, 2014).

A sobrevivência de *H. glycines* em plantas daninhas e em soja “tiguera”, também, fazem com que a rotação de culturas seja imprescindível no controle deste nematoide (DIAS et al., 2004).

Quando o cultivo de plantas não hospedeiras é seguido pelo plantio de cultivar resistente por dois ou três anos, a população do nematoide é sensivelmente reduzida. Conseqüentemente, ao plantar uma cultivar suscetível, a população do nematoide de cisto da soja irá aumentar, mas permanecerá abaixo da população inicial, e daquela que propiciaria queda na produção (WRATHER et al., 1992).

Em cultivos de verão por dois ou mais anos consecutivos, com espécies não hospedeiras, pode-se cultivar a soja na área nos dois anos seguintes, sem risco de perdas pelo *H. glycines*. Já para os cultivos de inverno, em áreas infestadas pelo NCS, indica-se utilizar apenas as espécies não hospedeiras (gramíneas, crufíceras, girassol, mucunas, etc.) (EMBRAPA, 2014).

Algumas espécies vegetais, principalmente anuais e de interesse econômico, que não são hospedeiras de *H. glycines*, são o milho, arroz, algodão, mamona, girassol e sorgo. As principais culturas utilizadas em rotação de culturas no Cerrado são milho, arroz e algodão. Enfatiza-se que a mandioca e o amendoim, mesmo não sendo hospedeiros de *H. glycines*, não devem ser cultivados em áreas infestadas devido à grande movimentação de solo durante a colheita, pois favorecem a disseminação de cistos presentes no solo (GARCIA et al., 1999).

2.2.6.3 Plantas antagonistas

As plantas antagonistas possuem a capacidade de afetar negativamente a população de fitonematoides, como é o exemplo das plantas armadilhas, nas quais o nematoide penetra mas não consegue completar o seu desenvolvimento; das hospedeiras desfavoráveis, quando há a penetração do fitonematoide mas poucos conseguem se desenvolver; e aquelas que possuem compostos nematicidas / nematostáticos em seus tecidos, que podem ser liberados no meio externo ou apenas atuarem no interior das plantas (FERRAZ; VALLE, 1997). O efeito nematicida é representado por provocar a morte do fitonematoide, já o efeito nematostático é quando o desenvolvimento do fitonematoide é inibido temporariamente (EMBRAPA, 2007).

A descoberta de plantas que exerçam efeito antagônico e que possam ser cultivadas em esquemas de 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 nematoide (FERRAZ et al., 1999). A utilização de plantas antagonistas, quando utilizada em rotação de culturas, é um dos métodos de controle em maior assenção para o NCS e tem apresentado resultados promissores.

Plantas hospedeiras desfavoráveis podem ser tão ou mais eficientes no controle de fitonematoides quanto as não hospedeiras. Provavelmente, o número de juvenis que eclode e morre durante o ciclo dessas plantas é superior ao número de ovos produzidos pelas poucas fêmeas formadas em suas raízes. Portanto, o fato de uma planta permitir pequena multiplicação do nematoide não limita sua adoção em determinada estratégia de controle. Entretanto, é recomendável que essas plantas sejam utilizadas com os mesmos cuidados que uma variedade resistente,

em programas de rotação de culturas que incluam, também, uma planta não hospedeira (FERRAZ et al., 2010).

Ferraz et al. (2010) propuseram que a utilização de plantas antagonistas apresentam algumas vantagens como, por exemplo: a) não prejudicar os inimigos naturais dos nematoides, que em alguns casos podem alterar a população de microrganismos do solo, favorecendo o aumento de agentes de controle biológico; b) capacidade de algumas espécies utilizadas como plantas antagonistas em fixar nitrogênio da atmosfera e fornecer ao solo expressivos volumes de matéria orgânica, melhorando suas características; c) plantas produtoras de compostos nematicidas que podem controlar os fitonematoides de forma mais eficiente que uma simples rotação de culturas ou o uso de uma planta não hospedeira; d) podem controlar fitonematoides mesmo quando intercaladas com cultura principal; e) presença de substâncias nematicidas nos exsudatos radiculares, algumas plantas contém compostos nematotóxicos pré-formados na parte aérea, reduzindo a população do patógeno após a incorporação ao solo dos resíduos vegetais; f) possibilidade de controle de outros patógenos do solo, além de fitonematoides.

Além das vantagens que as plantas antagonistas possuem, quando associadas em esquemas de rotação de culturas, alcançam bons resultados, uma vez que restringem a reprodução dos fitonematoides e, aliada aos fatores naturais de mortalidade, favorecem a redução da população do patógeno. Quando se planeja corretamente a sequência de plantas a serem utilizadas em rotação, é possível reduzir a densidade populacional de fitonematoides abaixo do nível de dano comercial sem promover o aumento da população de outras espécies presentes (FERRAZ et al., 2010).

Haja vista que uma mesma planta pode apresentar comportamento diferenciado diante de espécies ou raças distintas de fitonematoides e, levando-se em conta, o hábito polífago dos mesmos, primeiramente deve ser realizado um levantamento nematológico da área, onde se identificam corretamente as espécies de fitonematoides presentes, para, então, inserir as plantas antagonistas em sistemas de rotação de culturas (FERRAZ et al., 1999; HALBRENDT; LaMONDIA, 2004 *apud* FERRAZ et al., 2010). Com esta prévia identificação morfológica dos fitonematoides, as plantas antagonistas podem ser escolhidas a fim de diminuir a

população de uma determinada espécie de fitonematoide além de garantir que não haverá a multiplicação de outra possível recorrente na mesma área.

Sendo assim, há uma gama de plantas antagonistas que vêm ganhando destaque quando se trata de controle de fitonematoides, sendo muitos os exemplos: as gramíneas, como aveia, centeio, trigo, cevada; as forrageiras dos gêneros *Brachiaria* e *Panicum*; as oleaginosas, como girassol, amendoim, mamona; e, principalmente, as leguminosas, como as mucunas, guandus, labe-labe, feijão-de-porco, além das várias espécies de crotalárias (*Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. spectabilis* e *C. ochroleuca*).

De acordo com Ferraz e Vale (1997), o uso de plantas antagônicas, que produzem metabólitos com propriedades nematostáticas ou nematicidas após a penetração do fitonematoide, ou que apresentam constitutivamente, é uma alternativa de menor impacto ecológico, se comparado ao uso de nematicidas sistêmicos. Algumas dessas substâncias são excretadas pelas raízes, como no caso do a-tertienila, produzido por *Tagetes erecta*. Outro exemplo com propriedade nematicida é o alcaloide monocrotalina, o ácido butírico e o pirocatecol, isolados de *Crotalaria spectabilis*.

2.2.6.3.1 *Crotalaria spp.*

O nome crotalária tem o significado de chocalho, referindo-se ao barulho feito por suas sementes quando se balança a vagem madura. É uma leguminosa de origem africana e/ou indiana, muito utilizada na adubação verde, por ser uma planta pouco exigente em água, com grande potencial de fixação biológica de nitrogênio e produção de massa verde, fácil incorporação ao solo e decomposição, crescimento rápido suficiente para vencer a competição com ervas daninhas, mas não é invasora na cultura seguinte (SCHEUER, 2010).

Há mais de 350 espécies descritas no gênero, localizadas nos trópicos e subtropicais dos hemisférios (COOK; WHITE, 1996). A crotalária apresenta boa produção de fitomassa, servindo como adubo verde, com alta fixação de N₂ atmosférico e boa relação de C/N (WUTKE, 1993). Além disso, apresentam ação antagônica sobre nematoides no solo com bons resultados (INOMOTO et al., 2008), principalmente, pela sua capacidade de serem não hospedeiras e não permitirem a

multiplicação de algumas espécies de nematoides em esquemas de rotação de culturas (FERRAZ et al., 2010).

A *Crotalaria breviflora* apresenta ciclo menos duradouro quando comparado a outros adubos verdes. Apresenta boa relação C/N entre 14 e 18 (AGUIAR et al., 2014), além de sua capacidade de fixação ser de até 160 Kg de N/ha/ano (WUTKE, 1993).

A *Crotalaria juncea* é uma das espécies de mais rápido crescimento inicial. Utilizada para adubação verde, em cultivo isolado, intercalado ou perene, e possível rotação com culturas graníferas (AGUIAR et al., 2014). Possui capacidade de fixação de até 450 Kg de N/ha/ano (WUTKE, 1993), com potencial de produção de matéria seca em torno de 15 a 20 t ha⁻¹ e relação C/N entre 14 a 18 (AGUIAR et al., 2014).

Crotalaria spectabilis apresenta um potencial de produção de matéria seca de 4 a 6 t ha⁻¹, produzindo até 120 Kg N/ha/ano (WUTKE, 1993). Possui ampla adaptação ecológica, recomendada para adubação verde, sendo sugerida como planta-armadilha em solos infestados por nematoides formadores de galhas (*Meloidogyne incognita* e *M. javanica*), por ser má hospedeira/não multiplicadora dos mesmos (WUTKE, 1993; FAHL et al., 1998) e também de *Pratylenchus* spp. (MONTEIRO, 1993).

Crotalaria ochroleuca foi introduzida na região dos Cerrados devido à possibilidade de se desenvolver em solos quimicamente “pobres” e com baixos teores de matéria orgânica (AGUIAR, 2014). Tem a capacidade de fixação de até 200 Kg N/ha/ano (WUTKE, 1993), potencial produtivo de 7 a 10 t ha⁻¹ de matéria seca, podendo atingir valores de até 17 t ha⁻¹ (AMABILE et al., 2000).

Os mecanismos pelos quais as plantas antagonistas controlam nematoides são complexos e raramente atuam de forma individualizada, podendo variar de acordo com a espécie de planta e de nematoide envolvida. O principal mecanismo na supressão dos nematoides pelas crotalárias é a capacidade das mesmas em atuar como planta armadilha, permitindo a penetração dos juvenis em suas raízes, mas, impedindo o seu desenvolvimento até a fase adulta (SILVA et al., 1989). Podem agir, também, como não hospedeiras ou hospedeiras desfavoráveis, aumentando a população de microrganismos antagonistas e até mesmo produzindo compostos nematotóxicos, como a monocrotalina (WANG et al., 2002).

A monocrotalina é um alcaloide produzido pelos exsudados de raízes de *Crotalaria* spp., com elevada toxicidade a vertebrados e são potencialmente tóxicos a nematoides (RICH; RAHI, 1995). Fassuliotis e Skucas (1969) constataram a capacidade de *C. spectabilis* em suprimir as populações de nematoides através da monocrotalina produzida pelos exsudados radiculares, além de verificarem que após a exposição dos juvenis de nematoides de galhas à monocrotalina, seus corpos começam a tremer. Também, Calegari et al. (1993) observaram que *C. spectabilis* e *C. ochroleuca* são bastante eficazes no impedimento da multiplicação de populações de nematoides quando expostas a monocrotalina, anulando o desenvolvimento nematológico.

Silveira e Rava (2004) demonstraram evidências a respeito da produção de compostos químicos com ação nematicida pelas crotalárias. Os mesmos autores concluíram que a aplicação de 13 mg/ha⁻¹ de massa seca proveniente exclusivamente da parte aérea de *C. spectabilis* reduziu a população de *Pratylenchus* spp. no feijoeiro de 544 espécimes para 1,23 espécimes por grama de raiz. Além disso, é possível que o efeito alelopático da crotalária seja devido à quantidade de nitrogênio que há nos resíduos da planta, quando esta é incorporada ao solo (WANG et al., 2002).

Além disso, já se verificou 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 *C. longirostrata* Hook y Arnott sobre juvenis de *Meloidogyne* spp., e comprovaram que após 12 horas de contato foi possível constatar a inativação de 100% dos juvenis. Entretanto, após 72 horas de exposição, quando expostas a água estéril, 86% dos juvenis recuperaram o movimento, evidenciando um efeito nematostático dos exsudatos da crotalária testada.

Estudos histopatológicos validaram que há formação de células-gigantes em raízes de *C. spectabilis* e *C. juncea* parasitadas por *M. javanica*. Nas crotalárias, as células-gigantes apresentam citoplasma mais denso, granuloso, com poucos núcleos e, em muitos casos, sem grandes vacúolos. Essas células-gigantes podem ser menos eficientes em nutrir o nematoide que as formadas em plantas susceptíveis (SILVA et al., 1989). Tais resultados demonstram que as espécies de *Crotalaria* atuam como plantas-armadilha.

Inomoto et al. (2007) já constataram que *C. spectabilis* e *C. breviflora* são culturas não hospedeiras que podem ser utilizadas na rotação ou sucessão em áreas infestadas por *P. brachyurus*. Debiasi et al. (2013), também, mostraram que *C. spectabilis*, *C. ochroleuca* e *C. juncea* quando utilizadas em sistema de rotação/sucessão em soja apresentaram raízes com baixas populações de *P. brachyurus*.

Valle (1996) verificou em seus trabalhos que *C. spectabilis* se comportou como não hospedeira de *H. glycines* raça 3, pois apesar de permitir a penetração de juvenis, não foi verificada a presença de fêmeas no sistema radicular. Riggs (1987), também, considerou *C. spectabilis* como não hospedeira do mesmo nematoide.

3 ARTIGO A: INFECTIVIDADE DO NEMATOIDE DE CISTO DA SOJA EM PLANTAS DE *Crotalaria* spp. OBTIDAS DE DIFERENTES FORMAS

RESUMO

Em estudos para avaliação da resistência de *Crotalaria* spp. à *Heterodera glycines* são observados resultados discrepantes, talvez devido às diferenças de desenvolvimento para cada espécie de crotalária, o que pode interferir diretamente no ciclo de vida do nematoide. Em função desta variação de resultados, objetivou-se avaliar a infectividade e o desenvolvimento de juvenis de *H. glycines* raça 3, considerando três formas de obtenção das plântulas, nas espécies *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. ochroleuca* e *C. spectabilis*. O estudo foi realizado em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, em vasos de polietileno de 1 L de capacidade, contendo como substrato areia e solo (3:1). Foi utilizada uma população pura de *H. glycines* raça 3, padronizada para 4000 ovos por vaso. As plântulas foram obtidas de três formas, que constituíram os tratamentos: 1) semeadura escalonada das espécies diretamente em vaso, semeando-se primeiro *C. breviflora* e *C. ochroleuca*, e, após 10 dias, *C. juncea* e *C. spectabilis*; 2) semeadura simultânea das espécies, diretamente em vaso, sem considerar a emergência e o desenvolvimento inicial de cada espécie; 3) semeadura escalonada das espécies em sementeira prévia, seguido do transplântio (*C. ochroleuca* e *C. spectabilis* com 20 dias e *C. juncea* e *C. spectabilis* com 10 dias). As avaliações de penetração e desenvolvimento de juvenis de *H. glycines* foram feitas aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação (DAI). Concluiu-se que o desenvolvimento inicial das espécies de crotalária deve ser considerado no momento da inoculação de *H. glycines*, principalmente, em experimentos conduzidos em casa de vegetação, pois estão diretamente relacionados com os resultados obtidos. E que, a semeadura realizada diretamente no vaso, porém realizada de forma escalonada de acordo com o desenvolvimento inicial da espécie, foi o tratamento que resultou em maior penetração de *H. glycines* raça 3 nas raízes de *Crotalaria* spp.

Palavras-chave: Época de inoculação. *Heterodera glycines*. Metodologia. Padronização.

INFECTIVITY OF THE SOYBEAN CYST NEMATODE ON PLANTS OF *Crotalaria* spp. OBTAINED BY DIFFERENT WAYS

ABSTRACT

In studies for the evaluation of the resistance of *Crotalaria* spp. to *Heterodera glycines* are observed discrepant results, possibly due to the differences of development for each species of *Crotalaria*, which can interfere directly in the life cycle of the nematode. In function of this variation of results, the objective of this work was to evaluate the influence of three ways of seedling production of *Crotalaria brevipflora*, *C. juncea*, *C. spectabilis* and *C. ochroleuca* on the efficiency of inoculation, penetration and juvenile development of *H. glycines* race 3 in roots at 10, 20 and 30 days after inoculation (DAI). Based on the results, it was verified that the initial development of *Crotalaria* species should be considered at the time of inoculation of *H. glycines*, mainly in greenhouse experiments, because they are directly related to the results obtained. The sowing done directly in the pot (in a staggered form according to the initial development of the species), was the treatment that resulted in greater penetration of *H. glycines* race 3 in the roots of *Crotalaria* spp. Penetration and development of *H. glycines* evaluations were done at 10, 20 and 30 days after inoculation (DAI). As conclusion, the initial development of the *crotalaria* species must be considered for inoculation of *H. glycines*, in greenhouse experiments, because they are directly related to the results obtained. In addition, the sowing performed directly in the pot, but with a staggered manner according to the initial development of the species, was the treatment that resulted in greater penetration of *H. glycines* race 3 in the *Crotalaria* spp. roots.

Keywords: Time of inoculation. *Heterodera glycines*. Methodology. Standardization.

INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa a segunda posição entre os maiores produtores de soja do mundo. Com uma área de 33,177 milhões de hectares cultivados na safra 2015/2016, totalizou uma produção de 95,631 milhões de toneladas e uma produtividade média de 2.882 kg por hectare (CONAB, 2016). O aumento da produtividade da soja está associado à plena expansão tecnológica, ao manejo da cultura e à eficiência dos produtores, mas ainda está vulnerável a inúmeros fatores que limitam à produtividade. No Brasil, várias doenças da soja já foram identificadas, entre elas estão as causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus (EMBRAPA, 2011). A importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo das condições ambientais de cada safra.

Em nível mundial, mais de cem espécies de nematoides, envolvendo cerca de 50 gêneros, estão associadas à cultura de soja. No Brasil, os principais nematoides são os nematoides de galhas (*Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949, o nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans-Stekhoven, 1941) e, ainda, o nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe, 1952). A importância dessas espécies no país se deve a aspectos relevantes, como a presença endêmica em diversas regiões produtoras, elevada variabilidade genética e risco potencial de dano com o incremento da área cultivada com espécies suscetíveis (FERRAZ, 2001).

Heterodera glycines é um dos fitonematoides mais importantes, tanto pela extensão das áreas afetadas quanto pelas perdas de produção ocasionadas (ALMEIDA et al., 1997). É o causador da doença “nanismo amarelo da soja”, assim denominada em função dos sintomas apresentados na parte aérea da planta (DHINGRA et al., 2009). Por ser endoparasita sedentário, promove alterações morfológicas nas raízes parasitadas, as quais sofrem redução na translocação de água e nutrientes, levando a formação de sintomas reflexos na parte aérea como nanismo, deficiência mineral, amarelecimento das folhas, queda precoce de vagens e pobre enchimento de grãos (SILVA, et al. 2006).

Os danos causados pelo nematoide de cisto da soja (NCS) dependem, além da densidade populacional, da interação com outros fatores de estresse como déficit hídrico, danos por herbicidas, presença de outros patógenos

radiculares (PAZ et al., 2004), textura e fertilidade do solo (AVENDAÑO et al., 2004; ROCHA et al., 2006; 2007).

Dentre as medidas de manejo que têm estimulado diversas pesquisas na área, encontram-se as plantas antagonistas que afetam negativamente a população de fitonematoides, a exemplo das plantas armadilhas, hospedeiras desfavoráveis e aquelas que contêm compostos nematicidas / nematostáticos em seus tecidos, que podem ser liberados no meio externo ou apenas atuar no interior das plantas (FERRAZ; VALLE, 1997).

O uso de plantas antagonistas, principalmente, em esquemas de rotação ou sucessão de culturas, tem se mostrado uma alternativa atrativa, pois dentre suas vantagens pode-se citar a fixação de nitrogênio da atmosfera e produção de expressivos volumes de matéria orgânica, que aumenta a atividade de fungos antagonistas, impedindo o crescimento de plantas daninhas e melhorando as características gerais do solo. Sendo assim, muitas espécies vegetais vêm sendo utilizadas e estudadas como antagonistas, com destaque para as espécies de crotalária cultivadas com essa finalidade.

O gênero *Crotalaria* apresenta boa produção de fitomassa, servindo como adubo verde, com alta fixação de N₂ atmosférico e boa relação de C/N (WUTKE, 1993). Além disso, apresentam ação antagônica sobre diversas espécies de nematoides no solo (INOMOTO et al., 2008), principalmente, por serem não hospedeiras e/ou não permitirem a multiplicação dos nematoides (FERRAZ et al., 2010).

Schwan et al. (2001), ao cultivarem soja cv. FT Cristalina em sucessão às espécies *C. ochroleuca*, *C. breviflora* e *C. anagyroides* em substrato infestado com *H. glycines* raça 3, em casa de vegetação, observaram redução significativa no número de fêmeas por sistema radicular.

As crotalárias produzem a monocrotalina, um alcalóide pirolizidínico, presente em grandes concentrações na parte aérea, sementes e exudações radiculares da planta, e que possui efeito nematicida (WANG et al., 2001). Segundo Wang et al. (2002), o manejo de nematoides com crotalária é geralmente feito em sistemas de rotação de culturas ou em plantio de cobertura, com posterior incorporação do material vegetal ao solo.

Entretanto, nos estudos para avaliar a resistência das espécies de crotalária ao NCS têm sido observados resultados diversos, isso pode ser devido às

variações existentes quanto as formas de obtenção das plântulas, de acordo com o desenvolvimento vegetativo de cada espécie de crotalária, e o momento adequado de inoculação, os quais podem interferir diretamente na infecção e no ciclo de vida do nematoide.

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência de inoculação das espécies *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. ochroleuca* e *C. spectabilis*, obtidas de diferentes formas, sobre a penetração de *Heterodera glycines* raça 3, em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação. A população de *Heterodera glycines* raça 3, cedida pelo laboratório de Nematologia da GDM Seeds, foi multiplicada em plantas de soja cv. Potência, durante 30 dias, em vasos de cerâmica contendo uma mistura de areia e solo na proporção de 3:1 (v:v). A escolha da raça foi definida devido a sua predominância no Estado do Paraná.

Para obtenção do inóculo, as raízes foram cuidadosamente removidas dos vasos e lavadas com um jato forte de água, para separação dos cistos sobre um conjunto de peneiras acopladas (aberturas de 0,84 e 0,25 mm), sendo coletada a suspensão retida na última peneira. Posteriormente, a suspensão foi transferida para um novo conjunto de peneiras sobrepostas com aberturas de 0,15 e 0,025 mm: na primeira, procedeu-se a maceração usando a base de um Becker de vidro, para rompimento dos cistos; e, na segunda, a suspensão com ovos e possíveis juvenis foi recolhida. A suspensão foi quantificada em câmara de Peters sob microscópio óptico, e calibrada para conter 1000 ovos / mL.

Para o experimento adotou-se o delineamento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos constituídos por três formas de obtenção de plântulas, para as espécies *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. spectabilis* e *C. ochroleuca*, conforme esquema apresentado na Tabela 1, distribuídos em cinco repetições para cada época de avaliação.

No Tratamento 1, com semeadura direta e escalonada, as sementes de crotalária foram dispostas diretamente em vasos plásticos, contendo substrato composto pela mistura de areia e solo na proporção 3:1 (v/v). Foram utilizadas

quatro sementes por vaso, respeitando-se a velocidade de emergência de cada espécie. Primeiramente, foram semeadas as espécies *C. breviflora* e *C. ochroleuca*, e, após 10 dias, *C. juncea* e *C. spectabilis*. Dessa forma, assegurou-se que todas as plântulas estariam no mesmo estágio de desenvolvimento tanto para a inoculação quanto para as avaliações. Aos 10 dias da emergência, foi realizado o desbaste deixando-se uma plântula por vaso.

Para o Tratamento 2, a semeadura foi direta e simultânea para as quatro espécies de crotalária, em vasos plásticos contendo o substrato já descrito, sendo desconsiderada a velocidade de emergência das mesmas.

No Tratamento 3, em sementeira escalonada, as sementes das espécies foram dispostas em sementeira contendo apenas areia. Primeiro semeou-se *C. breviflora* e *C. ochroleuca*, e depois de 10 dias semeou-se *C. juncea* e *C. spectabilis*. Após 10 dias da semeadura destas duas espécies, todas as plântulas foram transplantadas para vasos contendo o substrato já descrito.

Tabela 1. Descrição dos tratamentos e forma de condução de acordo com as diferentes formas de obtenção das plântulas de *Crotalaria* spp. Londrina, PR. 2016.

Tratamentos	Condução do experimento				
	Período (dias)				
	0	10	20	30/40/50	
1 - Sementeira Escalonada (SDE)	<i>Cb</i> ¹	SDE	-	Inoc. ²	Avaliações
	<i>Cj</i>	-	SDE	Inoc.	Avaliações
	<i>Co</i>	SDE	-	Inoc.	Avaliações
	<i>Cs</i>	-	SDE	Inoc.	Avaliações
2 - Sementeira Simultânea (SDS)	<i>Cb</i>	-	SDS	Inoc.	Avaliações
	<i>Cj</i>	-	SDS	Inoc.	Avaliações
	<i>Co</i>	-	SDS	Inoc.	Avaliações
	<i>Cs</i>	-	SDS	Inoc.	Avaliações
3 - Sementeira Escalonada (SE)	<i>Cb</i>	Sementeira	-	Inoc./Transp. ³	Avaliações
	<i>Cj</i>	-	Sementeira	Inoc./Transp.	Avaliações
	<i>Co</i>	Sementeira	-	Inoc./Transp.	Avaliações
	<i>Cs</i>	-	Sementeira	Inoc./Transp.	Avaliações

¹*Cb*: *Crotalaria breviflora*, *Cj*: *C. juncea*, *Co*: *C. ochroleuca*, *Cs*: *C. spectabilis*. ²Inoculação.

³Transplântio

As plântulas foram inoculadas, simultaneamente, aos 10 dias após a emergência (DAE), com uma suspensão contendo 4000 ovos de *H. glycines* raça 3 por vaso.

As avaliações da penetração dos juvenis de *H. glycines* nas raízes de crotalária foram realizadas aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação (DAI). Para tanto, as raízes de cinco plantas de cada espécie, em cada época de avaliação, foram coletadas, lavadas e submetidas à técnica de coloração com fucsina ácida, segundo Byrd et al. (1983). Após o preparo, as raízes foram colocadas entre duas lâminas de vidro, e observadas sob microscópio óptico para quantificação da penetração dos juvenis.

Atendidas as exigências de normalidade e homogeneidade de variâncias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). As médias para cada variável foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o software SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparando-se os três tratamentos (Tratamento 1: semeadura direta e escalonada; Tratamento 2: semeadura direta e simultânea e; Tratamento 3: sementeira escalonada), houve diferenças significativas quanto ao número de juvenis de *H. glycines* penetrantes nas raízes variáveis de acordo com a espécie de crotalária e as três épocas de avaliação (Tabela 2).

Tabela 2. Penetração de juvenis de *H. glycines* raça 3 em plântulas das espécies de crotalária, obtidas de diferentes formas e avaliadas aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação (DAI). Londrina, 2016.

Tratamentos		10 dias	20 dias	30 dias
<i>Crotalaria breviflora</i>				
1	Semeadura Direta Escalonada (SDE)	37,40 ¹ a ²	101,40 a	96,40 b
2	Semeadura Direta Simultânea (SDS)	17,40 b	60,60 b	60,20 b
3	Sementeira Escalonada (SE)	30,20 ab	31,60 b	46,80 b
CV (%)		29,55	30,82	29,82
<i>Crotalaria juncea</i>				
1	Semeadura Direta Escalonada (SDE)	106,60 a	336,60 a	217,00 a
2	Semeadura Direta Simultânea (SDS)	199,00 a	203,40 ab	189,20 a
3	Sementeira Escalonada (SE)	123,60 a	112,80 b	103,00 a
CV (%)		39,37	37,56	53,19
<i>Crotalaria ochroleuca</i>				
1	Semeadura Direta Escalonada (SDE)	19,00 c	72,20 a	68,40 a
2	Semeadura Direta Simultânea (SDS)	63,40 b	47,00 ab	12,60 b
3	Sementeira Escalonada (SE)	93,20 a	57,60 b	55,60 a
CV (%)		26,53	21,40	35,32
<i>Crotalaria spectabilis</i>				
1	Semeadura Direta Escalonada (SDE)	48,00 a	177,20 a	138,00 a
2	Semeadura Direta Simultânea (SDS)	8,80 b	149,00 a	79,80 b
3	Sementeira Escalonada (SE)	14,00 b	72,80 b	62,40 b
CV (%)		43,98	32,58	33,38

¹Número de juvenis; ²Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância (n=5); CV(%): Coeficiente de variância.

Para *Crotalaria breviflora*, na avaliação aos 10 DAI, observou-se maior penetração de juvenis no Tratamento 1 (Semeadura Direta Escalonada - SDE) em comparação ao Tratamento 2 (Semeadura Direta Simultânea - SDS), porém estes foram semelhantes ao Tratamento 3 (Sementeira Escalonada - SE). Para esta espécie, na avaliação realizada aos 20 DAI, foi possível observar uma maior penetração dos nematoides nas plântulas obtidas no Tratamento 1 (SDE). Já, aos 30 DAI não houve diferença entre os tratamentos quanto à penetração de *H. glycines*.

Com relação à *C. juncea*, a única avaliação que resultou em diferença significativa entre os tratamentos foi àquela realizada aos 20 DAI, em que a maior penetração, também, foi observada para o Tratamento 1 quando as plântulas foram obtidas através da Semeadura Direta Escalonada (SDE).

Para *C. ochroleuca*, os resultados foram mais diversos. Aos 10 DAI, observou-se maior penetração de juvenis no Tratamento 3 (SE), porém este resultado não se manteve na avaliação aos 20 DAI, sendo que a penetração no Tratamento 1 (SDE) superou a média de juvenis penetrantes do Tratamento 3. E, aos 30 DAI, ambos os tratamentos apresentaram resultados semelhantes com maiores médias de penetração.

Em relação à *C. spectabilis*, as maiores médias para a penetração de juvenis, nas avaliações aos 10 e 30 DAI, também, foram obtidas para o Tratamento 1 em que as plântulas foram obtidas por Semeadura Direta Escalonada (SDE). E, na avaliação aos 20 DAI, o Tratamento 1 (SDE) apresentou resultado semelhante ao Tratamento 2 (SDS) e superior ao Tratamento 3 (SE).

De acordo com os resultados aqui obtidos, pode-se verificar que, para trabalhos conduzidos em casa de vegetação, quando as plântulas de *Crotalaria* spp. são obtidas a partir da semeadura simultânea sem considerar a velocidade de emergência de cada espécie, para o momento da inoculação, os resultados podem ser diferentes para a infecção de *H. glycines* raça 3. Além disso, quando se tem menor volume de raízes (10 DAI), a competição dos espécimes de nematoide por alimento se torna maior, uma vez que há menos área radicular disponível para a infecção.

Portanto, a emergência e o desenvolvimento inicial das espécies de crotalária devem ser considerados no momento da inoculação de *H. glycines*, principalmente, em experimentos conduzidos em casa de vegetação, pois estão

diretamente relacionados com os resultados obtidos. Além disso, no presente estudo, de forma geral, a semeadura realizada diretamente no vaso, porém realizada de forma escalonada de acordo com a espécie, foi o tratamento que resultou em maior penetração de *H. glycines* raça 3.

CONCLUSÃO

A semeadura das crotalárias diretamente no vaso, considerando-se a velocidade de emergência de cada espécie, resultou em maior penetração de juvenis de *H. glycines* raça 3.

4 ARTIGO B: HOSPEDABILIDADE DE ESPÉCIES DE CROTALÁRIA A HETERODERA GLYCINES RAÇA 3

RESUMO

O manejo de nematoides através do cultivo de plantas antagonistas tem sido frequentemente recomendado. Dentre as espécies recomendadas, encontram-se as crotalárias, que afetam negativamente a população de nematoides, não permitindo sua multiplicação, principalmente em esquemas de rotação de culturas. Em função disso, objetivou-se avaliar a hospedabilidade das espécies *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. spectabilis* e *C. ochroleuca* a *Heterodera glycines* raça 3, em condições de casa de vegetação, padronizando-se a obtenção das plântulas através da semeadura direta e escalonada de acordo com o desenvolvimento inicial das espécies. Também foi utilizada a soja cv. Lee como padrão de suscetibilidade. Aos 10, 20 e 30 DAI, foram avaliadas a massa fresca de raiz e o desenvolvimento dos juvenis. E, aos 30 DAI calculou-se, ainda, o índice de fêmeas e a produção de ovos por fêmea nas espécies de crotalária e na soja. Os resultados apontaram que todas as espécies avaliadas permitem a penetração de juvenis de *Heterodera glycines* raça 3. Também confirmaram que *C. ochroleuca* é hospedeira a *H. glycines* raça 3, permitindo o desenvolvimento de juvenis até a formação de fêmeas e a produção de ovos. E que *C. breviflora*, *C. juncea* e *C. spectabilis* apesar de terem permitido a penetração de *H. glycines*, não possibilitam o desenvolvimento completo do ciclo de vida do nematoide.

Palavras-chave: Manejo, nematoide de cisto da soja, plantas antagonistas, reprodução.

HOSPEDABILITY OF THE SPECIES OF *CROTALARIA* TO *H. GLYCINES* RACE 3 ABSTRACT

Plant-parasitic nematodes management by antagonists crops has often been recommended. Among the recommended species there are the crotalarias, that affect decreasing the nematode population, not allowing their reproduction, particularly in crop rotation. In addition, the aim was to evaluate the host ability of *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. spectabilis* and *C. ochroleuca* to *Heterodera glycines* race 3, in greenhouse conditions, being standardized the seedlings production by direct sowing and staggered according to the initial development of the species. Soybean cv. Lee was used as the standard of susceptibility. At 10, 20 and 30 DAI, fresh root mass and juvenile development were evaluated. And, at 30 DAI, the female index and the egg production per female were also calculated in *Crotalaria* spp. and in soybean. The results indicate that all tested *Crotalaria* species allow the penetration of *H. glycines* race 3 juveniles. Results also confirmed that *C. ochroleuca* is a host of the nematode, allowing the development of juveniles until the formation of females and eggs production. Although juveniles of *H. glycines* penetrated *C. breviflora*, *C. juncea* and *C. spectabilis*, the species do not allowed a complete nematode life cycle development.

Keywords: Management, soybean cyst nematode, plants antagonistic, reproduction.

INTRODUÇÃO

Heterodera glycines Ichinohe 1952 tem sido considerado um dos principais problemas fitossanitários na cultura da soja em todos os países produtores. Conhecido como nematoide de cisto da soja (NCS), pode ser encontrado em todo o mundo, provocando grandes perdas econômicas (DIAS et al., 2007). Se destaca, também, em função da extensão das áreas infestadas, que, no Brasil, estão estimadas em mais de dois milhões de hectares, ocasionando perdas de produção anual avaliadas em cerca de 70 milhões de dólares (SILVA; GARCIA, 2004).

Um dos métodos de manejo mais recomendados para nematoides é a utilização de plantas antagonistas, principalmente, em esquemas de sucessão ou rotação de culturas (FERRAZ et al., 1999). Essas plantas afetam a população de nematoides de forma negativa, englobando plantas armadilhas, hospedeiras desfavoráveis e aquelas que contêm compostos nematicidas e/ou nematostáticos em seus tecidos, que podem ser liberados no meio externo ou apenas atuar no interior das plantas (FERRAZ; VALLE, 1997).

Além disso, algumas plantas antagonistas apresentam determinadas vantagens, como serem fixadoras de nitrogênio, fornecendo matéria orgânica ao solo; não prejudicarem inimigos naturais dos nematoides; possibilitarem controle de outros patógenos do solo; produzirem compostos nematódicos na parte aérea e produzirem compostos nematicidas nas raízes (FERRAZ et al., 2010).

Crotalaria spp. têm apresentado bons resultados sobre a redução da população de nematoides no solo (INOMOTO et al., 2008), sobretudo por serem não hospedeiras e não permitirem a multiplicação dos nematoides (FERRAZ et al., 2010).

A supressão dos nematoides pelas crotalárias se deve à capacidade em atuarem como planta armadilha, pois permite a penetração dos juvenis em suas raízes, em contrapartida impede o desenvolvimento do nematoide até a fase adulta (SILVA et al., 1989). Além disso, algumas espécies produzem a monocrotalina (WANG et al., 2002), que é um alcaloide produzido pelos exsudados radiculares com alta toxicidade e efeito deletério a nematoides (RICH; RAHI, 1995). Calegari et al. (1993) observaram que *Crotalaria* spp. é bastante eficaz no impedimento da

multiplicação de populações de nematoides, pois têm seu desenvolvimento anulado quando expostas a monocrotalina.

Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar o desenvolvimento e a reprodução de *Heterodera glycines* raça 3, em condições de casa de vegetação, nas espécies de *Crotalaria breviflora*, *C. ochroleuca*, *C. juncea* e *C. spectabilis*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, sendo utilizada uma população de *Heterodera glycines* raça 3, obtida junto ao laboratório de Nematologia da GDM Seeds. A escolha da raça foi determinada pela sua predominância no Estado do Paraná.

O inóculo de *H. glycines* foi obtido de plantas de soja cv. Potência, cultivadas por um período de 30 dias, mantidas em vasos de cerâmica contendo como substrato areia e solo na proporção de 3:1 (v/v).

Para obtenção do inóculo, as raízes foram cuidadosamente removidas dos vasos e lavadas com um jato forte de água, para separação dos cistos sobre um conjunto de peneiras acopladas (aberturas de 0,84 e 0,25 mm), sendo coletada a suspensão retida na última peneira. Posteriormente, a suspensão foi transferida para um novo conjunto de peneiras sobrepostas com aberturas de 0,15 e 0,025 mm: na primeira, procedeu-se a maceração com o auxílio de um Becker de vidro, para rompimento dos cistos; e, na segunda, a suspensão com ovos e possíveis juvenis foi recolhida. A suspensão foi quantificada em câmara de Peters sob microscópio óptico, e calibrada para conter 1000 ovos / mL.

Para o experimento foi adotado um delineamento inteiramente casualizado, com quatro espécies de crotalária (*Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. ochroleuca* e *C. spectabilis*) e a soja cv. Lee (padrão de susceptibilidade). Utilizou-se 25 repetições de cada espécie de crotalária e dez repetições de soja.

As espécies de crotalária foram semeadas diretamente em vasos plásticos, contendo substrato composto de uma mistura de areia e solo na proporção 3:1 (v/v). Primeiramente, foram semeadas quatro sementes por vaso de *C. breviflora* e *C. ochroleuca*, e após 10 dias, quatro sementes de *C. juncea* e *C. spectabilis*, uma vez que as espécies apresentam períodos de emergência e desenvolvimento

diferentes. Dessa forma, assegurou-se que todas as plântulas estariam no mesmo estágio de desenvolvimento tanto para a inoculação quanto para as avaliações. O desbaste foi realizado aos 10 (*C. juncea* e *C. spectabilis*) e 20 dias (*C. breviflora* e *C. ochroleuca*), padronizando-se uma plântula por vaso. A semeadura da soja cv. Lee foi realizada juntamente com a semeadura de *C. breviflora* e *C. ochroleuca*.

A inoculação de todas as plântulas foi realizada, simultaneamente, para todas as espécies, utilizando-se uma suspensão de inóculo padronizada para 4000 ovos e eventuais juvenis de *H. glycines* raça 3 em cada vaso.

Aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação (DAI), procedeu-se as avaliações da penetração dos juvenis de segundo estágio (J2) nas espécies de crotalárias. Para tanto, raízes de cinco plantas de cada espécie foram separadas e submetidas à técnica de coloração com fucsina ácida (BYRD et al., 1983). Posteriormente, foram colocadas entre duas lâminas, observadas em microscópio óptico, para quantificação dos J2 penetrantes.

Aos 30 DAI realizou-se a retirada de 10 plantas de cada espécie de crotalária e de soja para avaliação do número de fêmeas, número de ovos por fêmea e fator de reprodução (FR). Em laboratório, as raízes foram lavadas sob jato forte de água, em Becker de 2 L de capacidade. A suspensão retida no Becker foi transferida para um conjunto de peneiras acopladas de aberturas 0,84 e 0,25mm. Na suspensão retida na última peneira, quantificou-se o número de fêmeas em placas de Petri, sob microscópio estereoscópico. Após contagem das fêmeas, a suspensão foi novamente vertida sobre peneiras acopladas de abertura de 0,25 e 0,025 mm para a maceração das mesmas. Após a maceração, recolheu-se o conteúdo da última peneira para contagem do número de ovos sob microscópio ótico, utilizando-se câmara de Peters.

Atendidas as exigências de normalidade e homogeneidade de variâncias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de significância, utilizando-se o software SISVAR.

RESULTADOS

Na Tabela 3 estão os resultados para desenvolvimento de raízes nas diferentes espécies de *Crotalaria*, a penetração de juvenis (J2) e população de *H. glycines* (juvenis) nas raízes aos 10, 20 e 30 DAI.

Apenas *C. ochroleuca* apresentou alteração na massa fresca de raízes ao longo do período experimental, com maior massa de raízes aos 30 DAI. Isto pode se dever ao fato de que esta espécie possui desenvolvimento inicial mais lento.

Tabela 3. Massa fresca de raízes de *Crotalaria* spp., penetração de juvenis e população de *H. glycines* raça 3 nas raízes, aos 10, 20 e 30 dias após a inoculação (DAI) do nematoide. Londrina, PR. 2016.

Avaliação (DAI)	Massa de raiz (g)	Juvenis penetrantes (nº)	Juvenis/g de raiz (nº)
<i>Crotalaria breviflora</i>			
10	1,58 ¹ a ²	37,40 ¹ b ²	26,58 ¹ b ²
20	1,14 a	101,40 a	100,80 a
30	1,58 a	96,40 a	62,71 ab
CV (%)	36,37	29,92	45,22
<i>Crotalaria juncea</i>			
10	1,44 a	106,60 c	79,92 a
20	3,30 a	336,60 a	104,94 a
30	2,78 a	217,00 b	91,57 a
CV (%)	44,95	28,54	28,49
<i>Crotalaria ochroleuca</i>			
10	0,47 b	19,00 b	44,34 b
20	0,97 b	75,20 a	82,19 a
30	1,52 a	68,40 a	45,19 b
CV (%)	31,46	30,53	38,13
<i>Crotalaria spectabilis</i>			
10	0,60 a	48,00 b	88,67 c
20	0,69 a	177,20 a	252,56 a
30	0,75 a	138,00 a	183,42 b
CV (%)	30,18	30,19	20,98

¹ Média de cinco repetições; ² Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os dados demonstram que as espécies avaliadas permitem a penetração de juvenis de *H. glycines* raça 3, independente do período de avaliação (Tabela 3). Porém, um menor número de juvenis penetrantes foi observado na avaliação realizada aos 10 DAI para as espécies de *Crotalaria* avaliadas. Para *C. breviflora*, *C. ochroleuca* e *C. spectabilis* não houve diferença quanto à penetração de juvenis nas avaliações de 20 e 30 DAI. Mas, em *C. juncea* verificou-se a maior penetração quando a avaliação foi efetuada aos 20 DAI.

Quanto ao número de juvenis por grama de raiz, houve variação com resultados diferentes entre as espécies de *Crotalaria* (Tabela 3). Em *C. breviflora*, as maiores médias foram obtidas aos 20 e 30 DAI, porém esta foi semelhante à da avaliação aos 10 DAI. Para *C. juncea*, não foram observadas diferenças estatísticas entre as avaliações para desenvolvimento de juvenis, apesar de numericamente o número de juvenis / g de raiz ter sido maior a partir de 20 DAI. Já com *C. ochroleuca* e *C. spectabilis*, as médias para número de juvenis / g de raiz foram estatisticamente superiores aos 20 DAI, mostrando um decréscimo a partir desse período.

Quanto à reprodução de *H. glycines* raça 3 nas espécies de crotalária, em relação a cultivar de soja 'Lee' (padrão de susceptibilidade), observou-se formação de fêmeas com produção de ovos apenas em *C. ochroleuca*, apresentando um índice de fêmeas 31,2 %, confirmando a suscetibilidade desta espécie a *H. glycines* raça 3.

Tabela 4. Reprodução de *H. glycines* raça 3 em *Crotalaria* spp. e soja cv. Lee (n=10). Londrina, PR. 2016.

Espécie	Número de Fêmeas	Número de ovos	Ovos/fêmea	IF(%) ¹
Soja cv. Lee	160,4	20056,0	125,21	100,0
<i>C. breviflora</i>	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. juncea</i>	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>C. ochroleuca</i>	50,0	3382,2	46,5	31,2
<i>C. spectabilis</i>	0,0	0,0	0,0	0,0

¹IF= (Nº fêmeas na cultivar testada / Nº fêmeas na soja suscetível) x 100

DISCUSSÃO

Schwan (2003) também observou que houve penetração de *H. glycines* em várias espécies de crotalária, incluindo as quatro avaliadas neste experimento. Entretanto, nem todas permitiram o completo desenvolvimento dos nematoides, que se mantiveram em estádios até J3/J4.

Assim, considerando-se o índice de fêmeas e a contagem de ovos nas raízes, nota-se que as espécies *C. breviflora*, *C. juncea* e *C. spectabilis* podem ser consideradas plantas má hospedeiras a *Heterodera glycines* raça 3. Essas

espécies são consideradas plantas não hospedeiras desse nematoide, visto que permitem a penetração de juvenis, mas não a formação de fêmeas em suas raízes.

Os resultados encontrados neste trabalho vêm ao encontro dos obtidos por Riggs (1987), que também considerou *C. spectabilis* não hospedeira de *H. glycines*. Além disso, Riggs (1992) também constatou que *C. juncea* é considerada hospedeira não eficiente deste nematoide.

Também corrobora com Valle (1996), que verificou o mesmo comportamento em seus trabalhos em *C. spectabilis*, pois apesar de permitir a penetração de juvenis, não foi observada a presença de fêmeas no sistema radicular. Por outro lado, estes autores verificaram reprodução do nematoide em *C. juncea*.

Em *C. breviflora*, *C. juncea* e *C. spectabilis*, a ausência de fêmeas e ovos pode ser uma consequência da inibição da formação do sincício, ou necrose das células na região onde houve a formação do sincício, seguido de pequena ou nenhuma regeneração dos tecidos. Fato evidenciado por Endo (1965), em trabalho analisando a resistência de plantas à *Heterodera glycines*.

Em conformidade com Riggs (1992), *C. ochroleuca* é hospedeira do nematoide. Avaliando-se o número de fêmeas encontrado no sistema radicular de *C. ochroleuca* aos 30 DAI, constata-se que este tempo foi suficiente para que o nematoide completasse, ao menos, um ciclo de vida.

CONCLUSÃO

Todas as espécies avaliadas permitem a penetração de juvenis de *Heterodera glycines* raça 3.

Crotalaria ochroleuca é hospedeira a *H. glycines* raça 3, permitindo o desenvolvimento de juvenis até a formação de fêmeas e a produção de ovos.

Crotalaria breviflora, *C. juncea* e *C. spectabilis* são consideradas plantas armadilhas à *H. glycines* raça 3, pois apesar de terem permitido a penetração de *H. glycines*, não permitem o desenvolvimento completo do ciclo de vida do nematoide.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. Plant diseases caused by nematodes. In: AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5 ed., Oxford: Elsevier Academic Press. 2005. p. 826-874.
- AGUIAR, A. T. E.; GONÇALVES, C.; PATERNIANI, M. E. A. G. Z.; TUCCI, M. L. S.; CASTRO, C. E. F. **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. 7.ed. Campinas, Instituto Agronômico, (Boletim 200). 2014. p.452.
- ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YORINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da Soja (*Glycine max* L.). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 3ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, 1997. p. 642-675.
- AMABILE, R. F.; FANCELLI, A. L.; CARVALHO, A. M. Comportamento de espécies de adubos verdes em diferentes épocas de semeadura e espaçamentos na região dos cerrados. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.35, n.1, 2000. p. 47-54.
- AZEVEDO, V. H.; AZEVEDO, P. H.; SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C. Nematóide de cisto da soja: herança, caracterização e controle. In: SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C. (Eds). **Cultivares de soja UFV em Mato Grosso**, 49, (Boletim Técnico, 11 – Soja), 2002. p. 43-46.
- BALDWIN, J. G.; MUNDO-OCAMPO, M. Heteroderinae, cyst and non-sistforming nematodes. In: NICKLE, W.R. **Manual of agricultural nematology**. New York, Marcel Dekker, 1991. p. 275-362.
- BRITO, C. H.; SEDIYAMA, T.; POZZA, E. A.; DIAS, W. P. Níveis de inóculo e época para avaliações de *H. glycines* (Ichinohe) em soja. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n. 4, 1999. p. 836-840.
- BONGERS, T.; FERRIS, H. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 4, n. 6, 1999.
- BYRD, D. W.; KIRKPATRICK, T.; BARKER, K. R. As improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, 15:(1): 1983. p. 142-143.
- CALEGARI, A.; MONDARDO, A.; BULISANI, E.A.; WILDNER, L.P.; COSTA, M.B.B.; ALCÂNTARA, P.B.; MIYASAKA, S.; AMADO, T.J.C. **Adubação verde no sul do Brasil**. Rio de Janeiro/RJ: Editora AS-PTA, 1993. p. 247-248.
- CAVINESS, C. E. Breeding for resistance to soybean cyst nematode. In: RIGGS, R. D.; WHATHER, J. A. (Eds.). **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul: APS Press, 1992. p. 143-156.
- CARES, J. E.; BALDWIN, J. G. Nematóides formadores de cistos do gênero *Heterodera*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. v. 3, 1995. p. 29-84.

CARVALHO, V. P. Identificação de marcadores moleculares para a resistência ao nematoide de cisto da soja [*Heterodera glycines* (Ichinohe)] em soja. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 23, n.4, 1999. p. 836-840.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira – Safra 2015/2016**. Brasília, Brasil: CONAB publication n. 9. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 16 de maio de 2016.

COOK, C. G.; WHITE, G. A. *Crotalaria juncea*: a potencial multi-purpose fiber crop. In: COOK, C. G.; WHITE, G. A. (Eds.). **Progress in new Crops**. Arlington: ASHS Press, 1996. p. 389-394.

CURRY, J. P. **Grassland invertebrates. Ecology, influence of soil fertility and effects on plants growth**. London: Chapman & Hall. 1994. 437p.

DA SILVA, J. A. L.; NETO, L. M. O; CARVALHO, E. M. S. **Levantamento da ocorrência do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) em áreas de cultivar de soja (*Glycine max*) no cerrado do Piauí**. Universidade Federal do Piauí, comunicado técnico, n. 6, 2006. p.1-4.

DEBIASI, H.; MORAES, M. T.; FRANCHINI, J. C.; DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; RIBAS, L. N. Manejo do solo para controle cultural dos nematoides das lesões radiculares na entressafra de soja, In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 33, 2013, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: SBCS: UFU: ICIAG. 2013.

DE LEY, P.; BLAXTER, M. Systematic position and phylogeny. In: LEE, D. L. **The biology of nematodes**. New Yourk: Taylor & Francis. 2002. p. 1-30.

DIAS, W. P.; CAMPO, V. P.; KIIHL, R. A. S.; ARIAS, C. A. A.; TOLEDO, J. F. F. Genetic control in soybean of resistance to soybean cyst nematode race 4⁺. **Euphytica**, v. 145, 2005. p. 321-329.

DIAS, W. P.; SILVA, J. F. V.; KIIHL, R. A. S.; HIROMOTO, D. M.; ABDELNOOR, R. V. Quebra de resistência da cv. Hartwig por população de campo do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, n. 33, 1988. p. 971-973.

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

DIAS, F. T. C.; SILVA, A. M. P.; BERTINI, C. H. C. M. Genetic divergence in cowpea genotypes with upright growth and early cycle. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 9. 2009. p. 253-259.

DHINGRA, O. D.; MENDONÇA, H. L.; MACEDO, D. M. Doenças e seu controle. In: SEDITYAMA, T. (Ed.) **Tecnologias de produção e usos da soja**. Londrina: Mecenas, 2009. p. 133-155.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA.
Tecnologia de produção de Soja Região central do Brasil 2007, Sistema 11 de Produção. Londrina, 2006. 225p., n.10, p. 65-89,.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA.
Tecnologias de produção de Soja – Região Central do Brasil – 2009 e 2010.
Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2008. p. 262.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA.
Tecnologias de produção de soja região Central do Brasil 2011. Embrapa, Londrina. 2010. 255p.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA.
Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2012 e 2013.
Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/download/SP15-VE.pdf>. Acessado em: 10 de jan. 2011.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA.
Nematoides em Soja: Identificação e Controle. Disponível em: <
www.cnpso.embrapa.br/download/CT76_eletronica.pdf>. Acesso em: 13 de jul. 2010.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA.
Tecnologias de Produção de Soja – Região Central do Brasil 2014. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/95489/1/SP-16-online.pdf>> Acesso em jan. 2016.

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, 1965. p. 375-381.

FAHL, J. I.; CAMARGO, M. B. P.; PIZZINATTO, M. A.; BETTI, J. A.; MELO, A. M. T. de; De Maria, I. C.; FURLANI, A. M. C. et al. (Eds.) **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas.** Campinas, Instituto Agrônomo (Boletim 200). 6.ed, 1998. p. 396.

FASSULIOTIS, G.; SKUCAS G. P. The effect of pyrrolizidine alkaloid ester and plants containing pyrrolizidine on *Meloidogyne incognita acrita*. **Journal of Nematology**. n. 1, 1969. p. 287-288.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: ARMANDO BERGAMIN FILHO; HIROSHI KIMATI; LILIAN AMORIM. (Org.) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos.** 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, 1995. p. 168-201.

FERRAZ, S.; VALLE, L. A. C. **Controle de fitonematoides por plantas antagônicas.** Viçosa, MG: Editora UFV, 1997. p. 73.

FERRAZ, S.; VALLE, L. A. C.; 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, 1999. p. 25-53.

FERRAZ, L. C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; Amorim, L. **Manual de Fitopatologia**. 3ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, 2005. p. 168-201.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. **Manejo sustentável de fitonematoides**. 1 ed, 2010.

FERRAZ, C. C. B.; MONTEIRO, A. R. Nematoides. In: REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 1, 2011. p. 277-304.

FERREIRA, N. P. Reação de genótipos de soja do programa de melhoramento da Universidade Federal de Uberlândia ao fitonematoide *Heterodera glycines*. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia/MG, 2007. p. 33.

FONSECA et al., A. H. da. 2002. **Classificação e morfologia de nematoides em medicina veterinária**. Disponível em: <<http://fonseca.vet.br/parasitologia/nema/nematoda.pdf>> Acesso em: 19 de Setembro 2012.

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

GOLDEN, A. M.; EPPS, J. M.; RIGGS, R. D.; DUCLOS, L. A.; FOX, J. A.; BERNARD, R. L. Terminology and identity of infraespecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Plant Disease Report**, v. 54, n. 7, 1970. p. 544-546.

GOULART, A. M. C.. **Diversidade de nematoides em agroecossistemas e ecossistemas naturais**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados. 2007. –

(Documentos/Embrapa Cerrados, ISSN 1517-5111; 191), 71p.

HUSSEY, R. S.; GRUNDLER, F. M.W. Nematode parasitism of plants, p. 213-244. In: PERRY, R. N.; WRIGHT, D. J. **The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes**. 1998. p. 438.

INOMOTO, M. M.; ASMUS, G. L.; SILVA, R. A.; MACHADO, A. C. Z. **Nematoides: Uma ameaça à cotonicultura brasileira**. São Paulo: Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. 2007. p. 15.

INOMOTO, M. M.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; SANTOS, V. P.; SILVA, R. A.; ALMEIDA, G. C. Avaliação em casa de vegetação do uso de sorgo, milheto e crotalária no manejo de *Meloidogyne javanica*. **Tropical Plant Pathology**, v.33, 2008. p.125-129.

- LEE, D.L. Life cycles. In: LEE, D. L. **The biology of nematodes**. New Yourk: Taylor & Francis. 2002. p. 61-72.
- 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. 1984. **Comunidade Técnico**, 8, Brasília. p.5.
- MENDES, M. L.; DICKSON, D.W. Detection of *Heterodera glycines* on soybean in Brazil. **Plant Disease**, v. 77(5), 1993. p. 499-500.
- MONTEIRO, A. R. Controle de nematoides por espécies de adubos verdes. In: WUTKE, E. B.; BULISANI, E. A.; MASCARENHAS, H. A. A. (Eds.). **I Curso sobre adubação verde no Instituto Agrônômico**. Campinas: IAC, 1993. p.109-121.
- MOORE, W. F.; BOST S. C.; BREWER F. L.; DUN R. A.; ENDO B. Y.; GRAU C. R.; HARDMAN L. L.; JACOBSEN B. J.; LEFFEL R.; NWEAMAN M. A.; NYVALL R. F.; NYVALL, C.; OVERSTREET & PARKS C. L. **Soybean cyst nematode**. Soybean Industry Resource Committee, Washington, 1984. p. 23.
- NIBLACK, T. L.; ARELLI, P. R.; NOEL, G. R.; OPPERMAN, C. H.; ORF, J, H.; SCHMITT, D. P.; SHANNON, J. F.; TYLKA, G. L.; A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 34, n. 4, 2002. p. 179-288.
- NOEL, G.R. History, Distribution and Economics. In: RIGGS, R. D. & RATHER, A.A. (Eds.). **Biology and Management of the Soybean Cyst Nematode**. St. Paul: APS Press, 1992. p. 1-13.
- NOEL, G.R.; MENDES M.L.; MACHADO, C.C. Distribution of *Heterodera glycines* races in Brazil. **Nematropica**, v. 24, 1994. p. 63-68.
- RICH, J. R.; RAHI, G. S. Suppression of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* on tomato with ground seed of castor, *Crotalaria*, hairy indigo and wheat. **Nematoropica**, 1995. 25:159-164.
- RIGGS, R. D. Nonhost Root Penetration by Soybean Cyst Nematode. **Journal of Nematology**, Lawrence, v.19, n.2, 1987. p.251-254.
- RIGGS, R. D.; SCHMITT, D. P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 20, n. 3, 1988. p. 392-395.
- RIGGS, R. D.; SCHMITT, D. P. Soybean cyst nematode. In: SINCLAIR, J. G; BACKMAN, P. A. (Eds.). **Compendium of soybean disease**. The American Phytopathological Society, 1993. p. 65-67.
- RIGGS, R. D.; WRATHER, A. J. Biology and management of the Soybean cyst nematode, **The American Phytopathological Society**, 1992. p. 15-23.
- RITZINGER, C. H. S. P.; FANCELLI, M.; RITZINGER, R. Nematoides: bioindicadores de sustentabilidade e mudanças edafoclimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 2010. v. 32, n. 4, p. 1289-1296.

- ROCHA, M. R.; CARVALHO, Y.; CORRÊA, G. C.; CATTANI, G. P.; RAGAGNIN, O. Efeito da textura do solo sobre população de *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**. Brasília, v. 30, 2006. p. 11-15.
- ROSS, J. P. Crop rotation effects on the soybean yields. **Phytopathology**, v. 52, n. 8, 1962. p. 815-818.
- ROSS, J. P.; BRIM, C. A. Resistance of soybeans to the soybean cyst nematode as determined by a double-row method. **Plant Disease Reporter**, v. 41, n. 11, 1957. p. 923-924.
- SCHEUER, J. M. **Adubação verde – Crotalária, uma técnica eficiente**. Disponível em: <<http://www.webartigos.com/articles/30834/1/ADUBACAO-VERDE--CROTALARIA-UMA-TECNICA-EFICIENTE/pagina1.html>>. Acesso em: 29 de jun. 2010.
- SCHMITT, D. P.; NOEL, G. R. Nematodes parasites of soybean. In: NICKLE, W. R. (Ed). **Plant and insect nematode**. New York, Marcel Dekker, 1984. p. 13-59.
- SCHMITT, D. P; RIGGS, R. D. Population Dynamics and Management of *Heterodera glycines*. **Agricultural Zoology Reviews**, Arkansas, v.3, 1989. p. 253-269.
- 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.
- SCHWAN, A. V. Antagonismo de espécies de crotalária ao nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe), **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)** – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Dourados, 2003.
- SEDIYAMA, T.; TEIXEIRA, R. C.; BARROS, H. B. Cultivares. In: SEDIYAMA, T. (Ed). **Tecnologias de produção e uso da soja**. Londrina: Mecenias, 2009. p. 77-91.
- SILVA, G. S., FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Atração, penetração e desenvolvimento de larvas de *Meloidogyne javanica* em raízes de *Crotalaria spp*. **Nematologia Brasileira**, v.13, 1989. p. 151-163.
- SILVA, G. S., FERRAZ, S.; SANTOS, J. M. Histopatologia de raízes de *Crotalaria* parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, 1990. p. 46-48.
- SILVEIRA, P. M.; RAVA, C. A. Utilização de Crotalária no controle de nematoides da raiz do feijoeiro. **EMBRAPA**, comunicado técnico, n. 74, 2004.
- TAYLOR, A. L. Introductions to research on plant nematology. **FAO**, Rome, 1971. p. 133.
- TIHOHOD, D. **Guia prático para a identificação de fitonematoides**. Jaboticabal: FUNEP, 1997. p. 37-48.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola**. Jaboticabal: FUNEP, 2000. p. 473.

- TURNER, S. J.; ROWE, J. A. In: Perry, R. N.; Moens, M. (Eds.) **Plant Nematology**. UK: Biddles Ltd, King's Lynn (CABI Publishing), 2006. p. 91-122.
- VALLE, L. A. C. Controle do Nematóide de Cisto da Soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, com Leguminosas e Gramíneas Forrageiras. 74f. **Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)** – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.
- VILLAR, M. J.; ZAVALETA-MEJIA, E. Efecto de *Crotalaria longirostrata* Hook y Arnott sobre Nematodos Agalladores (*Meloidogyne* spp.). **Revista Mexicana de Fitopatologia**, Chapingo, v. 8, n. 2, 1990. p. 166-172.
- WYSS, U. Feeding behaviour of plant-parasitic nematodes. In: LEE, D. L. **The biology of nematodes**. New Yourk: Taylor & Francis. 2002. p. 233-260.
- WANG, K. H.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: a review. **Nematropica**, v. 32, 2002. p. 35-57.
- WRATHER, J. A.; ANAND, S. C.; DROPKIN, V. H. Soybean cyst nematode control. **Plant Dis.** v. 68, 1984. p. 829-833.
- WRATHER, J. A.; ANAND, C. S.; KOENNING, S, R. Management by cultural practices. In: RIGGS, R. D.; WRATHER, J. A. **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul: APS Press, 1992. p.125-131.
- WUTKE, E. B. Adubação verde: manejo de fitomassa e espécies utilizadas no estado de São Paulo. In: WUTKE, E. B.; BULISANI, E. A.; MASCARENHAS, A. A. (Coords). **Curso sobre adubação verde no Instituto Agrônômico**, 1. Campinas, SP: IAC, 1993. p. 17-29.
- YEATES, G. W.; BONGERS, T.; DE GOEDE, R. G. M.; FRECKMAN, D. W.; GEORGIEVA, S. S. Feeding habits in nematodes families – an outline for soil ecologists. **Journal of Nematology**. 1993. v. 25, p.315-331.
- YORINORI, J. T.; GALERANI, P. R.; GARCIA, A. Manejo da cultura para controle do nematóide de cisto da soja. **EMBRAPA – CNPSo** (Documento,83). Londrina. 1994. p.85.
- 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.