



**JORGE DE BRITO SANCHES**

**HISTOPATOLOGIA DE RAÍZES DE *Mucuna pruriens* (L.) DC INFECTADAS  
PELO NEMATÓIDE DE CISTOS DA SOJA, *Heterodera glycines***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2001**

**JORGE DE BRITO SANCHES**

**HISTOPATOLOGIA DE RAÍZES DE *Mucuna pruriens* (L.) DC INFECTADAS  
PELO NEMATÓIDE DE CISTOS DA SOJA, *Heterodera glycines***

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 14 de agosto de 2001

---

Prof. Eldo A. Monteiro da Silva  
(Conselheiro)

---

Prof. Leandro Grassi de Freitas  
(Conselheiro)

---

Prof. Kiyoshi Matsuoka

---

Prof. Murilo Geraldo de Carvalho

---

Prof. Silamar Ferraz  
(Orientador)



A Deus, por tudo.

Aos meus pais, Manoel e Alzeni.

Aos meus irmãos, Valdecy e Nadir.

## AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização do curso.

Ao professor Silamar Ferraz, pela orientação e pelos ensinamentos.

Ao professor Eldo Antônio Monteiro da Silva, pela orientação na condução do experimento de histopatologia.

Aos membros da Banca Examinadora, pelas sugestões, que contribuíram para a melhoria deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, pelos ensinamentos.

Aos professores Leandro Grassi de Freitas e Rosângela D'Arc de Lima Oliveira, pelas sugestões, pelo estímulo e pela amizade.

Às professoras Aristéa Alves Azevedo e Renata Maria Strozi Alves Meira e às funcionárias Zilda Alzira Soares e Rosane Cruz Portugal, pelo apoio e pela agradável convivência no Laboratório de Anatomia Vegetal.

À professora Flávia Cristina P. Garcia, pelo apoio no acompanhamento da identificação de mucuna.

Ao pesquisador da EMBRAPA (CNPsoja), Waldir Pereira Dias, pelo envio do inóculo de *Heterodera glycines* e pelas valiosas sugestões.

À Silvana Lages Ribeiro Garcia, pelo apoio nas análises estatísticas e sobretudo pelas agradáveis conversas.

Aos amigos José Mauro e Cida, pela hospitalidade e pelo apoio nos momentos difíceis.

A Edson, Luiz Artur, Cláudia Regina, Dalza e Ana Diogo, pela grande amizade.

A Flávio, Eugênio, Regina Cássia, Adelica e Débora, pelo agradável convívio no Departamento de Fitopatologia.

Aos amigos Wilson, Ricardo, Silvio César, Marlon, César e a D. Rita, por terem feito da nossa república uma segunda família.

À minha família, especialmente aos meus irmãos Valdecy e Nadir.

## ÍNDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT .....	ix
1. INTRODUÇÃO .....	1
1.1. A importância da cultura da soja [ <i>Glycine max</i> (L.) Merrill] .....	1
1.2. O nematóide de cisto da soja <i>Heterodera glycines</i> Ichinohe .....	2
1.3. Uso de <i>Mucuna</i> spp. no controle de <i>Heterodera glycines</i> .....	4
1.4. Objetivos .....	6

### CAPÍTULO 1

<b>PENETRAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DO NEMATÓIDE DE CISTOS DA SOJA (<i>Heterodera glycines</i>) E HOSPEDABILIDADE DE VARIEDADES DE <i>Mucuna pruriens</i> AO NEMATÓIDE .....</b>	<b>7</b>
1. INTRODUÇÃO .....	7
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
2.1. Origem do inóculo de <i>Heterodera glycines</i> .....	11
2.2. Penetração e desenvolvimento de <i>Heterodera glycines</i> em raízes de <i>Mucuna pruriens</i> .....	12
2.3. Hospedabilidade de <i>Mucuna pruriens</i> à raça 3 e a duas outras populações de <i>Heterodera glycines</i> .....	13

3. RESULTADOS.....	15
3.1. Penetração e desenvolvimento de <i>Heterodera glycines</i> em raízes de <i>Mucuna pruriens</i> .....	15
3.2. Hospedabilidade de <i>Mucuna pruriens</i> à raça 3 e a duas outras populações de <i>Heterodera glycines</i> .....	18
4. DISCUSSÃO .....	20
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	23

## **CAPÍTULO 2**

<b>ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS DA RAIZ DA MUCUNA (<i>Mucuna pruriens</i> (L.) DC.) E DA SOJA PROVOCADAS POR <i>Heterodera glycines</i>, RAÇA 3 .....</b>	<b>25</b>
1. INTRODUÇÃO .....	25
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3. RESULTADOS.....	34
3.1. Histopatologia das raízes de mucuna .....	34
3.2. Histopatologia das raízes de soja.....	43
4. DISCUSSÃO .....	46
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	50
2. RESUMO E CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
APÊNDICE .....	62
APÊNDICE A .....	63
APÊNDICE B .....	65

## RESUMO

SANCHES, Jorge de Brito, D.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2001. **Histopatologia de raízes de *Mucuna pruriens* (L.) DC infectadas pelo nematóide de cistos da soja, *Heterodera glycines*.** Orientador: Silamar Ferraz. Conselheiros: Eldo Antônio Monteiro da Silva e Leandro Grassi de Freitas.

Entre os problemas fitossanitários da cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] no Brasil, o nematóide de cistos da soja (NCS) é responsável por grandes prejuízos econômicos. Devido à pouca disponibilidade de variedades de soja resistentes no País, o controle deste nematóide baseia-se principalmente na rotação de culturas com espécies não-hospedeiras tradicionalmente cultivadas ou utilizadas para adubação verde e cobertura do solo. Visando ampliar as informações sobre a utilização da espécie *Mucuna pruriens* no controle do NCS, foram conduzidos ensaios em casa de vegetação, para avaliar a penetração e o desenvolvimento de populações do nematóide identificadas como raças 2, 3, 4, 5 e 14 nas raízes das variedades *pruriens* (mucunas anã e rajada) e *utilis* (mucunas preta e cinza) e as alterações histológicas quando inoculadas com a raça 3 do nematóide. Observou-se a penetração dos juvenis de segundo estágio (J2) das diferentes raças do nematóide em todas as mucunas e o desenvolvimento destes até o terceiro (J3) e quarto estádios (J4). Todavia, estes dois últimos estádios de

desenvolvimento foram encontrados em maior número nas raízes da soja 'Doko RC'. As duas variedades de *M. pruriens* se comportaram como não-hospedeiras do nematóide, pois apenas três fêmeas se formaram nas raízes das plantas de mucuna rajada, anã e cinza (uma fêmea em uma das plantas) quando se inoculou a raça 4 e apenas uma fêmea em uma das plantas de mucuna-cinza quando se inoculou a raça 2. As alterações histológicas ocorridas em tecidos da raiz de mucuna indicaram a penetração intracelular pelos J2 do NCS, com danos mecânicos nas células do córtex devido ao rompimento de paredes. A formação de síncitos foi evidenciada, ocorrendo hipertrofia de células do córtex, da endoderme, do periciclo e do cilindro central. Citoplasma denso, vacúolos, núcleos hipertrofiados e aglomerados e paredes celulares rompidas foram observados nos síncitos. Células hipertrofiadas sem a formação de um síncito funcional e células desorganizadas e necrosadas próximas à região cefálica do nematóide indicaram reações de resistência da planta que impediram o seu desenvolvimento. Síncitos em degeneração associados a J4 que se desenvolveram em machos e regiões necrosadas sendo recuperadas pelo desenvolvimento de células do raio parenquimático foram também observados.

## ABSTRACT

SANCHES, Jorge de Brito, D.S., Universidade Federal de Viçosa, August 2001.  
**Histopathology of *Mucuna pruriens* (L.) DC roots infected by the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines*.** Adviser: Silamar Ferraz.  
Committee members: Eldo Antônio Monteiro da Silva and Leandro Grassi de Freitas.

*Heterodera glycines* is currently the cause to account for the most serious economic losses in Brazilian soybeans. SCN-resistant soybean cultivars are hardly available in this country, thus the accepted means to achieve nematode control has been rotation in which widely cultivated non-host crops, or those used as green manure or cover crops, are used. *Mucuna pruriens* is a good prospect against the SCN, thus assays were carried out with this leguminous plant, under greenhouse conditions, to provide data on plant penetration by the races 2, 3, 4, 5 and 14, how they develop inside roots of the *pruriens* and *utilis* varieties of *M. pruriens*, and on the anatomic root changes brought about by the race 3 of the nematode. Second stage juveniles (J2) penetrated the roots of both varieties, in which they developed into the third (J3) and fourth (J4) stages; nevertheless, the numbers of J3 and J4 individuals were much lower here than in 'Doko-RC' soybean roots, used as the susceptible control. The *M. pruriens* varieties were ranked as non-host plants since only three female specimens, of the race 4, and one, of the race 2, were found in all

examined roots. The anatomic changes found in root tissues indicate the intracellular penetration by J2 juveniles, because it shows a damaged cortex due to disruption of cell walls. Syncytial feeding sites were formed by hypertrophied cells in the cortex, endodermis, pericycle and the vascular cylinder. Dense cytoplasm, vacuolation, hypertrophied and clustered nuclei, in addition to disrupted cell walls, were also observed. The nematode failure to fully develop in the mucuna root tissues, the occurrence of hypertrophied root cells with no syncytium formation and disorganized and necrotic root cells near the nematode cephalic region are indications that mucuna root tissues are somewhat resistant to *H. glycines* race 3. Degenerated syncytia associated with the J4 bound to develop into males and necrotic regions being regenerated by parenchymatous ray cells were also found.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. A importância da cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma cultura de grande importância em nível mundial. Os Estados Unidos são o primeiro produtor, detendo 51,3% da produção, seguido por Brasil, com 20,2%; Argentina, com 10,4%; China, com 9,1%; Índia, com 3,2%; e 5,8% distribuídos por vários outros países (EMBRAPA, 2000).

A produção de soja no Brasil teve o seu maior aumento na década de 70, quando passou de 1,5 milhão de toneladas em 1970 para 12,5 milhões em 1977. A área plantada passou de 1,3 milhão para 7,1 milhões de hectares, e o rendimento, de 1,14 para 1,77 t/ha. Esse crescimento foi devido mais à incorporação da área do que ao aumento da produtividade (EMBRAPA, 1998, 1999). A área total de plantio da soja foi de 13.685.200 hectares, em 1999, e a produção, de 37.218.300 toneladas de grãos (EMBRAPA, 2000). A expansão da cultura continua, não somente na região Centro-Oeste, mas também nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Com essa expansão, vários problemas fitossanitários surgiram. Somente em relação a doenças, aproximadamente 40 delas, causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides, já foram identificadas no País.

## 1.2. O nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe

O nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, foi constatado no Brasil pela primeira vez na safra 1991/1992 (LIMA et al., 1992; LORDELLO et al., 1992; MONTEIRO e MORAIS, 1992) e se constitui num dos principais problemas fitossanitários da sojicultura brasileira.

O nematóide de cisto da soja é problema também em vários outros países. Segundo NOEL e LIU (1999), *Heterodera glycines* foi primeiramente observado na China por volta de 1880; para TENUTA et al. (1999), a primeira observação do nematóide foi no Japão, em 1915. Nos Estados Unidos, o nematóide foi encontrado em 1954 no Estado da Carolina do Norte, provavelmente introduzido por intermédio do Japão, através da importação de solo para isolamento da bactéria *Bradyrhizobium japonicum*, a qual não é nativa da América do Norte (NOEL e LIU, 1999). Desde então, o nematóide já foi constatado no Egito, Coréia, Taiwan, Indonésia, antiga União Soviética, Colômbia, Argentina e Canadá (TENUTA et al., 1999).

Embora nem sempre os sintomas na planta sejam visíveis, o nematóide de cisto é responsável pela doença conhecida como nanismo amarelo da soja. Esta doença causa alteração das funções das raízes; como consequência, a planta reduz sua habilidade em absorver e translocar água e nutrientes para a parte aérea (WRATHER et al., 1984). Com isso, seu potencial produtivo diminui, trazendo prejuízos econômicos.

O nematóide de cisto da soja, atualmente, já está presente em 81 municípios de sete Estados brasileiros (MG, MS, MT, GO, SP, PR e RS), infestando mais de 1,7 milhão de hectares e provocando perdas na produção que variam de leves a severas (DIAS et al., 2000). A disseminação do nematóide se dá principalmente pelo transporte de solo infestado. O trânsito de máquinas, equipamentos e veículos tem sido o principal agente de dispersão do nematóide de cisto no Brasil (SILVA et al., 1997; EMBRAPA, 1998; DIAS et al., 2000). O nematóide também é disseminado através de sementes mal beneficiadas que contenham partículas de solo, pelo vento durante as operações de preparo do solo (ANDRADE e ASMUS, 1997), pela água e também por pássaros. Cabe, assim, aos órgãos públicos envolvidos em pesquisa, extensão e quarentena divulgar, para os produtores, medidas que

devem ser adotadas para evitar a contaminação de áreas ainda livres do nematóide.

O nematóide de cisto da soja apresenta fecundação cruzada, o que proporciona grande variabilidade genética e a existência de raças (RIGGS e SCHMITT, 1988). No Brasil, mesmo tendo sido recente a sua constatação, o aparecimento de novas raças está acontecendo rapidamente. Segundo Dias et al. (2000), já foram identificadas as raças 1, 2, 3, 4, 4<sup>+</sup>, 5, 6, 9, 10, 14 e 14<sup>+</sup>, em Mato Grosso; 3, 4, 6, 9 10 e 14, em Mato Grosso do Sul; 3, 4, 6, 9 e 14, em Goiás; 6, no Rio Grande do Sul; e 3, em Minas Gerais, São Paulo e Paraná. As raças 4<sup>+</sup> e 14<sup>+</sup> apresentam a característica de superarem a resistência do cultivar 'Hartwig', considerado como resistente a todas as raças.

A caracterização de raças de *H. glycines* com a utilização de cultivares de soja diferenciadores ainda é, na prática, o método utilizado para se conhecer a população do nematóide no campo, apesar da variabilidade que pode ocorrer nos testes (RIGGS et al., 1988; CLOUD et al., 1988; DONG et al., 1997; WANG e RIGGS, 1999).

Conforme WANG et al. (1998), a densidade de infestação do solo afeta o resultado dos testes de caracterização de raças de *H. glycines*. Esses autores verificaram que uma infestação de 4.000 ovos e juvenis por vaso é melhor para a identificação da raça, pois outros valores proporcionavam resultados inconsistentes. O estabelecimento de determinadas condições para padronização dos testes, como temperatura, tipo de solo, tamanho do vaso, irrigação, número de repetições e uniformidade de origem das plantas diferenciadoras, pode contribuir para minimizar os erros (RIGGS e SCHMITT, 1991; DIAS et al., 1999).

YOUNG (1998) sugere três etapas que devem ser consideradas no manejo de *Heterodera glycines*. O primeiro passo é a amostragem periódica para se avaliar a infestação da área, trazendo assim informações sobre a densidade do inóculo e a diagnose de uma infestação na ausência de sintomas visuais nas plantas. O segundo passo é a identificação da raça, pois sabe-se que a população no campo pode mudar de raça. O terceiro passo, para o manejo do nematóide, é a seleção das medidas de controle. O plantio de cultivares de soja resistentes, combinado com a rotação de culturas utilizando plantas não-hospedeiras, é a prática de manejo mais utilizada. Essa

combinação de medidas, aliada à rotação de cultivares de soja resistentes e suscetíveis, e a utilização de cultivares com diferentes fontes de resistência aumentam a durabilidade dos genes de resistência.

No Brasil, a disponibilidade de variedades resistentes ainda é pequena. Em 1997 foi lançada a soja BRSMG Renascença, o primeiro cultivar brasileiro resistente ao nematóide de cisto. Em 1998, foram lançadas as cultivares BRSMG Liderança, BRSMT Pintado, M-SOY 8001 e M-SOY 8401; e, em 1999, as cultivares BRSMT Tucunaré, BRSMT Caxara, BRSMT Matrinchá e BRSMT Piraíba (EMBRAPA, 1999; ARANTES et al., 2000).

A rotação de culturas, no verão, com espécies não-hospedeiras é o método que vem possibilitando a produção de soja nas áreas infestadas do Brasil. No entanto, deve ser considerada a viabilidade econômica da cultura na região. Geralmente a rotação por um a dois anos já traz resultados razoáveis em relação à redução da população do nematóide no solo e à conseqüente recuperação da produtividade da soja. As espécies mais utilizadas para rotação com a soja têm sido o milho, o algodão e o arroz e, num prazo maior, a cana-de-açúcar e as pastagens (DIAS et al., 2000). O cultivo de plantas não-hospedeiras no inverno em sucessão à soja não garante, no entanto, a redução da população do nematóide. GARCIA et al. (1998b) compararam as espécies milho, milheto, trigo, aveia-preta, girassol, nabo-forrageiro e mucuna e verificaram que não houve variação entre elas e o pousio na redução da quantidade de cistos no solo.

### **1.3. Uso de *Mucuna* spp. no controle de *Heterodera glycines***

Plantas que são utilizadas para cobertura do solo e adubação verde, como as gramíneas e principalmente as leguminosas, trazem benefícios aos atributos químicos, físicos e biológicos do solo (KAGE, 1983; ALLEONI et al., 1995). Algumas dessas espécies vêm sendo utilizadas também no controle de nematóides fitoparasitos (MONTEIRO, 1993; FERRAZ e VALLE, 1997). Estes estudos foram conduzidos visando principalmente o controle do nematóide das galhas do gênero *Meloidogyne*.

A mucuna vem sendo estudada também no controle do nematóide de cisto da soja. WEAVER et al. (1993, 1998) concluíram que o plantio de *Mucuna pruriens*, antecedendo à soja, foi eficaz em reduzir a população do nematóide, quando comparada com o plantio contínuo de soja; conseqüentemente, houve redução das perdas causadas por populações mistas de *H. glycines* e *Meloidogyne* spp. GARCIA et al. (1998a) verificaram, nas localidades de Tarumã (SP) e Chapadão do Céu (GO), que um ano de cultivo de milho ou de mucuna foi suficiente para reduzir a população de cistos viáveis e garantir alto rendimento da soja, nos dois locais.

KLOEPPER et al. (1991, 1992) demonstraram que a rizosfera de plantas antagonistas a nematóides, incluindo a mucuna, possui uma microbiota diferente da da soja, e essa microbiota pode ser uma fonte útil de agentes potenciais de controle biológico de *H. glycines* e *Meloidogyne incognita*. BARCELOS et al. (1997) obtiveram extratos da parte aérea e de raízes de mucuna-preta e constataram que, entre os compostos encontrados, a substância

L-dopa apresentou atividade nematicida, proporcionando 100% de mortalidade dos juvenis de segundo estágio de *H. glycines* avaliados.

Segundo VALLE et al. (1997a), os lixiviados radiculares de mucuna-preta estimulam a eclosão dos juvenis de *H. glycines*, e, por permitir expressiva penetração dos juvenis, sem a formação de fêmeas, a mucuna atua como planta-armadilha para o nematóide. Dessa forma, esta leguminosa apresenta potencial para ser utilizada pelos sojicultores brasileiros em sistemas de rotação ou sucessão da soja, visando a redução populacional do nematóide no campo.

A mucuna é uma leguminosa da família Fabaceae que apresenta muitas espécies, algumas delas cultivadas principalmente nos trópicos. A taxonomia dessas espécies ainda não está totalmente esclarecida, podendo ser referidas por diferentes autores, com vários sinônimos. Neste trabalho, ela será tratada por *Mucuna pruriens* (L.) DC.

#### 1.4. Objetivos

Este trabalho foi desenvolvido com o propósito de avaliar:

- A capacidade de penetração e o desenvolvimento de populações de *Heterodera glycines* identificadas como raças 2, 3, 4, 5 e 14 em raízes de *Mucuna pruriens* das variedades *pruriens* e *utilis*.
- As alterações histopatológicas ocorridas em células radiculares de *Mucuna pruriens* provocadas por *Heterodera glycines* raça 3.

## **CAPÍTULO 1**

### **PENETRAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DO NEMATÓIDE DE CISTOS DA SOJA (*Heterodera glycines*) E HOSPEDABILIDADE DE VARIEDADES DE *Mucuna pruriens* AO NEMATÓIDE**

#### **1. INTRODUÇÃO**

Os nematóides endoparasitas são conhecidos por penetrarem em raízes de plantas que não são boas hospedeiras. RIGGS (1987), estudando a penetração de *Heterodera glycines* em várias espécies vegetais, dividiu-as em cinco grupos: 1 - plantas em que não houve a penetração de juvenis de segundo estágio (J2); 2 - plantas onde houve a penetração, mas não ocorreu o desenvolvimento de juvenis; 3 - plantas em que houve o desenvolvimento de juvenis de terceiro estágio (J3); 4 - plantas em que houve o desenvolvimento de juvenis de quarto estágio (J4), com o número de fêmeas adultas menor do que 10% do número encontrado na soja 'Lee'; e 5 - plantas em que houve o desenvolvimento de fêmeas maduras maior do que 10% do número encontrado na soja 'Lee'.

RIGGS (1992), em sua revisão sobre a gama de hospedeiros do nematóide de cisto da soja, elaborou duas tabelas, dividindo os hospedeiros

em eficientes e desfavoráveis (pobres), para reprodução do nematóide. Dentre as espécies consideradas boas hospedeiras, destacam-se algumas pela sua importância econômica, como *Phaseolus vulgaris*, *Pisum sativum* e *Vigna angularis*, e várias outras espécies de leguminosas, pertencentes aos gêneros *Astragalus*, *Indigofera*, *Lathyrus*, *Lespedeza*, *Lupinus*, *Medicago*, *Sesbania*, *Vicia* e *Vigna*.

No Brasil, alguns estudos de espécies hospedeiras ao nematóide de cisto da soja já foram realizados. VALLE et al. (1996), avaliando a reação de 12 leguminosas, uma solanácea e uma quenopodiácea inoculadas com uma população de *Heterodera glycines* raça 3, observaram a presença de fêmeas apenas nas raízes de soja 'FT-Cristalina', feijão-adzuki 'AL-9' (*Vigna angularis*), feijão-mungo-verde 'M-124' (*Vigna radiata*), *Crotalaria juncea* 'IAC-1' e guandu 'IAC-Fava Larga' (*Cajanus cajan*). Não houve penetração de juvenis em lablabe 'IAC-697' (*Lablab purpureus*), erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*) e tomateiro 'Santa Cruz'. Nas raízes de mucuna-anã, mucuna-preta e *Crotalaria striata* houve a penetração e a formação de alguns machos. Em *Crotalaria paulina* e *C. spectabilis* observou-se algum desenvolvimento de juvenis, mas sem a posterior formação de adultos. Em feijão-maravilha (*Canavalia gladiata*), apenas juvenis de segundo estágio foram encontrados nas raízes.

A reprodução de *H. glycines* não foi observada em plantas de ervilha (*Pisum sativum*) cv. XCP-88, caupi (*Vigna unguiculata*) cv. IT-835-899 e grão-de-bico (*Cicer arietinum*) cv. IAC INDIA-4 por SILVA et al. (1997). Entre algumas leguminosas avaliadas por VALLE et al. (1997b), a reprodução do nematóide ocorreu somente em galáxia (*Galactia striata*) e *Crotalaria ochroleuca*. Em todas as espécies testadas ocorreu a penetração de juvenis e a formação de alguns machos, à exceção de *Leucaena pulverulenta*, em cujas raízes não se encontrou qualquer estágio do nematóide.

DIOGO et al. (1999), avaliando a reação de 51 espécies vegetais a *H. glycines*, raça 3, verificou que em 62,7% delas os juvenis estavam ausentes das raízes. Em grão-de-bico (*Cicer arietinum*), ervilhaca-comum (*Vicia sativa*), ervilha-forrageira (*Pisum sativum* var. *arvense*), gergelim (*Sesamum indicum*) e ervilha-de-cheiro (*Lathyrus odoratus*), a penetração de juvenis foi superior à da soja 'FT-Cristalina'. Nas raízes de ervilhaca-comum, ervilha-forrageira e grão-

de-bico do grupo Kabuli foram detectadas fêmeas, porém a taxa de reprodução nessas espécies foi menor que 10% em relação à soja 'FT-Cristalina'. Todas as espécies estudadas foram consideradas não-hospedeiras de *H. glycines* raça 3, exceto o feijão-vagem 'AG 480' (*Phaseolus vulgaris*), que se comportou como hospedeiro eficiente.

Plantas daninhas hospedeiras de fitonematóides podem aumentar o nível de inóculo numa área de plantio, dificultando assim o controle. CARNIELLI (1995) verificou que a trapoeraba (*Commelina bengalensis*), uma invasora encontrada em áreas de plantio de soja, se comportou como hospedeira de *H. glycines*. DIAS et al. (1995), avaliando diversas ervas daninhas, observaram a penetração de juvenis em raízes de desmódio (*Desmodium tortuosum* (Sw.) DC.), feijão-bravo (*Cassia* sp.) e mentrasto (*Argeratum conyzoides* L.). Em nenhuma destas plantas, contudo, encontraram-se fêmeas e os juvenis não se desenvolveram além do segundo estágio. Resultado semelhante foi obtido por WERLANG e SANTOS (1999), avaliando 19 plantas daninhas em área de plantio de soja no cerrado.

A taxa de invasão dos juvenis de *H. glycines* em raízes de soja resistente e suscetível é equivalente, sendo o desenvolvimento do nematóide mais pronunciado nos cultivares suscetíveis (ENDO, 1965; ACEDO et al., 1984). O mesmo foi observado por BECKER (1997) em feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*), no qual a taxa de penetração dos juvenis foi semelhante no cultivar resistente 'L-2300' e no suscetível 'Ouro'. Todos os estágios de desenvolvimento do nematóide ocorreram nas raízes; contudo, houve diferença significativa quanto ao menor número de fêmeas que atingiram o estágio adulto e à menor porcentagem destas com ovos encontradas no cultivar 'L-2300', em relação ao cultivar 'Ouro'.

O nematóide de cisto da soja apresenta grande variabilidade genética. GOLDEN et al. (1970) propuseram a classificação de *H. glycines* em quatro raças, e RIGGS e SCHMITT (1988) ampliaram a caracterização de raças para até 16 possibilidades. Uma determinada espécie vegetal pode apresentar comportamento diferente diante de diferentes populações do nematóide. O mesmo pode acontecer com um cultivar ou variedade de uma mesma espécie vegetal diante de determinada população do nematóide.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de penetração e desenvolvimento de diferentes populações de *Heterodera glycines* caracterizadas anteriormente como raças 3, 4, 5 e 14 nas variedades *pruriens* e *utilis* de *Mucuna pruriens*, visando ampliar as informações para utilização desta espécie vegetal no controle do nematóide.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Origem do inóculo de *Heterodera glycines*

Os inóculos de *H. glycines*, inicialmente caracterizados como pertencentes às raças 4, 5 e 14, e o de outras duas populações a serem caracterizadas, foram cedidos pelo Centro Nacional de Pesquisa da Soja da Embrapa. Os inóculos das raças 4, 5 e 14 foram multiplicados em plantas de soja dos cultivares 'Centennial', 'Epps' e 'Sharkey', respectivamente; o das outras duas populações, em plantas de soja 'FT-Cristalina'. O inóculo da raça 3 mantido em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa foi o de uma população proveniente de Nova Ponte-MG, multiplicado em plantas de soja 'FT-Cristalina'.

No período de 30 a 35 dias pós-inoculação, as plantas de soja tiveram a parte aérea eliminada e o sistema radicular foi cuidadosamente removido dos vasos. As raízes foram lavadas com jato forte de água, em peneira de malha de 0,85 mm de abertura (20 mesh), acoplada a outra de 0,15 mm (100 mesh). A suspensão dessa última peneira, que se encontrava com matéria orgânica e areia, foi recolhida com água em tubos e centrifugada a 300 g, por cinco minutos. Após esse tempo, eliminou-se o sobrenadante e o decantado foi ressuspenso em solução densa de sacarose (615 g de açúcar cristal, completando-se para 1,0 litro de água), para ser novamente centrifugado por 2,5 min a 300 g (DUNN, 1969). O sobrenadante foi vertido em peneira de

0,15 mm de abertura e lavado em água corrente, sendo as fêmeas recolhidas em um esmagador de cistos, para liberação dos ovos. A suspensão de ovos foi vertida sobre uma peneira de 0,026 mm (500 mesh) e os ovos, recolhidos em béquer com água.

## **2.2. Penetração e desenvolvimento de *Heterodera glycines* em raízes de *Mucuna pruriens***

Este experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Sementes de soja cultivar 'Doko RC', utilizada como padrão de suscetibilidade neste experimento, mucuna-preta, mucuna-cinza, mucuna-anã e mucuna-rajada foram semeadas em bandejas contendo areia previamente tratada com brometo de metila. Quando as plântulas atingiram um tamanho de radícula de aproximadamente 5,0 cm, foram transplantadas para copos plásticos com capacidade para 400 mL, contendo areia previamente tratada com brometo de metila. Setenta e duas horas após o transplântio, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de juvenis do nematóide, obtida após a eclosão dos ovos em funil de Baermann. A suspensão de juvenis foi coletada num béquer e sua concentração corrigida ao microscópio estereoscópico, mediante uso da câmara de Peters, para 400 J2/mL. Para inoculação foram feitos dois orifícios opostos, a uma distância de 1,5 a 2,0 cm do colo da planta e a 2,0 cm de profundidade. Neste experimento foram utilizados inóculos de *H. glycines* caracterizados anteriormente como pertencentes às raças 3, 4, 5 e 14; quatro plantas de cada uma das descritas anteriormente receberam 1,0 mL da suspensão de juvenis. A inoculação com J2 do nematóide das raças 3, 4 e 14 foi realizada num mesmo dia. Como não havia inóculo suficiente da raça 5, a inoculação das plantas com esta raça só foi realizada 15 dias após a inoculação com as raças 3, 4 e 14.

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições.

Quinze dias após a inoculação, as plantas tiveram a parte aérea eliminada e o sistema radicular foi cuidadosamente removido da areia. As

raízes foram lavadas com jato forte de água, sobre peneira de 0,85 mm de abertura (20 mesh), acoplada a outra de 0,15 mm de abertura (100 mesh). O material retido nesta última peneira foi recolhido com água num béquer e colocado em placas de plástico, para observação ao microscópio estereoscópico quanto à presença de fêmeas do nematóide. Após a lavagem, as raízes foram cortadas em pedaços de aproximadamente 2,0 cm de comprimento e submetidas à técnica de coloração de BYRD et al. (1983). Todos os J2 e os J3 + J4, bem como fêmeas e machos do nematóide no interior das raízes, foram contados ao microscópio estereoscópico.

Os dados foram transformados em  $\sqrt{x}$  e submetidos à análise de variância. As médias foram comparadas utilizando-se o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Após a contagem dos nematóides, foram preparadas lâminas com pedaços de raízes, para obtenção de fotomicrografias dos nematóides, utilizando-se microscópio ótico Leica Leitz DM RBE e câmera Wild MPS 48/52 (Leica Cambridge Ltda.).

As médias de temperaturas máxima e mínima registradas na casa de vegetação durante o experimento com as raças 3, 4 e 14 foram de 30,4°C e 20,3°C, e, com a raça 5, foram de 34,8°C e 19,6°C, respectivamente.

### **2.3. Hospedabilidade de *Mucuna pruriens* à raça 3 e a duas outras populações de *Heterodera glycines***

Este experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

Sementes de mucuna-preta, mucuna-cinza, mucuna-anã e mucuna-rajada foram semeadas em bandejas contendo areia tratada com brometo de metila. Quando as plantas atingiram 6 a 8 cm de altura, foram transplantadas para vasos de cerâmica com capacidade de 1,2 kg, contendo mistura de solo e areia, na proporção 1:1, previamente tratada com brometo de metila. Com o objetivo de se proceder à caracterização de raças das duas populações de *H. glycines*, sementes de soja 'Pickett', 'Peking', 'PI 88788' e 'PI 90763', consideradas como diferenciadoras, e de soja 'Lee', utilizada como padrão de

suscetibilidade, foram semeadas em bandejas; as plantas foram também colocadas em vasos de cerâmica do mesmo tamanho e contendo a mesma mistura descrita. Como a raça 3 já havia sido anteriormente confirmada, utilizaram-se neste experimento plantas de soja 'FT-Cristalina' para se proceder à comparação com as plantas de mucuna. Dois dias após o transplântio, 10 plantas de cada espécie foram inoculadas. A suspensão de ovos de cada uma das populações de *H. glycines* foi padronizada ao microscópio estereoscópico, mediante uso da câmara de Peters, para 1.000 ovos/mL. A inoculação foi realizada como descrito no item 2.2; neste caso, cada planta recebeu 4 mL da suspensão de 1.000 ovos/mL, totalizando 4.000 ovos por planta.

Trinta dias após a inoculação, as plantas tiveram a parte aérea eliminada e o sistema radicular foi removido cuidadosamente dos vasos. As raízes foram lavadas com jato forte de água, em peneira de 0,85 mm de abertura (20 mesh), acoplada a outra de 0,15 mm (100 mesh). As fêmeas foram extraídas das raízes e contadas ao microscópio estereoscópico.

Para caracterização das raças das duas populações do nematóide, segundo o proposto por GOLDEN et al. (1970) e RIGGS e SCHMITT (1988), após a contagem das fêmeas em soja 'Lee' e nas diferenciadoras, foi calculado um Índice de Fêmeas (IF), por meio da fórmula :

$$IF = \frac{\text{número médio de fêmeas na diferenciadora}}{\text{número médio de fêmeas em 'Lee'}} \times 100$$

Para cada diferenciadora foi dado um sinal (+) ou (-) com base no índice de fêmeas. Um Índice  $\geq 10$  correspondia ao sinal (+), e um Índice  $< 10$ , ao sinal (-). A combinação destes sinais permite reconhecer, na tabela, a raça em questão.

As médias de temperaturas máxima e mínima registradas na casa de vegetação durante o experimento com a raça 3 foram de 35,3°C e 22,2°C e, com as duas outras populações de *H. glycines*, de 36,2°C e 19,0°C, respectivamente.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Penetração e desenvolvimento de *Heterodera glycines* em raízes de *Mucuna pruriens*

As médias dos números de J2, J3 + J4, fêmeas, machos e o número total de nematóides das raças 3, 4 e 14 encontrados no interior das raízes da soja 'Doko RC' e das mucunas encontram-se no Quadro 1. Os dados referentes à raça 5 encontram-se no Quadro 2.

Com relação ao experimento realizado com as raças 3, 4 e 14 de *Heterodera glycines*, observou-se a penetração de J2 das diferentes raças do nematóide em todas as mucunas. O número médio de J2 da raça 3 nas raízes de mucuna-anã foi estatisticamente superior ao encontrado nas raízes de soja 'Doko RC'. O número médio de J2 da raça 14 presentes nas raízes de mucuna-anã foi estatisticamente inferior ao número de J2 das raças 3 e 4 encontrado nesta planta.

Em todas as mucunas observou-se o desenvolvimento do nematóide além do segundo estágio, sendo o número médio de J3+J4 da raça 14 encontrado em mucuna-cinza maior do que o encontrado nas outras mucunas inoculadas com esta raça do nematóide. Entretanto, para as três raças testadas, o desenvolvimento de juvenis até J3 ou J4 nas raízes de soja 'Doko RC' foi estatisticamente superior ao encontrado nas raízes das mucunas (Quadro 1).

Quadro 1 - Número médio de J2, J3+J4, fêmeas, machos e número total de nematóides das raças 3, 4 e 14 de *Heterodera glycines* encontrados em raízes de plantas de soja 'Doko RC' e em mucunas preta, anã, rajada e cinza, 15 dias após a inoculação

	Planta	Raça 3	Raça 4	Raça 14
J2	Doko	42,00 Ab	52,25 Aab	55,25 Aa
	Mucuna-preta	78,00 ABab	95,00 Aab	48,50 Ba
	Mucuna-anã	121,50 Aa	95,75 Aa	49,75 Ba
	Mucuna-rajada	75,25 Aab	46,00 Ab	49,00 Aa
	Mucuna-cinza	77,25 Aab	49,50 Aab	67,25 Aa
J3 + J4	Doko	50,50 Aa	44,50 Aa	71,25 Aa
	Mucuna-preta	2,75 Abc	1,25 Ab	1,00 Ac
	Mucuna-anã	2,75 Abc	1,75 Ab	6,50 Ac
	Mucuna-rajada	1,25 Bc	12,75 Ab	3,25 ABc
	Mucuna-cinza	15,75 ABb	6,00 Bb	31,00 Ab
Fêmeas	Doko	17,00 A	13,25 A	5,75 A
	Mucuna-preta	0,00	0,00	0,00
	Mucuna-anã	0,00	0,00	0,00
	Mucuna-rajada	0,00	0,00	0,00
	Mucuna-cinza	0,00	0,00	0,00
Machos	Doko	1,00 A	0,75 A	1,25 A
	Mucuna-preta	0,00	0,00	0,00
	Mucuna-anã	0,00	0,00	0,00
	Mucuna-rajada	0,00	0,00	0,00
	Mucuna-cinza	0,00	0,00	0,00
Total	Doko	110,50 Aa	110,75 Aa	133,50 Aa
	Mucuna-preta	80,75 ABa	96,25 Aab	49,50 Bc
	Mucuna-anã	124,25 Aa	97,50 ABab	56,25 Bbc
	Mucuna-rajada	76,50 Aa	58,75 Ab	52,25 Abc
	Mucuna-cinza	93,00 ABa	55,50 Bb	98,25 Aab

Médias seguidas de pelo menos uma mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).

Quadro 2 - Número médio de J2, J3+J4, fêmeas, machos e número total de nematóides da raça 5 de *Heterodera glycines* encontrados em raízes de plantas de soja 'Doko RC' e em mucunas preta, anã, rajada e cinza, 15 dias após a inoculação

Plantas	J2	J3 + J4	Fêmeas	Machos	Total
Doko	33,25 b	122,00 a	30,75	4,75	190,75 a
Mucuna-preta	57,25 ab	33,75 b	0,00	1,25	92,25 bc
Mucuna-anã	69,00 ab	18,00 b	0,00	0,25	87,25 bc
Mucuna-rajada	75,25 a	38,00 b	0,00	0,25	113,50 b
Mucuna-cinza	33,50 b	23,00 b	0,00	0,00	56,50 c

Em cada coluna, médias seguidas de pelo menos uma mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P>0,05$ ).

Não se observou a presença de fêmeas e machos nas raízes das mucunas, e os números médios de fêmeas e machos das diferentes raças do nematóide presentes nas raízes de soja 'Doko RC' foram estatisticamente iguais (Quadro 1).

Considerando o número total de J2, J3+J4, fêmeas e machos das diferentes raças do nematóide, não se observaram diferenças estatísticas neste número em plantas de soja 'Doko RC'. No entanto, os números totais de nematóides das raças 4 e 14 encontrados nestas plantas foram estatisticamente superiores ao verificado nas raízes das mucunas. Em relação à raça 3, estes números foram estatisticamente iguais (Quadro 1).

No experimento realizado com a raça 5, observou-se a penetração dos J2 em todas as mucunas e o número de J2 em mucuna-rajada foi estatisticamente superior ao da soja 'Doko RC'. O nematóide se desenvolveu até J3 e J4 em todas as mucunas, porém o número de J3 + J4 encontrados nas raízes de soja Doko RC foi estatisticamente superior ao das mucunas. O número total de J2, J3 + J4, fêmeas e machos do nematóide encontrados em soja 'Doko RC' foi estatisticamente superior ao encontrado nas raízes das mucunas (Quadro 2). Não foi observada a presença de fêmeas nas raízes das mucunas, embora tenham sido encontrados alguns machos.

Nas quatro raças de *H. glycines* avaliadas, foram observados J2 e J3 no interior das raízes de mucuna associados a síncitos em processo de necrose (Figura 1-A, B, C). Em raízes de soja 'Doko RC' foram observadas fêmeas do nematóide (Figura 1-D).

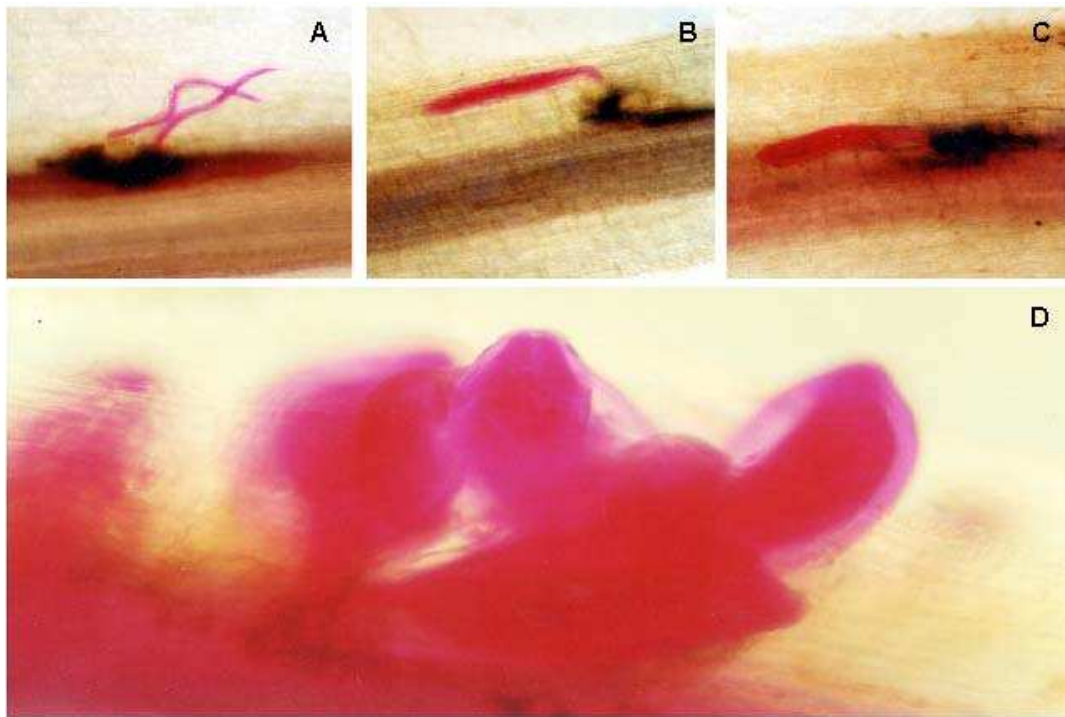


Figura 1 - A, B e C: juvenis de 2<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> estádios de *Heterodera glycines*, em raiz de mucuna, associados a síncitos em processo de necrose; D: fêmeas de *Heterodera glycines* em raiz de soja 'Doko RC'.

### 3.2. Hospedabilidade de *Mucuna pruriens* à raça 3 e a duas outras populações de *Heterodera glycines*

O número médio de fêmeas de *Heterodera glycines* da raça 3 recuperadas em soja 'FT Cristalina' foi de 270,5. Em raízes das mucunas não foram encontradas fêmeas do nematóide.

Uma das populações do nematóide foi caracterizada como raça 4. O IF foi maior do que 10 em todas as diferenciadoras. O Índice para 'Pickett' foi de 86,70; para 'Peking', de 21,87; para 'PI 88788', de 18,38; e para 'PI 90763', de 21,17. Dessa forma, todas receberam um sinal (+). Foi possível encontrar

apenas três fêmeas nas raízes das plantas de mucunas cinza, anã e rajada (uma fêmea em uma das plantas de cada mucuna).

A outra população foi caracterizada como raça 2. O IF para 'Pickett' foi de 107,12; para 'Peking', de 11,77; para 'PI 88788', de 13,28; e para 'PI 90763'; zero. Somente a diferenciadora PI 90763 recebeu um sinal (-). Apenas uma fêmea em uma das plantas de mucuna-cinza foi encontrada.

#### 4. DISCUSSÃO

Como o substrato utilizado nos testes de penetração foi a areia e, segundo GOURD et al. (1993), o máximo de penetração dos juvenis de *Heterodera glycines* ocorre nas primeiras 48 horas após a inoculação, as plantas foram irrigadas com 40 a 50 gotas de água (aproximadamente 5,0 mL), no sentido de se evitar a lixiviação dos juvenis. A eficiência do inóculo das quatro raças testadas está em conformidade com o verificado por GOURD et al. (1993), que, em testes de penetração da raça 1 de *H. glycines* em soja, obtiveram eficiência do inóculo de 24% e para a raça 5, de 44%. No presente trabalho, a eficiência do inóculo da raça 5 chegou a 47,68% em soja 'Doko RC'.

Na ocasião da montagem do ensaio, verificou-se que o inóculo da raça 5 não seria suficiente para inocular todas as plantas; portanto, o teste foi adiado em 15 dias, quando o exame visual das raízes de soja utilizada para a multiplicação do inóculo revelou bom desenvolvimento de fêmeas. O inóculo foi obtido e as plantas foram inoculadas com esta raça. Por essa razão, a análise dos dados para esta raça foi realizada separadamente.

VALLE et al. (1997a) observaram que o número de J2 de *H. glycines* raça 3 foi maior em raízes de mucuna-preta e guandu do que em raízes de soja 'FT-Cristalina'. Estas plantas estimulariam a eclosão e a penetração dos juvenis nas raízes. Resultados semelhantes foram obtidos por DIOGO et al. (1999), comparando diversas espécies vegetais com a soja 'FT Cristalina', e

por SCHMITT e RIGGS (1991), comparando *Vicia villosa* com cultivares de soja suscetíveis. Os dados do presente trabalho estão consistentes com essas observações, pois verificou-se que o número de J2 encontrados nas raízes das mucunas, 15 dias após a inoculação, foi superior ao encontrado em soja 'Doko RC'. É provável que os juvenis penetrem mais rapidamente em raízes de mucuna do que em soja 'Doko RC', e o período de entrada nas raízes poderia estar também associado com a população do nematóide.

O maior número de J2 encontrados nas raízes das mucunas e a superioridade marcante entre o número de J3 + J4 e a presença de fêmeas encontrados em soja 'Doko RC' evidenciam a baixa capacidade das mucunas em manter o desenvolvimento das populações de *H. glycines* testadas.

A penetração dos J2 de *H. glycines* 15 dias após a inoculação foi maior em raízes de soja 'Doko RC' do que nas raízes das mucunas, pois o número de nematóides nas raízes desta soja foi maior após esse período. Estes resultados diferem daqueles obtidos por VALLE et al. (1997a), que verificaram maior penetração dos juvenis em raízes de mucuna-preta do que em soja 'FT Cristalina'. É provável que a penetração dos J2 seja maior em raízes de soja 'FT Cristalina' do que em soja 'Doko RC'.

VALLE et al. (1996) não encontraram fêmeas em raízes de mucunas preta e anã, verificando apenas a presença de alguns poucos machos, quando testaram uma população de raça 3. No teste de hospedabilidade com a raça 3, nenhuma fêmea foi encontrada nas raízes das mucunas e raríssimas fêmeas se desenvolveram nestas plantas quando testadas as raças 2 e 4, levantando a possibilidade de que determinadas populações do nematóide se multipliquem em mucuna, embora as evidências levem a acreditar que essa multiplicação deve ser numa taxa drasticamente baixa.

ENDO e VEECH (1970) observaram que em síncitos formados no cultivar de soja resistente 'Pickett' ocorria redução na atividade de enzimas, principalmente aquelas da cadeia respiratória. Como os síncitos apresentam metabolismo intenso, a redução da atividade enzimática estaria relacionada com a necrose e a degeneração desses sítios de alimentação. Estudos sobre a atividade bioquímica do síncito formado em raízes de plantas antagônicas a *H. glycines* ainda não foram realizados, porém poderiam trazer informações

sobre possíveis mecanismos responsáveis pela inibição do desenvolvimento do nematóide.

Substâncias presentes nas raízes de plantas poderiam ser também responsáveis pela interrupção do ciclo do nematóide. Em raízes de mucuna, BARCELOS et al. (1997) identificaram a substância L-dopa, que apresentou atividade nematicida, causando 100% de mortalidade dos J2 de *H. glycines*, levantando assim a possibilidade de que esta substância esteja envolvida no antagonismo de mucuna ao nematóide de cistos da soja.

O desenvolvimento do síncito está íntimamente relacionado ao grau de desenvolvimento do nematóide. Síncitos degenerados associados a J2 mortos no interior de raízes de cultivares de soja resistentes 'Peking' e 'Pickett' foram observados por ENDO (1965) e ENDO e VEECH (1970). Reação semelhante foi observada nas raízes de mucuna, onde muitos J2 e J3 estavam associados a síncitos em processo de necrose, evidenciando assim a reação de resistência da planta. Estudos em nível de ultra-estrutura, bioquímico e molecular são necessários para elucidar a natureza da resistência desta planta antagonista ao nematóide de cistos da soja.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

A mucuna permite a penetração dos J2 de *Heterodera glycines*, sendo considerada como planta-armadilha, com potencial para ser utilizada no seu controle.

Visando ampliar as informações sobre o comportamento de diferentes variedades de *Mucuna pruriens* (variedades *utilis* e *pruriens*) diante de diferentes populações do nematóide de cisto da soja, plantas de mucunas preta, cinza, anã e rajada e de soja 'Doko RC' (testemunha) foram inoculadas com uma suspensão de juvenis de diferentes populações do nematóide, identificadas anteriormente como raças 3, 4, 5 e 14. Quinze dias após, as plantas foram avaliadas quanto à presença e ao estágio de desenvolvimento do nematóide.

Nas raízes das mucunas, houve penetração dos J2 de todas as populações testadas. O número de J2 nas raízes de mucuna foi significativamente maior do que em soja 'Doko RC', entretanto o número de J3 + J4 foi significativamente maior nesta soja. Não foram encontradas fêmeas nas raízes de mucuna, sendo verificada a rara presença de machos. Juvenis de segundo e terceiro estádios foram observados associados a síncitos em processo de necrose. Em um teste de hospedabilidade de plantas de mucuna às raças 2, 3 e 4 do nematóide, plantas de mucunas preta, cinza, anã e rajada foram inoculadas com uma suspensão de ovos do nematóide e avaliadas 30 dias após quanto à presença de fêmeas nas raízes. As mucunas se

comportaram como não-hospedeiras do nematóide, pois apenas três fêmeas se formaram nas raízes das plantas de mucunas cinza, anã e rajada (uma fêmea em uma das plantas) quando se inoculou a raça 4 e apenas uma fêmea em mucuna-cinza, quando se inoculou a raça 2.

As mucunas avaliadas apresentam baixíssima capacidade de desenvolver e multiplicar o nematóide de cistos da soja, muito embora esta característica possa estar relacionada à população do nematóide. Portanto, a recomendação desta planta como armadilha ao nematóide deve ser regionalizada, conhecendo-se a população do nematóide no campo.

## **CAPÍTULO 2**

### **ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS DA RAIZ DA MUCUNA (*Mucuna pruriens* (L.) DC. E DE SOJA PROVOCADAS POR *Heterodera glycines*, RAÇA 3**

#### **1. INTRODUÇÃO**

O grupo de fitonematóides endoparasitas sedentários induz na planta hospedeira a formação de sítios especializados de alimentação, denominados síncitos ou sincícios, resultantes da íntima interação entre hospedeiro e parasita.

Investigações em nível de histologia, citoquímica e ultra-estrutura desses sítios de alimentação e tecido radicular adjacente contribuem para elucidar as complexas interações entre nematóides e plantas hospedeiras. Os juvenis de segundo estágio do nematóide de cistos da soja (*Heterodera glycines*) penetram na raiz da planta após a eclosão dos ovos, migram intracelularmente através do córtex, inserem seu estilete nas células do córtex, da endoderme ou do periciclo e induzem à formação do síncito (ENDO, 1964). A indução de um síncito em raízes de soja é essencial para desenvolvimento e sobrevivência do nematóide (ENDO, 1992).

ENDO (1964, 1965) observou o desenvolvimento de *H. glycines* e as alterações anatômicas em raízes de variedades de soja suscetível ('Lee') e resistente ('Peking') ao nematóide. As respostas iniciais foram as mesmas, com hipertrofia, dissolução de parede celular e agrupamento de núcleos de células contíguas. No entanto, em raízes de soja resistente, muitos síncitos degeneraram dentro de cinco dias após a inoculação e estavam associados com a morte de juvenis de segundo estágio.

Ao penetrar nas raízes, os juvenis causam o rompimento de células do córtex tanto em variedades resistentes quanto nas suscetíveis. Os síncitos formados em raízes de soja resistente tendem a ser localizados no córtex e na periferia do cilindro central, sendo comum a observação de células necróticas e desorganizadas próximas à região cefálica do nematóide. Em variedades suscetíveis, com as alterações do tecido e o desenvolvimento do síncito mais internamente, ocorre uma disfunção extensiva do tecido vascular (ROSS, 1958; ENDO, 1965; ACEDO et al., 1984).

Na variedade 'Forrest', considerada resistente, KIM et al. (1987) observaram, cinco dias após a inoculação do nematóide, freqüentes necroses ao redor do síncito ou das células modificadas. As necroses se iniciaram próximas à região cefálica do nematóide, se estendendo e circundando o síncito. Na variedade Bedford, também resistente, não houve a formação desta camada necrótica ao redor do síncito e, entre 10 e 15 dias após a inoculação, verificou-se degradação citoplasmática no síncito.

Segundo KIM et al. (1986), a localização dos síncitos parece estar relacionada ao grau de danos ou à tolerância da planta hospedeira. Assim, plantas do cultivar de soja suscetível 'Lee' e a espécie *Cleome spinosa* L. formaram os síncitos na região do cilindro central, enquanto na espécie *Lespedeza striata* L., considerada mais tolerante ao nematóide, eles foram formados na região cortical. BECKER et al. (1999), realizando estudos comparativos entre cultivares de feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*), observaram que no cultivar resistente 'L-2300' a maior porção do síncito estava geralmente localizada na periferia da região central dos feixes vasculares, atingindo apenas uma pequena porção do protoxilema. No cultivar suscetível 'Ouro', os síncitos ocuparam todo o espaço do floema no cilindro vascular, provocando pressão mecânica e uma provável obstrução dos vasos

do protoxilema. A formação dos síncitos no cilindro central parece deslocar elementos de vaso, inibindo o transporte de metabólitos.

Os trabalhos de ENDO e VEECH (1970) e de KIM et al. (1987) relatam que o tamanho dos síncitos está relacionado com a resistência de variedades de soja ao nematóide. Em variedades resistentes, os síncitos são em menor número e tamanho, quando comparados com os síncitos de variedade suscetível. KIM et al. (1986), comparando soja e duas outras espécies hospedeiras do nematóide, verificaram que o tamanho das células do síncito variou dentro de cada planta e, assim, não foi possível uma comparação precisa. Em feijoeiro-comum, no décimo quinto dia após a inoculação do nematóide, os síncitos no cultivar suscetível 'Ouro' apresentaram-se com maior volume do que no cultivar resistente 'L-2300' (BECKER et al., 1999).

Plantas são consideradas resistentes a nematóides quando estes apresentam baixo nível de reprodução (ROHDE, 1972; TRUDGILL, 1991). Em raízes de soja, a degeneração dos síncitos, impedindo a continuidade do ciclo de vida do nematóide, além de altas proporções de machos em relação a fêmeas e formação de fêmeas inférteis, são características de resistência a *H. glycines*. Os machos, por se alimentarem por poucos dias, são menos exigentes em termos nutricionais, enquanto as fêmeas necessitam de um síncito funcional até completar a sua fase reprodutiva (ROSS, 1958; ENDO, 1965; ACEDO et al., 1984; LEWIS, 1987; KAPLAN e DAVIS, 1987).

As respostas de resistência de plantas de soja a nematóides formadores de galhas do gênero *Meloidogyne* são bem semelhantes àquelas observadas para o nematóide de cisto da soja. No entanto, para os primeiros, respostas típicas de hipersensibilidade são também verificadas (DROPKIN e NELSON, 1960; ROHDE, 1972; KAPLAN et al., 1979; PEDROSA et al., 1996). No Brasil, MENDES et al. (1977, 1978) e SILVA et al. (1990) realizaram estudos de histopatologia de raízes parasitadas por nematóides do gênero *Meloidogyne*.

VEECH (1981), revisando os mecanismos de resistência a nematóides, reiterou a importância de plantas não-hospedeiras como modelos de estudo de resistência. Assim, BECKER et al. (1999) estudaram as alterações histopatológicas em raízes de feijoeiro-comum suscetível e resistente a *H. glycines* raça 3, e DIOGO (1999), as alterações em raízes de grão-de-bico

cv. ICCV-3, que permite apenas a penetração (DIOGO et al., 1999), sendo classificada como não-hospedeira do nematóide.

A mucuna tem se comportado como planta-armadilha para *H. glycines*, uma vez que permite a penetração, mas não a multiplicação, do nematóide e, dessa forma, poderia ser utilizada em áreas infestadas, reduzindo o tempo de rotação (VALLE et al., 1997a).

Assim, o presente trabalho objetivou verificar os mecanismos de resistência da mucuna e de suscetibilidade da soja, obtendo-se cortes histológicos e observando-se as alterações anatômicas ocorridas em células do tecido radicular de *Mucuna pruriens* variedade *utilis* (mucuna-preta) e var. *pruriens* (mucuna-anã) e da soja 'FT Cristalina' após a penetração e o estímulo por juvenis de *H. glycines*.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia e no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa.

Na condução do experimento em casa de vegetação, utilizaram-se plantas de *Mucuna pruriens* variedade *utilis* (mucuna-preta) e variedade *pruriens* (mucuna-anã) e da soja 'FT Cristalina' infectadas pelo nematóide *Heterodera glycines*.

As plantas de mucunas preta e anã e da soja testemunha 'FT Cristalina' foram inoculadas com J2 de *H. glycines*, raça 3. Para obtenção dos J2, o nematóide foi multiplicado em plantas de soja 'FT-Cristalina', em casa de vegetação, por um período de 30 dias. Após esse período, as plantas foram cuidadosamente retiradas dos vasos e, logo após, as raízes foram lavadas sob jato forte de água, sobre um conjunto de duas peneiras, uma de 0,85 mm de abertura (20 mesh) sobre outra de 0,15 mm (100 mesh), para extração das fêmeas do nematóide. As fêmeas recolhidas na peneira de 0,15 mm foram esmagadas, para obtenção dos ovos, em um triturador elaborado com dois tubos de ensaio de diâmetros um pouco diferentes, um dentro do outro. A suspensão resultante foi passada na peneira de 0,026 mm (500 mesh), para retenção dos ovos. Estes foram recolhidos num béquer com água, e a suspensão foi colocada em funis de Baermann, para obtenção dos J2. Os J2 eclodidos foram coletados em béquer, e a contagem dos juvenis foi feita sob

microscópio estereoscópico, utilizando-se câmara de Peters, calibrando a suspensão para 1.000 J2/mL.

As mucunas e a soja foram semeadas em bandejas contendo areia previamente tratada com brometo de metila. As plântulas foram transplantadas com tamanho de raiz entre 3 e 4 cm para copos de plástico descartáveis (300 mL), contendo areia tratada com brometo de metila. A seguir, uma fenda foi aberta em cada copo, expondo a raiz, que foi inoculada em seu terço médio com uma alíquota de 0,25 mL da suspensão de J2 (250 juvenis). A irrigação dessas plantas foi bastante cuidadosa, utilizando-se uma pisseta para gotejar a água para que os juvenis não fossem perdidos pela lixiviação. No período de 72h após a inoculação, as plantas foram cuidadosamente retiradas dos copos e, a seguir, transplantadas para vasos de cerâmica com capacidade de 1,2 kg, contendo solo e areia (2:1) tratados com brometo de metila. Antes do transplante, as raízes foram previamente lavadas, para eliminar possíveis J2 que não penetraram; dessa forma, a idade dos juvenis no interior das plantas seria uniforme.

As avaliações ocorreram aos 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias após a inoculação das plantas. Assim, no quinto dia, iniciou-se a retirada das plantas dos vasos, para que as raízes pudessem ser fixadas quimicamente, procedendo-se da mesma maneira a cada cinco dias, até o trigésimo dia, usando-se três plantas como repetições, em cada avaliação.

As raízes laterais foram eliminadas, e a porção da raiz principal que recebeu o inóculo foi cortada em pedaços de 0,5 cm. Esses pedaços de raiz foram acondicionados em vidros de penicilina contendo a solução fixadora CRAF III (Quadro 1), com um volume suficiente para cobrir o material. As raízes em solução fixadora foram mantidas em ambiente a vácuo, por 24h, quando então foram submetidas ao processo de desidratação pela série etílica/butílica progressiva, descrita no Quadro 2.

Na última transferência para álcool butílico terciário (TBA) puro, usou-se igual volume de parafina fundida, mantendo-a à temperatura ambiente. Após 12h, o material foi mantido por uma hora na estufa a 55°C, tempo contado após totalmente fundida a parafina. Foram realizadas duas outras trocas de parafina pura, deixando-se o material, a cada troca, por mais uma hora na

Quadro 1 - Composição da solução fixadora Craff III

Produtos <sup>1</sup>	Volume (mL)
Solução A	
Ácido crômico 1%	30
Ácido acético	20
Solução B	
Formol	10
Água	40

<sup>1</sup>As soluções A e B foram misturadas na mesma proporção, no momento da fixação dos fragmentos das raízes.

Quadro 2 - Protocolo para desidratação das raízes, utilizando a série etílica progressiva (JOHANSEN, 1940)

% Álcool	Tempo	Volume (mL) /Solução		
		Água destilada	Etanol 100%	TBA <sup>1</sup> 100%
50	1h	50	50	0
60	1h	40	60	0
70	1h	30	70	0
80	1h	20	80	0
90	1h	10	90	0
100	1h	0	100	0
100	1h	0	100	0
3:1	1h	0	75	25
1:1	1h	0	50	50
1:3	1h	0	25	75
100	1h	0	0	100
100	12h	0	0	100

<sup>1</sup> TBA – Álcool butílico – terciário.

estufa. Dessa forma, assegurou-se a retirada total do TBA. A seguir, numa central de inclusão, o material foi emblocado em pequenas formas, na mistura de parafina (92%) + cera (8%), deixando-se esfriar em gelo até a completa solidificação do bloco. Os blocos solidificados foram desenformados, identificados e guardados em geladeira até sua utilização.

As amostras de raízes incluídas em blocos de parafina foram afixadas em cubos de madeira, que serviram como suporte, e, então, foram seccionadas, transversal e longitudinalmente, com a utilização de um micrótopo rotatório manual (American Optical), na espessura de 10 a 20  $\mu\text{m}$ . As fitas de parafina contendo os cortes foram depositadas sobre lâminas untadas com adesivo de Haupt (JOHANSEN, 1940) e água. As lâminas foram colocadas rapidamente em placa aquecedora, para distensão da parafina. Decorridas 24 horas, as lâminas foram colocadas em cubetas porta-lâminas e submetidas à desparafinização e coloração, conforme a seqüência descrita no Quadro 3 (HAGQUIST, 1974). Após a coloração, as lâminas foram preparadas utilizando-se 'permount' para selar as lamínulas, ficando prontas para a observação dos cortes de raízes ao microscópio óptico.

Os cortes foram fotomicrografados em microscópio fotônico Olympus 'AX'-70, equipado com sistema fotográfico U-PHOTO, com filme Fujicolor Super HGV 100 ASA.

Quadro 3 - Protocolo para desparafinização e coloração quádrupla-triarca de HAGQUIST, empregada na coloração dos cortes histológicos das raízes

Passo	Solução	Tempo
1	Xilol	5 min
2	Xilol	5 min
3	Xilol-Etanol absoluto (1:1)	5 min
4	Etanol 95%	5 min
5	Etanol 70%	5 min
6	Safranina O 1% em Etanol 50%	15 min
7	Enxaguar com água destilada	Não-determinado
8	Sol. Cristal violeta 1%	2 min
9	Enxaguar em água destilada	Não-determinado
10	Etanol absoluto	30 s
11	Etanol absoluto	30 s
12	Orange G <sup>1</sup> (135 mL) + Fast green <sup>2</sup> (15 mL)	3 min
13	Orange G (145 mL) + Fast green (5 mL)	2 min
14	Orange G (148 mL) + Fast green (2 mL)	2 min
15	Orange G	2 min
16	Etanol absoluto	1 min
17	Xilol	5 min
18	Xilol	≥ 5 min

Fonte: HAGQUIST, 1974.

<sup>1</sup> Orange G é preparado dissolvendo-se 0,4 g de Orange G em 100 mL de óleo de cravo.

<sup>2</sup> Fast Green é preparado por dissolução de 1 g de Fast green FCF em 100 mL de etanol absoluto.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Histopatologia das raízes de mucuna

O juvenil infectivo de segundo estágio (J2) de *Heterodera glycines* penetrou nas raízes de mucuna, atravessando o córtex e indo em direção ao cilindro central. Para atingi-lo, aos cinco dias, o nematóide rompeu a epiderme e, em razão de sua passagem intracelular, causou danos mecânicos às células do córtex. No entanto, não foram encontradas células necróticas corticais. Células do córtex e da endoderme, próximas à região cefálica do nematóide, são visualizadas com paredes espessadas (Figuras 1, 2 e 3). Também aos cinco dias (Figura 3), as células do córtex e da endoderme reagem ao estímulo do nematóide, apresentando-se hipertrofiadas; algumas apresentam citoplasma denso, vacúolos e núcleos hipertrofiados, não se observando paredes celulares rompidas. Partes de paredes das células, diretamente em contato com a região cefálica do nematóide, mostram-se espessadas e mais fortemente coradas pela safranina. A expansão destas células causa uma pressão sobre células do cilindro vascular.

Em cortes histológicos aos 10 dias após a inoculação, o juvenil se posicionou no córtex, e as células em contato com o juvenil apresentavam paredes mais espessas. Um grupo de células da endoderme e do periciclo e outras mais internas foram estimuladas, pois se encontravam hipertrofiadas;

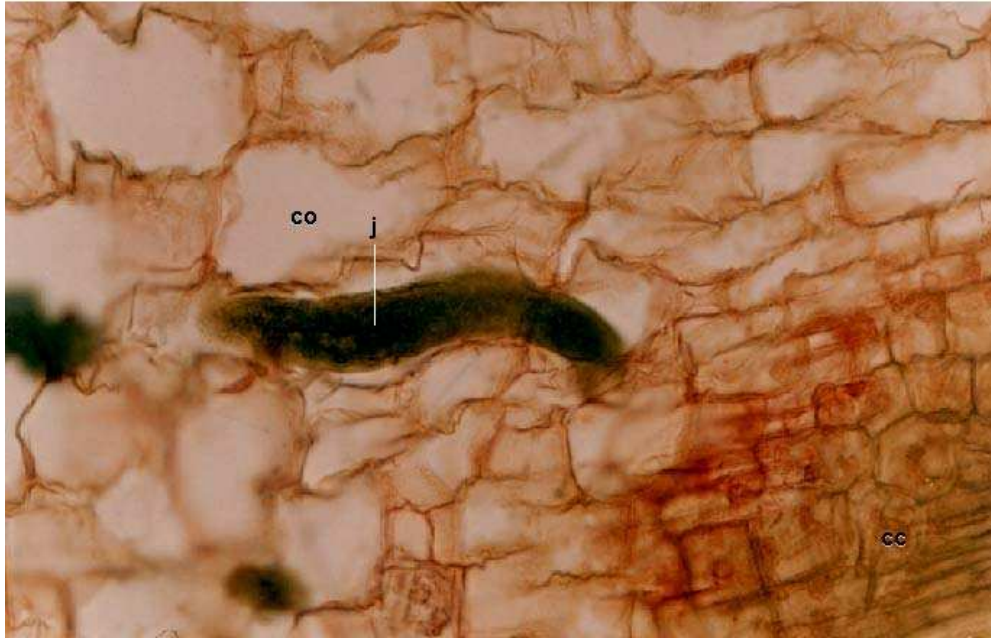


Figura 1 - Penetração intracelular pelo juvenil infectivo de *Heterodera glycines* (j), causando danos mecânicos às células do córtex (co), aos cinco dias após a inoculação em corte transversal de raiz de mucuna. Cilindro central (cc). (500 x).

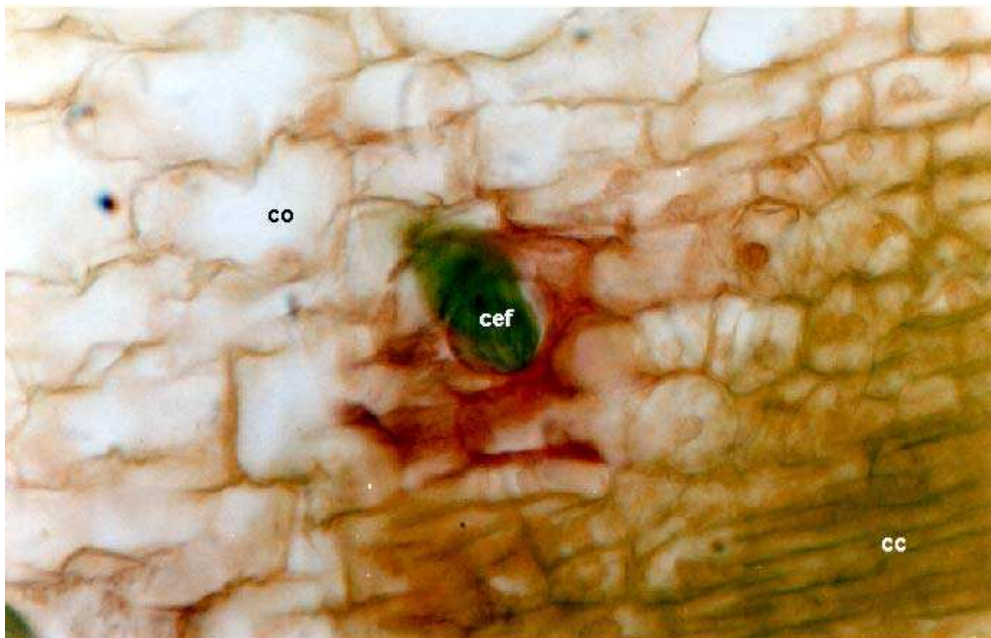


Figura 2 - O juvenil infectivo de *Heterodera glycines* se posiciona no córtex radicular (co) e se direciona ao cilindro central (cc). Células próximas à região cefálica do nematóide (cef) apresentam-se com paredes espessadas coradas pela safranina. Corte transversal de raiz de mucuna aos cinco dias após a inoculação. (740 x).

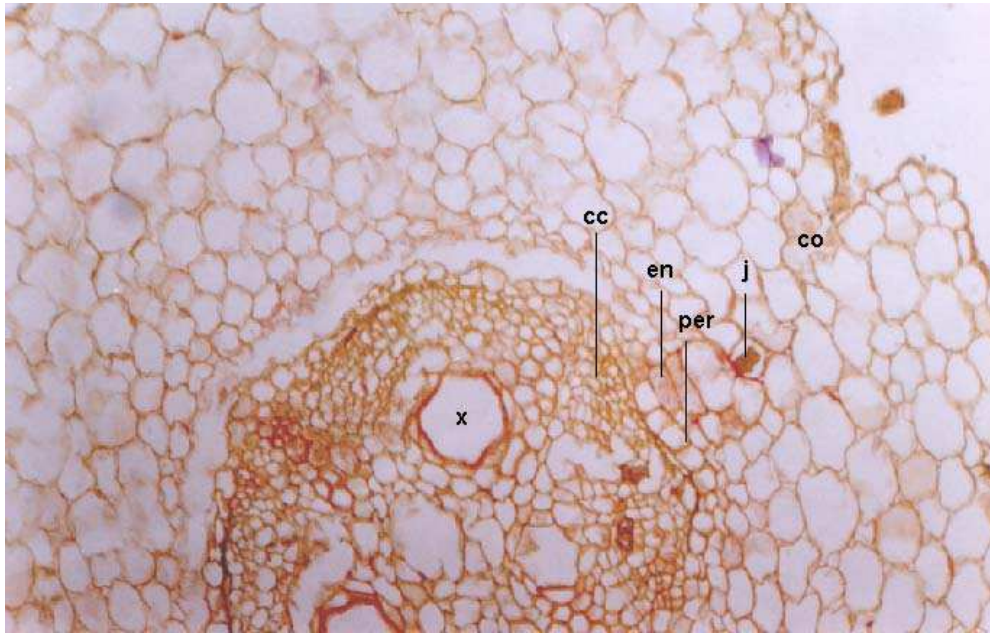


Figura 3 - Em corte transversal de raiz de mucuna, aos cinco dias após a inoculação, observam-se danos mecânicos nas células do córtex (co) devido à passagem do juvenil de *Heterodera glycines* (j). Células corticais em contato com o juvenil apresentam hipertrofia. Células da endoderme (en) e do periciclo (per) apresentam discreta hipertrofia e pressionam células do cilindro central (cc). Xilema (x). (238 x).

estas apresentavam o citoplasma denso e mostravam sinais de ruptura de paredes (Figura 4). Em um outro corte, também aos 10 dias (Figura 5), um síncito é observado. Este síncito, no cilindro central, engloba células do floema e outras vizinhas ao protoxilema. São observadas células hipertrofiadas, com núcleos hipertrofiados e aglomerados; algumas destas células apresentam paredes rompidas, citoplasma denso e vacúolos. Não é possível diferenciar células da endoderme e do periciclo envolvidas. Células do córtex em contato com o nematóide e aquelas mais externas do síncito apresentam paredes bastante espessas e fortemente impregnadas pela safranina.

Aos 15 dias, reações de resistência das raízes de mucuna à infecção pelo nematóide foram observadas (Figuras 6, 7 e 8). O juvenil instalou-se no córtex mais distante do cilindro central, causando hipertrofia de células do córtex e da endoderme, que apresentavam citoplasma pouco denso, não

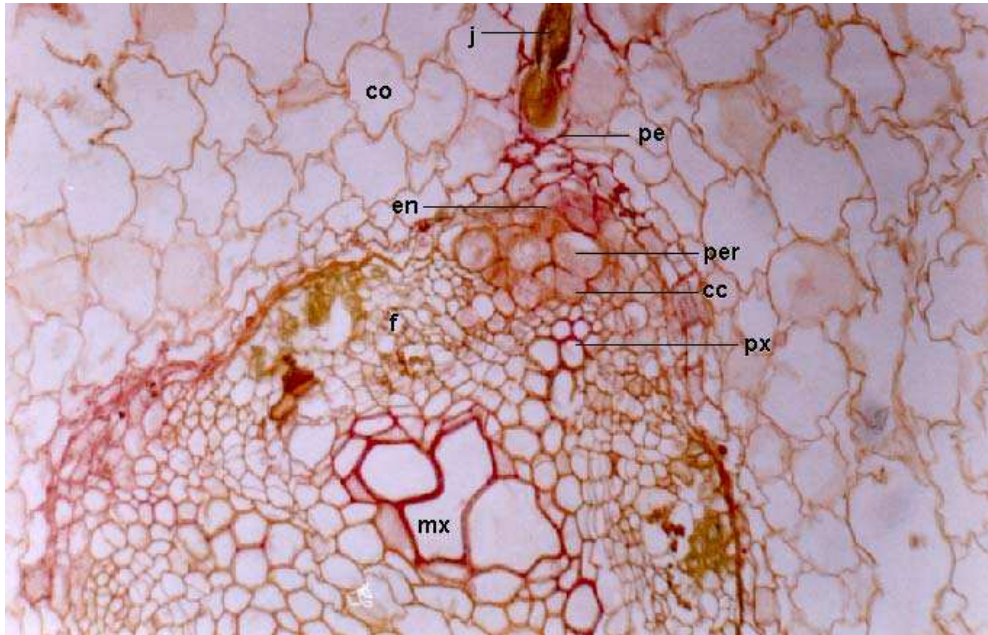


Figura 4 - Corte transversal de raiz de mucuna, aos 10 dias após a inoculação, onde o juvenil de *Heterodera glycines* (j) se posicionou no córtex (co). Células corticais em contato com o nematóide apresentam-se com paredes espessadas (pe). Células da endoderme (en), do periciclo (per) e do cilindro central (cc), próximas ao protoxilema (px), apresentam hipertrofia e citoplasma adensado; metaxilema (mx) e floema (f). (310 x).

mostrando sinais de um sincito em franco desenvolvimento (Figura 6). Em outro corte histológico (Figura 7), células do córtex e da endoderme próximas ao nematóide apresentavam-se desorganizadas, com paredes espessadas, fortemente impregnadas pela safranina. Num outro exemplo, células próximas ao nematóide apresentavam-se completamente desorganizadas e necrosadas (Figura 8). É possível que, neste caso, um sincito tenha sido formado, mas se degenerou, por não ser capaz de nutrir o nematóide até atingir sua fase adulta. Nestas raízes de mucuna, verificavam-se sinais de início de crescimento secundário, onde o córtex se apresentava bastante rompido e o cilindro central mais circular.

Em corte longitudinal de raiz de mucuna ainda aos 15 dias após a inoculação, um juvenil de terceiro estágio do nematóide é observado na região cortical associado a um sincito localizado próximo ao cilindro central. O juvenil

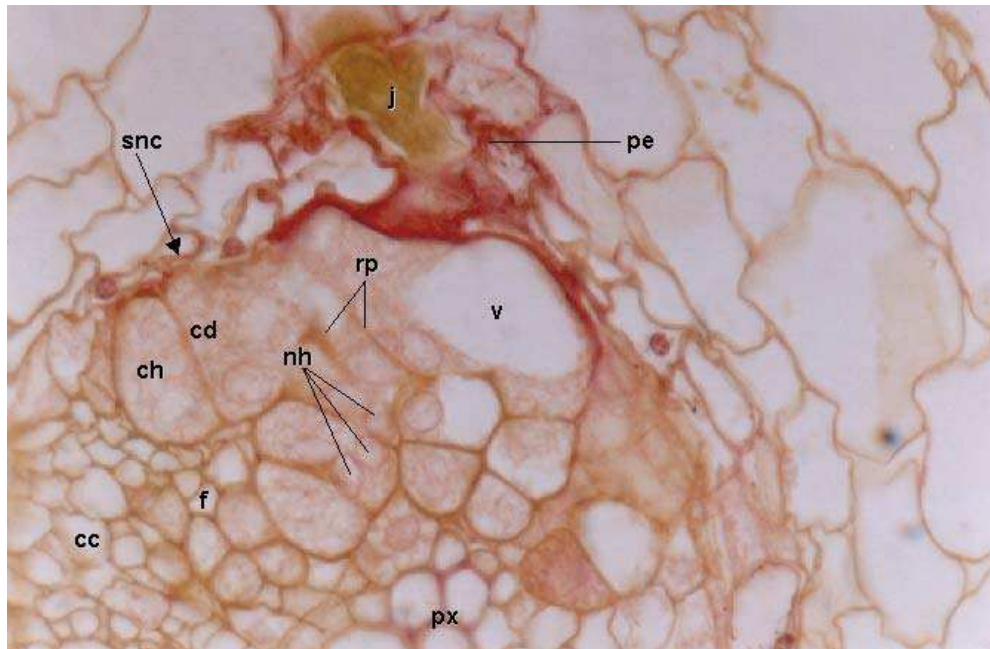


Figura 5 - Corte transversal de raiz de mucuna, aos 10 dias após a inoculação, onde o juvenil de *Heterodera glycines* (j) induz a formação de um síncito (snc). Células corticais em contato com o nematóide apresentam paredes fortemente espessadas coradas pela safranina (pe). No síncito são observadas células hipertrofiadas (ch) com citoplasma denso (cd), vacúolos (v), núcleos hipertrofiados e aglomerados (nh) e rompimento de paredes celulares (rp). O síncito no cilindro central (cc) engloba células do floema (f); protoxilema (px). (593 x).

estava localizado abaixo da epiderme, numa espécie de câmara, e as células ao seu redor mostraram-se com paredes necrosadas (Figura 9).

Os juvenis de *H. glycines* penetraram também pelos pontos de ramificação de raízes e se dirigiram à região do cilindro central, causando rompimento de células corticais. Em corte histológico 20 dias após a inoculação, o nematóide causou discreta hipertrofia em células do córtex, da endoderme, do periciclo e em outras mais internas, as quais se apresentaram com citoplasmas pouco densos e sem a ocorrência de ruptura de paredes celulares. Este síncito não mostra sinais de que se desenvolverá plenamente para garantir a sobrevivência do nematóide (Figura 10). Também aos 20 dias, em outra seção histológica (Figura 11), o desenvolvimento de células do raio parenquimático, funcionando como um processo de cicatrização, foi

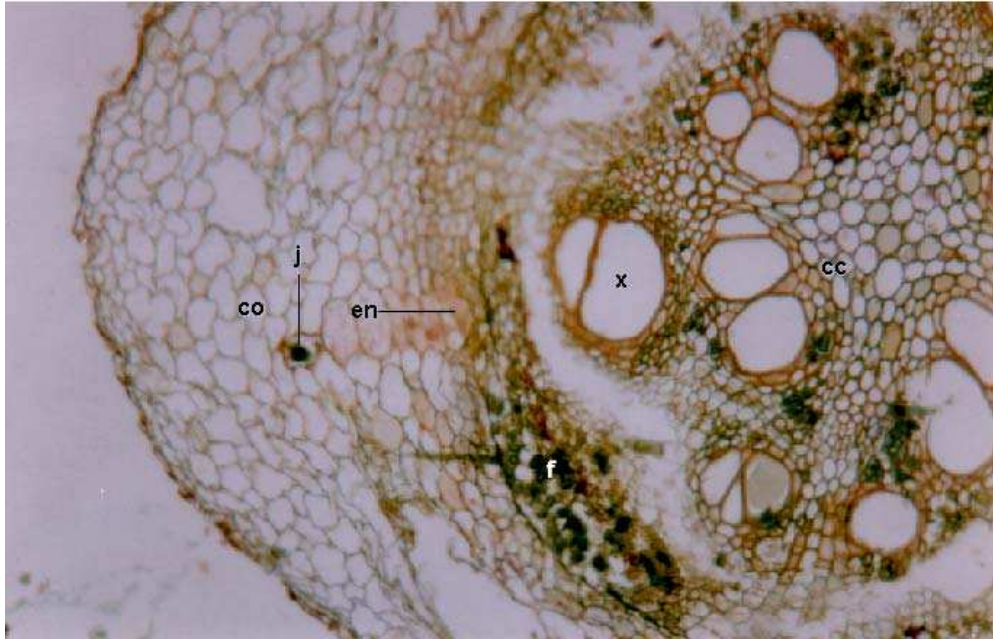


Figura 6 - Corte transversal de raiz de mucuna, 15 dias após a inoculação, onde o juvenil de *Heterodera glycines* (j) se posicionou no córtex (co), causando hipertrofia de células do córtex e da endoderme (en); cilindro central (cc), xilema (x) e floema (f). (195 x).

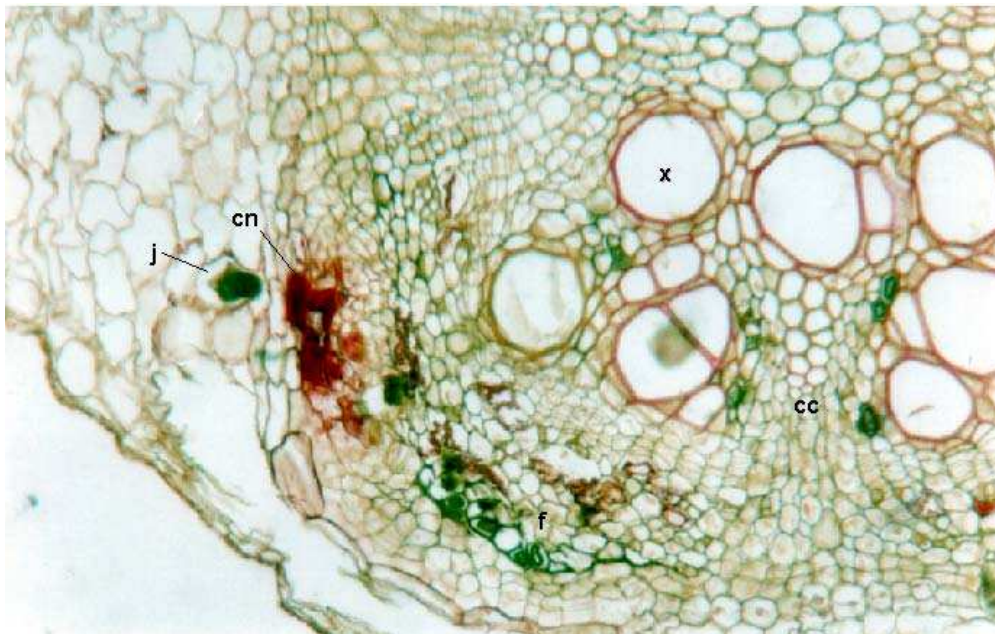


Figura 7 - Células desorganizadas e necrosadas coradas pela safranina (cn) que reagiram à infecção pelo juvenil de *Heterodera glycines* (j). Em corte transversal, raiz de mucuna, 15 dias após a inoculação; cilindro central (cc); elemento do xilema (x); região do floema (f). (310 x).

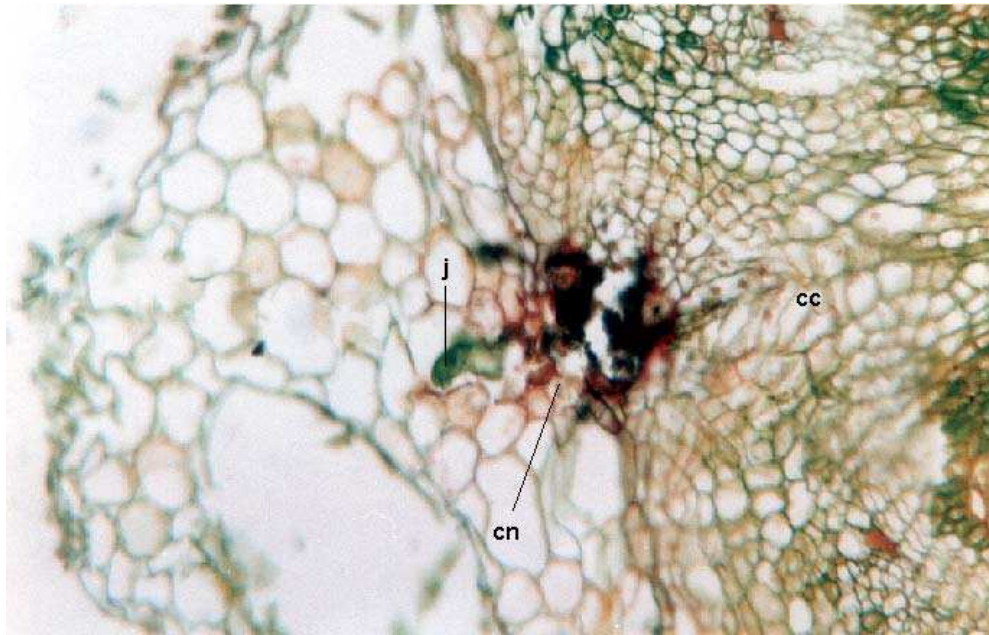


Figura 8 - Células desorganizadas e necrosadas (cn) próximas ao juvenil de *Heterodera glycines* (j); cilindro central (cc). Em corte transversal, raiz de mucuna, aos 15 dias após a inoculação. (310 x).

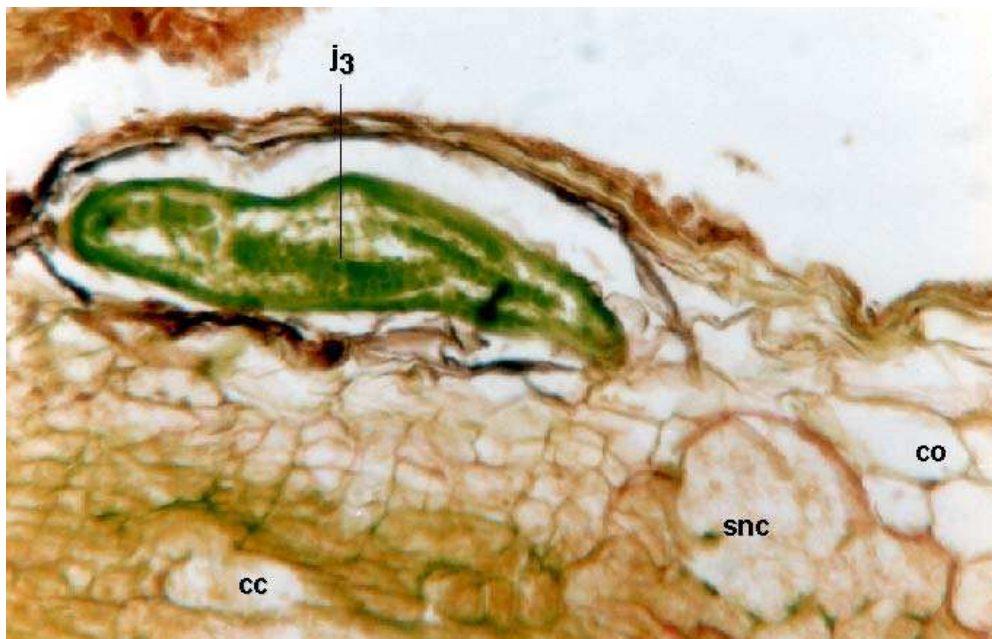


Figura 9 - Corte longitudinal de raiz de mucuna, aos 15 dias após a inoculação, mostrando juvenil de terceiro estágio (J3) de *Heterodera glycines* associado a um síncito (snc) localizado no córtex (co); cilindro central (cc). (500 x).

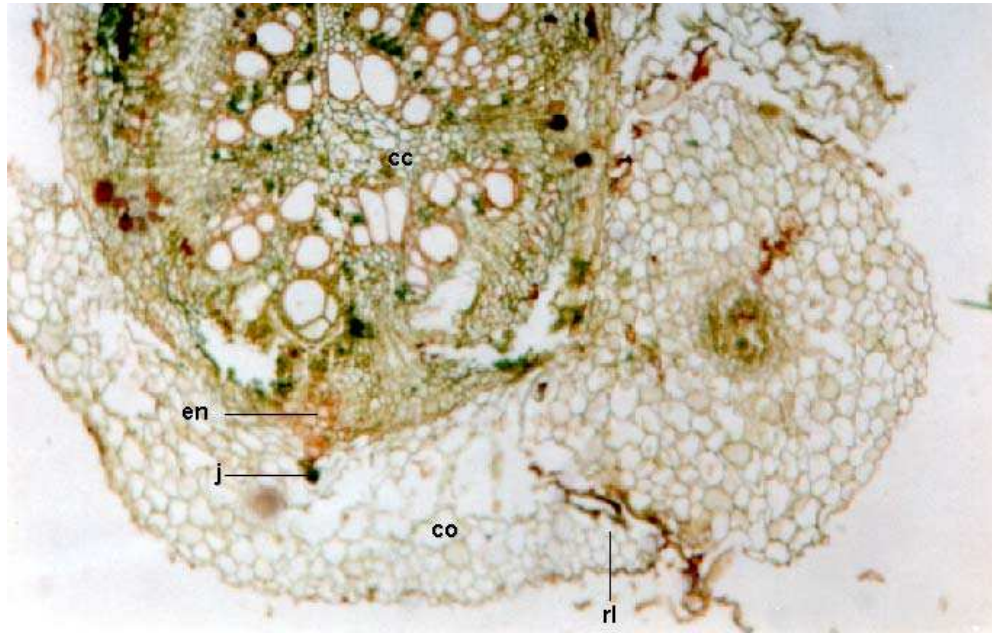


Figura 10 - Corte transversal, aos 20 dias após a inoculação, mostrando ramificação da raiz de mucuna e a penetração do juvenil de *Heterodera glycines* (j) no espaço entre a raiz principal e a raiz lateral (rl). No seu percurso, o nematóide danificou células do córtex (co). Células do córtex em contato com o nematóide e células da endoderme (en) apresentam hipertrofia; cilindro central (cc). (125 x).

observado ao redor de um grupo de células necrosadas próximas ao nematóide, mas, aparentemente, não resultou num síncito funcional. No entanto, juvenis de quarto estágio que se desenvolveram em machos associados a síncitos em degeneração foram observados em cortes longitudinais aos 20 dias (Figura 12).

Aos 25 e 30 dias após a inoculação dos juvenis não foram observadas reações histológicas diversas das descritas anteriormente. Síncitos associados a fêmeas do nematóide não foram visualizados nos cortes. As alterações histológicas em raízes de mucunas preta e anã parecem não diferir entre si.

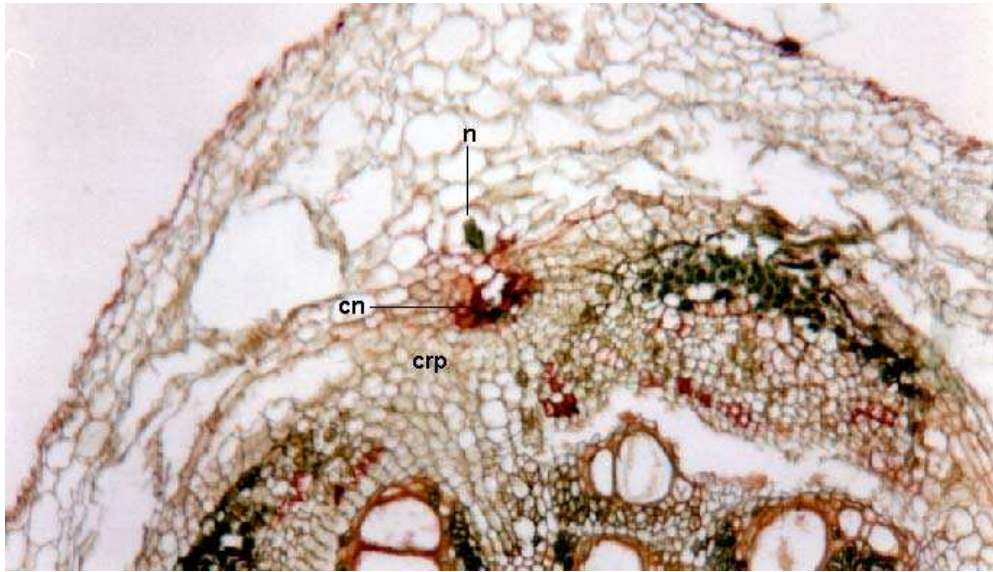


Figura 11 - Células do raio do parênquima (crp), que funcionam como num processo de cicatrização, são observadas aos 20 dias após a inoculação em corte transversal de raiz de mucuna, ao redor de um grupo de células necrosadas (cn) próximas ao nematóide (n) *Heterodera glycines*. (195x).

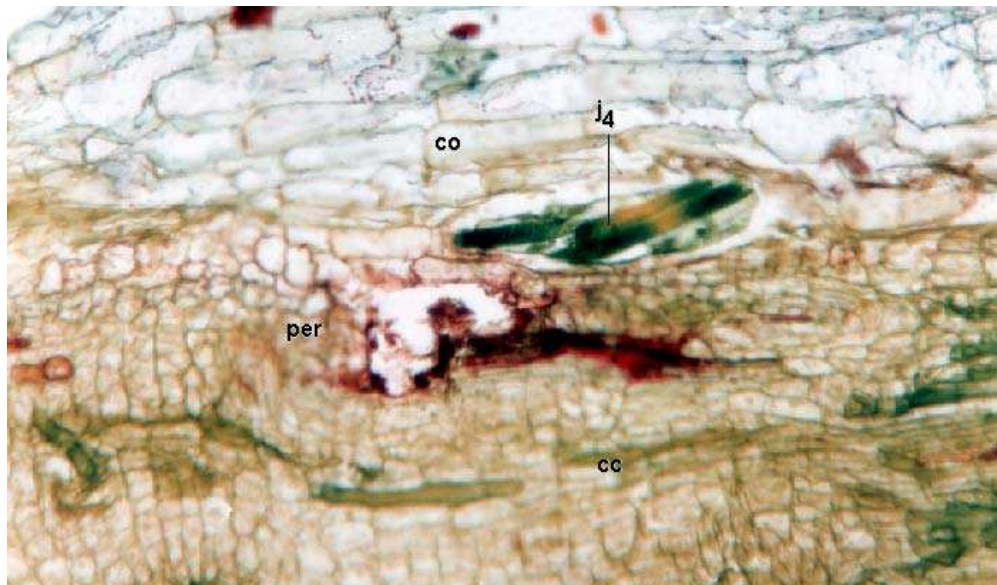


Figura 12 - Corte longitudinal de raiz de mucuna, aos 20 dias após a inoculação, mostrando juvenil de quarto estágio (J4) de *Heterodera glycines* que se desenvolvia em macho, posicionado no córtex (co). O nematóide está associado a um síncito, onde foram comprometidas células do córtex, da endoderme e do periciclo (per), apresentando-se em degeneração; cilindro central (cc). (250 x).

### 3.2. Histopatologia das raízes de soja

Em raízes de soja 'FT-Cristalina', aos cinco dias, observou-se a penetração intracelular dos J2, o rompimento das paredes de células do córtex e o início de necrose destas células. Algumas células que envolviam o juvenil e outras próximas à região cefálica e à endoderme apresentavam paredes espessadas e fortemente coradas pela safranina (Figura 13). Aos 15 dias, foi observada fêmea bem desenvolvida, porém não foi possível visualizar ovos no seu interior. A pressão mecânica exercida pelo desenvolvimento da fêmea provocou ruptura do tecido cortical, formando uma cavidade, ocupada pelo seu corpo. Síncito muito volumoso estava associado a esta fêmea, estando localizado entre dois grupos de fibras floemáticas, no cilindro vascular. Este síncito apresentava-se com células hipertrofiadas, cujas paredes se encontravam rompidas, o que proporcionava a formação de praticamente um único protoplama denso (Figura 14). Os núcleos se encontravam hipertrofiados e aglomerados. Os nucléolos também se encontravam hipertrofiados e estavam corados pela safranina (Figura 15). O comprometimento do cilindro vascular era visualizado pela expansão do síncito, englobando células do floema e se projetando ao encontro do proto e metaxilema.

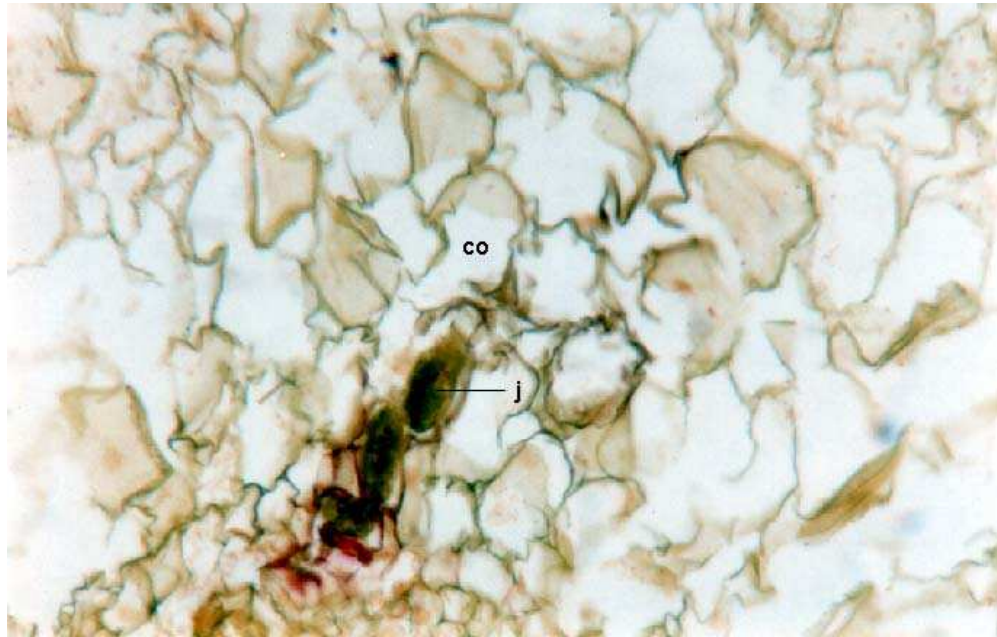


Figura 13 - Corte transversal de raiz de soja 'FT Cristalina' aos cinco dias após a inoculação, onde se observa penetração intracelular do juvenil infectivo de *Heterodera glycines* (j), cuja passagem causa rompimento de células do córtex (co). (390 x).

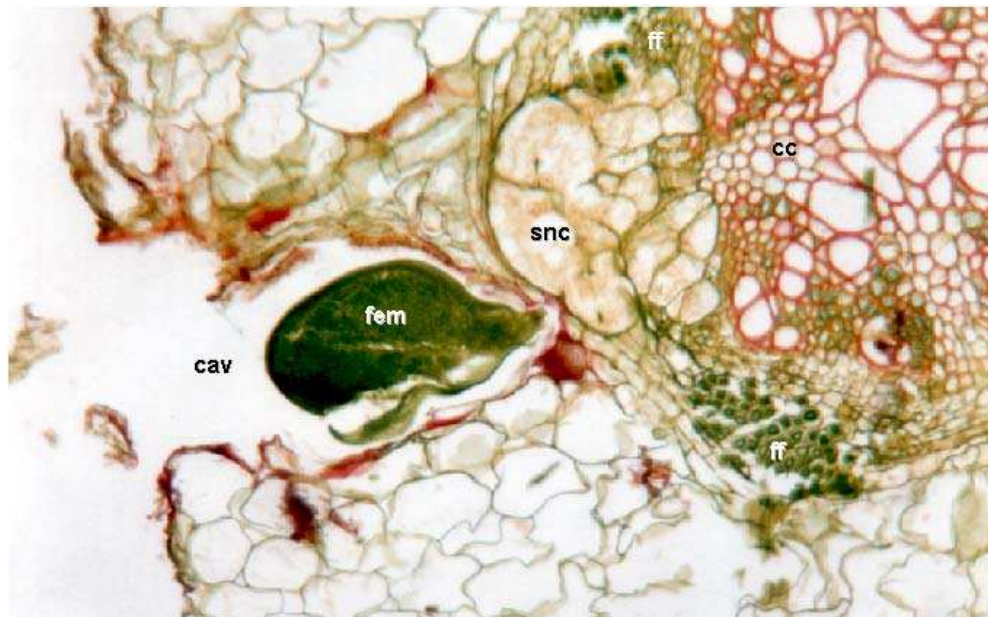


Figura 14 - Cavidade no córtex radicular (cav) provocada pelo desenvolvimento da fêmea de *Heterodera glycines* (fem) em raiz de soja 'FT Cristalina', 15 dias após a inoculação. O nematóide está associado a um sincito (snc) bem desenvolvido, localizado entre dois feixes de fibras floemáticas (ff), ocupando parte do cilindro central (cc). (250 x).

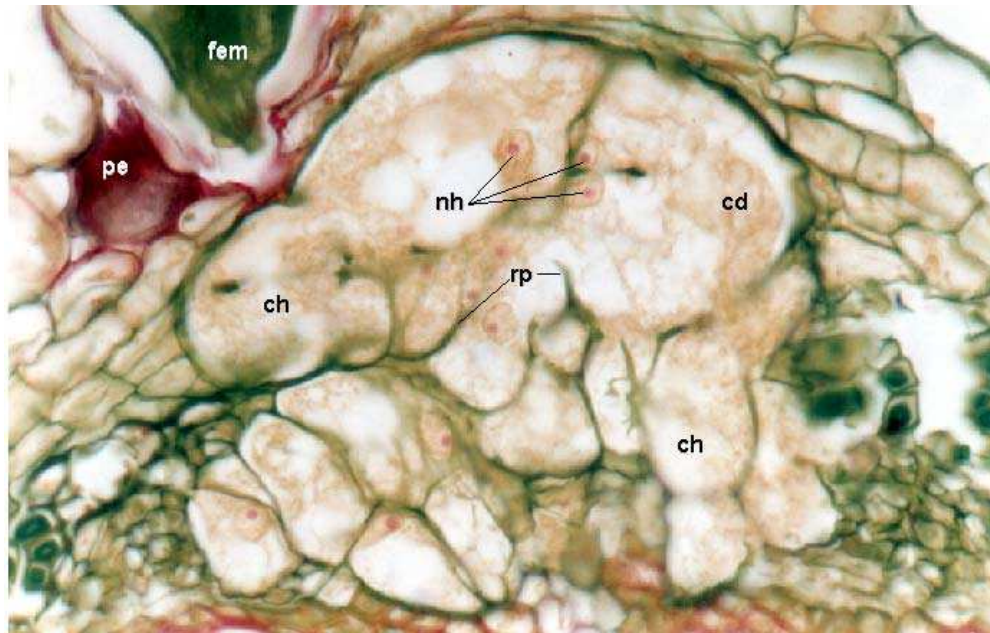


Figura 15 - Síncito em raiz de soja 'FT Cristalina' 15 dias após a inoculação, apresentando células hipertrofiadas (ch), rompimento de paredes celulares (rp), núcleos hipertrofiados e aglomerados (nh) e citoplasma denso (cd). Paredes de células em contato com a fêmea de *Heterodera glycines* (fem) apresentam-se espessadas e coradas pela safranina (pe). (475 x).

#### 4. DISCUSSÃO

A mucuna é considerada uma planta-armadilha para *Heterodera glycines*, pois, apesar de permitir a penetração dos juvenis de segundo estágio do nematóide, em número muito superior que o da soja 'FT-Cristalina', não multiplicou o nematóide (VALLE et al., 1997a). Em geral, nematóides penetram e se localizam em plantas de genótipos resistentes ou suscetíveis (KAPLAN e DAVIS, 1987). Segundo ACEDO et al. (1984), as taxas de penetração de juvenis de *H. glycines* em soja suscetível e resistente não diferiram entre si. No entanto, a penetração dos juvenis nas raízes não é garantia de que o nematóide alcançará seu pleno desenvolvimento, uma vez que as plantas podem possuir mecanismos para inibi-lo.

Os juvenis infectivos de *H. glycines*, após romperem a epiderme das raízes de mucuna, penetram intracelularmente no tecido cortical, semelhante ao observado por ENDO (1964), ENDO e VEECH (1970), BECKER et al. (1999) e DIOGO (1999) para outras espécies vegetais. ENDO e VEECH (1970) consideram que a necrose de células corticais na passagem do nematóide é uma característica comum associada com plantas resistentes. DIOGO (1999) observou necrose cortical em raízes de grão-de-bico, uma espécie resistente. Nas raízes de mucuna, nenhuma necrose cortical foi verificada devido à passagem do nematóide, semelhante ao observado por BECKER et al. (1999) em raízes de feijoeiro-comum resistente e suscetível.

Aos cinco dias, células de raízes de mucuna apresentaram-se hipertrofiadas, com o início de formação de um síncito, embora, pelo menos ao microscópio óptico, não tenha sido possível observar rompimento de paredes. Em soja suscetível, aos cinco a seis dias, observou-se um síncito desenvolvido com paredes celulares rompidas, formando praticamente um protoplasma único, e a maioria dos juvenis tinha alcançado o terceiro estágio de desenvolvimento (ENDO, 1964).

Os resultados aos 10 dias de infecção mostraram que em raízes de mucuna o nematóide estimulou a hipertrofia de células da endoderme e do periciclo, além de outras do cilindro central, algumas com rompimento de paredes. Embora não tenha sido evidenciado o estágio de desenvolvimento do nematóide, um síncito relativamente bem desenvolvido, com células hipertrofiadas e núcleos agrupados, avançando até o protoxilema, mostrou relativo comprometimento do cilindro vascular. Algumas das células do síncito, principalmente as mais internas, ainda não mostravam ruptura de paredes. Para Mankau, citado por ENDO (1964), o desenvolvimento de *Heterodera trifolii* em trevo-ladino suscetível estava relacionado com a rápida dissolução de paredes, à medida que o síncito se expandia. Em trevo-vermelho resistente, o desenvolvimento do síncito era, aparentemente, inibido pela resistência do hospedeiro à dissolução de paredes celulares.

Segundo ENDO (1964), em variedade de soja suscetível, fêmeas de quarto estágio, associadas a síncitos bem desenvolvidos, já puderam ser visualizadas aos 10 dias de infecção. Em variedade de soja resistente Peking, o início da formação dos síncitos se dá logo após a penetração do nematóide; no entanto, muitos degeneram, estando associados a juvenis de segundo estágio mortos. Na progênie F4, resultante do retrocruzamento entre variedade resistente e suscetível, o desenvolvimento dos síncitos nas raízes foi variável, pois, embora tenham sido visualizados muitos síncitos degenerados, poucos se desenvolveram (ENDO, 1965).

Em mucuna, as reações de resistência a *H. glycines* são variadas, tendo sido observadas principalmente aos 15 dias após a inoculação. A observação de síncitos pouco desenvolvidos na região cortical, nesse período, pode sugerir atraso ou interrupção no desenvolvimento do nematóide. Regiões necrosadas próximas à região cefálica indicam que as células foram

estimuladas, iniciando a formação de um síncito que não prosperou. Tais síncitos não são capazes de fornecer nutrientes ao nematóide até o estágio adulto, causando, assim, sua morte prematura. Em raízes de soja, a pronta degeneração dos sítios de alimentação nos primeiros dias da infecção está relacionada com a resistência da planta (ENDO, 1965; ACEDO et al., 1984).

Células com paredes espessadas e parcialmente rompidas que se deixaram corar fortemente pela safranina, sem mostrar necrose, formaram uma barreira contra o nematóide. Neste grupo de células aparentemente não ocorreu dissolução de paredes e elas não formaram um síncito, o que poderia explicar um outro mecanismo de resistência da mucuna ao nematóide. DIOGO (1999) não observou a formação de síncitos em raízes de grão-de-bico, impedindo o desenvolvimento dos juvenis de *H. glycines*. Entretanto, algumas células reagiram à presença do nematóide, desenvolvendo protoplasma denso, núcleos hipertrofiados e paredes celulares engrossadas. Essa região colorida pela safranina, necrótica e localizada, estava presente em todas as épocas de avaliação. Segundo RIGGS et al. (1973), o depósito de material secundário de parede delimita a área afetada e impede o movimento de materiais entre as células com o bloqueio dos plasmodesmos, levando a uma deficiência de suprimento de nutrientes ao nematóide.

ROSS (1958) considerou a hipersensibilidade como o mecanismo de resistência da variedade de soja 'Peking' ao nematóide de cistos. De acordo com este autor, células adjacentes à região cefálica do juvenil mostraram-se coradas de vermelho, desorganizadas e necróticas. Para ENDO (1965), a presença de síncito em plantas resistentes capaz de suprir as exigências nutricionais de nematóides até a fase adulta descaracteriza a hipersensibilidade como um dos principais mecanismos de resistência a *H. glycines*.

Ainda aos 15 dias da inoculação, juvenis de terceiro estágio são observados nas raízes de mucuna associados a síncitos localizados na região cortical. Segundo ENDO (1964), em soja suscetível, no período de cinco a seis dias após a infecção, a maioria dos nematóides já se encontrava no terceiro estágio de desenvolvimento, e, aos nove dias, nematóides que se desenvolveriam em fêmeas se expandiam, causando muito mais danos a células do córtex do que os machos que se encontravam no quarto estágio de

desenvolvimento. Portanto, a mucuna retardou o desenvolvimento de *H. glycines*, quando comparada à soja suscetível.

Os nematóides de quarto estágio que se desenvolveriam em machos foram visualizados em raízes de mucuna 20 dias após a inoculação, estando associados a síncitos em degeneração. Embora as necroses tenham impedido uma avaliação precisa, estes síncitos pareciam ocupar células do córtex, da endoderme, do periciclo e outras mais externas do cilindro vascular. No feijoeiro-comum, cultivar 'Ouro', suscetível, BECKER et al. (1999) verificaram que o síncito estimulado por um juvenil que originaria um adulto macho era formado apenas por células do córtex e do periciclo. No cultivar 'L-2300', o síncito se limitava à região do córtex, junto à endoderme. Nos dois casos não houve comprometimento do cilindro vascular.

Apesar de nas raízes de mucuna um síncito aparentemente funcional ter sido estimulado, não é possível afirmar que este seria capaz de nutrir um nematóide que se desenvolveria em fêmea. A formação de machos nas raízes de mucuna, constatada neste trabalho, foi também verificada por VALLE et al. (1996, 1997a), que também não encontraram fêmeas nas raízes. Ao que parece, em mucuna, para que o nematóide se desenvolva em macho e atinja a fase adulta, é necessário haver participação de algumas células do cilindro central na formação do síncito, mesmo que isso não traga sérios prejuízos ao sistema vascular da planta.

Em raízes de soja 'FT Cristalina' foram observadas fêmeas de *H. glycines* bem desenvolvidas associadas a síncitos em plena funcionalidade. No cultivar de soja resistente 'Peking' e na progênie resultante do cruzamento entre 'Lee' x 'Peking', ENDO (1965) observou síncitos degenerados circundados por grupos de células parenquimáticas. Estas células funcionariam como um processo de cicatrização, comprimindo para o exterior as células mortas. Em raízes de mucuna são também observados síncitos degenerados, e esse mesmo processo é verificado, além do crescimento secundário da raiz, no preenchimento de áreas necrosadas.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

Juvenis de segundo estágio (J2) de *Heterodera glycines* raça 3 foram inoculados diretamente sob o sistema radicular de plantas de mucunas preta e anã, mantidas em casa de vegetação; aos 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias após a inoculação, as raízes foram fixadas, sendo obtidos cortes histológicos para avaliações histopatológicas.

Para atingir o córtex radicular, indo em direção ao cilindro central, o juvenil infectivo rompe a epiderme ou penetra nos pontos de ramificação das raízes. Em razão da sua penetração típica intracelular, causa danos mecânicos a células corticais, porém não são observadas necroses.

Aos cinco dias após a inoculação, células do córtex e da endoderme reagem ao estímulo do nematóide, apresentando hipertrofia, protoplasma denso e núcleos hipertrofiados, não se observando paredes celulares rompidas.

Aos 10 dias, observa-se a formação de um síncito envolvendo células da endoderme, do periciclo e do cilindro central, vizinhas ao protoxilema. Este síncito apresenta características de células hipertrofiadas, núcleos hipertrofiados e aglomerados, células com citoplasma denso e vacúolos. Diferentemente da soja, a maioria das células do síncito não apresenta paredes celulares rompidas.

Síncitos pouco desenvolvidos, células desorganizadas com paredes espessadas fortemente coradas pela safranina e síncitos em degeneração com

células necrosadas foram as reações de resistência das raízes de mucuna visualizadas principalmente aos 15 dias da inoculação.

Juvenis de terceiro e quarto estádios foram observados associados a síncitos a partir do décimo quinto dia, e machos associados a síncitos em degeneração, a partir do vigésimo dia.

Semelhantemente ao observado em soja resistente, células do raio parenquimático se desenvolveram ao redor de síncitos degenerados, ocupando o espaço das células necrosadas. O crescimento secundário da raiz é uma outra forma de recuperar áreas necrosadas.

Embora tenha sido visualizado um síncito no cilindro central de raiz de mucuna, não foi observada a formação de fêmeas, e o comprometimento do feixe vascular não foi tão vasto quanto em raiz de soja. A mucuna mostrou diversas reações anatômicas de resistência ao nematóide, criando empecilhos ao seu desenvolvimento.

## 2. RESUMO E CONCLUSÕES

Ensaio foram conduzidos em casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa – MG, com os objetivos de: avaliar a penetração e o desenvolvimento de populações do nematóide de cistos da soja (NCS), *Heterodera glycines*, identificadas como raças 2, 3, 4, 5 e 14 e inoculadas em raízes da planta-armadilha *Mucuna pruriens*, variedades *pruriens* e *utilis*; e estudar as alterações histopatológicas ocorridas em células radiculares de *M. pruriens* inoculadas com a raça 3 do nematóide.

Das populações identificadas como raças 3, 4, 5 e 14, foi observada a penetração dos juvenis de segundo estágio (J2) nas raízes das duas variedades de *M. pruriens*, sendo o número médio de J2 das diferentes populações nas raízes das mucunas superior ao encontrado nas raízes de soja 'Doko-RC', à exceção da raça 14. Foram observados juvenis de terceiro (J3) e quarto (J4) estádios nas raízes das mucunas, mas esse desenvolvimento foi maior em soja 'Doko-RC'. O número total de nematóides encontrados nas raízes desta soja foi maior quando comparado com as mucunas, à exceção da raça 3, em que não se observaram diferenças entre o número total de nematóides na soja e nas mucunas.

Juvenis de segundo e terceiro estádios foram observados associados a síncitos em processo de necrose. Portanto, *Mucuna pruriens* não é hospedeira de *H. glycines*, podendo algumas populações formar raríssimas fêmeas nas raízes desta espécie.

Rompendo a epiderme, os J2 se direcionam ao cilindro central. Neste caminho, o nematóide penetra intracelularmente no córtex, causando danos mecânicos. O nematóide estimula células do córtex, da endoderme, do periciclo e do cilindro central, as quais se apresentam hipertrofiadas, formando sítios de alimentação denominados síncitos, os quais são caracterizados por ruptura de paredes celulares internas, citoplasma denso, vacúolos e núcleos hipertrofiados e aglomerados. Células mais externas do síncito e aquelas em contato com a região cefálica do nematóide apresentam paredes espessas fortemente coradas pela safranina.

O tecido radicular de *M. pruriens* apresentou resistência à infecção por *H. glycines*, mostrando discreta hipertrofia de células que não chegaram a formar um síncito funcional, em razão da presença de células desorganizadas com paredes espessadas ou de uma região de células desorganizadas e necróticas. Essas reações da planta impediram o desenvolvimento do nematóide. Juvenis de quarto estágio que se desenvolveriam em machos associados a síncitos em degeneração foram observados.

Além de apresentarem reações de resistência anatômica à infecção por *H. glycines*, os tecidos radiculares de *M. pruriens* são capazes de regenerar áreas danificadas pelo nematóide através do crescimento secundário e desenvolvimento de células do raio parenquimático.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACEDO, J.R., DROPKIN, V.H., LUEDDERS, V.D. Nematode population attrition and histopathology of *Heterodera glycines* soybean associations. **Journal of Nematology**, v.16, n.1, p. 48-57, 1984.
- ALLEONI, L. R. F., MAIA, N.B., CACERES, N.T., OLIVEIRA, P.S.R. Efeito da adubação verde nos atributos químicos, físicos e biológicos do solo. **Unimar Ciências**, v.4, p.100-114, 1995.
- ANDRADE, P.J.M., ASMUS, G.L. Disseminação do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, pelo vento durante o preparo do solo. **Nematologia Brasileira**, v.21, n.1, p.98-100, 1997.
- ARANTES, N. E., KIIHL, R.A.S., ALMEIDA, L.A. Resistência da soja aos nematóides. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2000, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia:MG, 2000. p.66-70.
- BARCELOS, F.F., BARBOSA, L.C., DEMUNER, A.J., SANTOS, M.A., WERLANG, R.C. Atividade nematicida de constituintes químicos de *Mucuna aterrima* em *Heterodera glycines*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 1997, Gramado. **Anais...** Gramado:RS, 1997. 64p.
- BECKER, W.F. **O nematóide de cisto *Heterodera glycines* Ichinohe em feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.): Aspectos do parasitismo, reação de cultivares, herança da resistência e interação com outros microorganismos.** Viçosa, MG: UFV, 1997. 203p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- BECKER, W.F., FERRAZ, S., SILVA, E.A.M. Alterações histopatológicas em raízes de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) infectadas por *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, v.23, n.1, p. 34-46, 1999.

- BYRD JR., KIRKPATRIK, J., BARKER, K.R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v.15, n.1, p.142-143, 1983.
- BUCKLES, D. Velvetbean: a “new” plant with a history. **Economic Botany**. v.49, n.1, p. 13-25, 1995.
- CARNIELLI, A. Reação de culturas utilizadas em rotação e sucessão à soja ao nematóide *Heterodera glycines*. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, Rio Quente, 1995. **Programa e Anais**. Rio Quente : GO, 1995, 35p.
- CLOUD, G.L., RIGGS, R.D., CAVINESS, C.E. Variability in host preference among field populations of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.20, n.3, p.417-420, 1988.
- DIAS, W.P., FERRAZ, S., SILVA, A.A. LIMA, R.D., VALLE, L.A.C. Hospedabilidade de algumas ervas daninhas ao nematóide de cisto da soja. **Nematologia Brasileira**, v.19, n.1-2, p.9-14, 1995.
- DIAS, W. P., GARCIA, A., SILVA, J.F.V. Nematóides associados à cultura da soja no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2000, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia:MG, 2000. p.59-65.
- DIAS, W.P., SILVA, J.F.V., WAIN, A.L., PEREIRA, J.E. Distribuição de raças de *Heterodera glycines* no Brasil. In: **O nematóide de cisto da soja: A experiência brasileira**. Ed. Sociedade Brasileira de Nematologia. 1999. p.95-103.
- DIOGO, A.M. **Aspectos do parasitismo, reação de hospedeiros e seqüência de cultivos no controle do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines***. Viçosa, MG: UFV, 1999. 90 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1999.
- DIOGO, A.M., SEDIYAMA, T., LIMA, R.D., SEDIYAMA, C.S. Penetração e reprodução de *Heterodera glycines*, raça 3, em algumas espécies vegetais. **Nematologia Brasileira**, v.23, n.2, p. 24-33, 1999.
- DONG, K., BARKER, K.R., OPPERMAN, C.H. Genetics of soybean-*Heterodera glycines* interactions. **Journal of Nematology**, v.29, n.4, p.509-522, 1997.
- DUNN, R.A. Extraction of cysts of *Heterodera glycines* from soils by centrifugation in high density solutions. **Journal of Nematology**, v.1, n.1, p.7, 1969.
- DROPKIN, V.H., NELSON, P.E. The histopathology of root-knot nematode infections in soybeans. **Phytopathology**, v.50, n.6, p. 442-447, 1960.
- EMBRAPA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 1998/99**. Londrina:Paraná, 1988. 182p.

- EMBRAPA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 1999/00**. Londrina:Paraná, 1999. 226p.
- EMBRAPA. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na região central do Brasil 2000/01**. Londrina:Paraná, 2000. 245p.
- ENDO, B.Y. Penetration and development of *Heterodera glycines* in soybean roots and related anatomical changes. **Phytopathology**, v.54, n.1, p. 79-88, 1964.
- ENDO, B.Y. Histological responses of resistant and susceptible soybean varieties, and backcross progeny to entry and development of *Heterodera glycines*. **Phytopathology**, v.55, n.4, p. 375-381, 1965.
- ENDO, B.Y. Celular responses to infection. In: RIGGS, R.D., WRATHER, J.A. (Eds.). **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1992. p.37-49.
- ENDO, B.Y., VEECH, J.A. Morphology and histochemistry of soybean roots infected with *Heterodera glycines*. **Phytopathology**, v.60, n.10, p.1493-1498, 1970.
- FERRAZ, S., VALLE, L.A.C. Controle de fitonematóides por plantas antagonicas. **Cadernos Didáticos**. Editora UFV. 1997. 73p.
- GARCIA, A., SILVA, J.F.V., PEREIRA, J.E., DIAS, W.P. Manejo de *Heterodera glycines* através da rotação da soja com milho ou com mucuna preta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 1998, Maringá. **Anais...** Maringá:PR, 1998a. 46p.
- GARCIA, A., SILVA, J.F.V., PEREIRA, J.E., GAUDÊNCIO, C.A., DIAS, W.P. Influência de plantas cultivadas no inverno sobre a população de *Heterodera glycines* e o rendimento da soja, em Tarumã-SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 1998, Maringá. **Anais...** Maringá:PR, 1998b. 33p.
- GARCIA, F.C.P., MONTEIRO, R. Leguminosae-Papilionoidae de uma floresta pluvial de planície costeira em Picinguaba, município de Ubatuba, SP, Brasil. **Naturalia**. v.22, p. 17-60, 1997.
- GOLDEN, A.M., EPPS, J.M., RIGGS, R.D., DUCLOS, L.A., FOX, J.A., BERNARD, R.L. Terminology and identity of infraspecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Plant Disease Reporter**, v.54, n.7, p.544-546, 1970.
- GOURD, T.R., SCHMITT, D.P., BARKER, K.R. Penetration rates by second-stage juveniles of *Meloidogyne* spp. and *Heterodera glycines* into soybean roots. **Journal of Nematology**, v.25, n.1, p.38-41, 1993.

- HAGQUIST, C.W. Preparation and care of microscope slides. **American Biology Teacher**, v.38, n.4, p. 414-417, 1974.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 532p.
- KAGE, H. Adubação verde: as observações de um lavrador. In: FUNDAÇÃO CARGILL. **Adubação orgânica, adubação verde e rotação de culturas no estado de São Paulo**. Campinas:Fundação Cargill, 1983. p.113-138.
- KAPLAN, D.T., DAVIS, E.L. Mechanisms of plant incompatibility with nematodes. In: VEECH, J.A., DICKSON, D.W. (eds.) **Vistas on Nematology**. Society of Nematologists, Inc. Hyattsville, Maryland. p.267-276. 1987.
- KAPLAN, D.T., THOMASON, I.J., VAN GUNDY, S.D. Histological study of the compatible and incompatible interaction of soybeans and *Meloidogyne incognita*. **Journal of Nematology**. v.11, n.4, p. 338-343, 1979.
- KIM, Y.H., KIM, K.S., RIGGS, R.D., Morphological characteristics of syncytia in susceptible hosts infected by the soybean cyst nematode. **Phytopathology**, v.76, n.9, p. 913-917, 1986.
- KIM, Y.H., RIGGS, R.D., KIM, K.S. Structural changes associated with resistance of soybean to *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**. v.19, n.2, p. 177-187, 1987.
- KLOEPPER, J.W., RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., McINROY, J.A., COLLINS, D.J. Analysis of populations and physiological characterization of microorganisms in rhizospheres of plants with antagonistic properties to phytopathogenic nematodes. **Plant and Soil**, v.136, p.95-102, 1991.
- KLOEPPER, J.W., RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., McINROY, J.A., YOUNG, R.W. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: Identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. **Plant and Soil**, v.139, p.75-84, 1992.
- LACKEY, J.A. Tribe Phaseoleae DC. (1825). In: POLHILL, R.M., RAVEN, P.H., (eds.). **Advances in Legume Systematics**. Part 1. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond. p.301-327. 1981.
- LEWIS, G.P. **Legumes of Bahia**. Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond. 1987. 369 p
- LEWIS, S.A. Nematode-plant compatibility. In: VEECH, J.A., DICKSON, D.W. (eds.) **Vistas on Nematology**. Society os Nematologists, Inc. Hyattsville, Maryland. p. 246-252. 1987.

- LIMA, R.D., FERRAZ, S., SANTOS, J.M. Ocorrência de *Heterodera* sp., em soja no Triângulo Mineiro. **Nematologia Brasileira**, v.16, n.1/2, p.101-102, 1992.
- LORDELLO, A.I.L., LORDELLO, R.R.A., QUAGGIO, J.A. Ocorrência do nematóide do cisto da soja (*Heterodera glycines*) no Brasil. **Revista de Agricultura**, v.16, n.3, p.223-225, 1992.
- LORENZETTI, F., MACISAAC, S., ARNASON, J.T., AWANG, D.V.C., BUCKLES, D. The phytochemistry, toxicology, and food potential of velvetbean (*Mucuna* Adans. spp. Fabaceae). In: BUCKLES, D., ETÉKA, A., OSINAME, O., GALIBA, M., GALANO, N. (eds.). **Cover crops in West Africa**. IDRC/CRDI. p.70-87. 1998.
- MENDES, B.V., CARDOSO, E.J.B.N., FERNANDES, E.R. Histopatologia de raízes de feijoeiro parasitadas por *Meloidogyne javanica*. In: **Reunião de Nematologia**, 3. 1978, Mossoró. Mossoró: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1978. p. 109-115.
- MENDES, B.V., FERRAZ, S., SHIMOYA, C. Observações histopatológicas de raízes de cafeeiro parasitadas por *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1987. In: **Reunião de Nematologia**, 4. 1980, Piracicaba. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1977. p. 207-229.
- MONTEIRO, A.R. Controle de nematóides por espécies de adubos verdes. In: WUTKE, E.B., BULISANI, E.A., MASCARENHAS, H.A.A. (Eds.). **Curso sobre adubação verde no Instituto Agrônomo**. Campinas: Instituto Agrônomo, 1993. p.109-121.
- MONTEIRO, A.R., MORAIS, S.R.A.C. Ocorrência do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira**, v.16, n.1/2, p.101, 1992.
- NOEL, G., LIU, Z. Chinese origin of soybean cyst nematode. In: NATIONAL SOYBEAN CYST NEMATODE CONFERENCE, 1999, Orlando. **Conference Proceedings**. Orlando, Florida, 1999. 10p.
- PEDROSA, E.M.R., HUSSEY, R.S., BOERMA, H.R. Cellular responses of resistant and susceptible soybean genotypes with *Meloidogyne arenaria* races 1 and 2. **Journal of Nematology**, v.28, n.2, p. 225-232, 1996.
- PIPER, C.V., TRACY, S.M. The Florida velvet bean and related plants. **Bureau of Plant Industry, Bulletin Nº 179**. Government Printing Office, Washington, DC, USA, p. 1-26, 1910.
- RIGGS, R.D. Nonhost root penetration by soybean cyst nematode. **Journal of Nematology**, v.19, n.2, p.251-254, 1987.

- RIGGS, R.D. Host range. In: RIGGS, R.D., WRATHER, J.A. (Eds.). **Biology and management of the soybean cyst nematode**. St. Paul: The American Phytopathology Society, 1992. p.107-114.
- RIGGS, R.D., KIM, K.S., GIPSON, I. Ultrastructural changes in Peking soybean infected with *Heterodera glycines*. **Phytopathology**, v.63, n.1, p.76-84, 1973.
- RIGGS, R.D., SCHMITT, D.P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.20, n.3, p.393-395, 1988.
- RIGGS, R.D., SCHMITT, D.P. Optimization of the *Heterodera glycines* race test procedure. **Journal of Nematology**, v.23, n.2, p.149-154, 1991.
- RIGGS, R.D., SCHMITT, D.P., NOEL, G.R. Variability in race tests with *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.20, n.4, p.565-572, 1988.
- ROHDE, R.A. Expression of resistance in plants to nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v.10, p. 233-252, 1972.
- ROSS, J.P. Host-parasite relationship of the soybean cyst nematode in resistant soybean roots. **Phytopathology**, v.48, n.10, p.578-579, 1958.
- SCHMITT, D.P., RIGGS, R.D. Influence of selected plant species on hatching of eggs and development of juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v. 23, n.1, p. 1-6, 1991.
- SILVA, J.F.V., GARCIA, A., SILVA, E.A., DIAS, W.P. Situação atual do nematóide de cisto da soja (NCS) no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 1997, Gramado. **Anais...** Gramado: RS, 1997. p.20-22.
- SILVA, G.S., FERRAZ, S., SANTOS, J.M. Histopatologia de raízes de *Crotalaria* parasitadas por *Meloidogyne javanica*. **Fitopatologia Brasileira**, v.15, n.1, p. 46-48, 1990.
- SILVA, M.A., HANADA, R.E., SILVA, H.S.A., LIMA, R.D., VIEIRA, R.F. Reprodução de *Heterodera glycines* em algumas leguminosas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 30, 1997, Poços de Caldas. **Anais....** Poços de Caldas: MG, 1997b. 324p.
- TENUTA, A.U., WELACKY, T.W., ANDERSON, T.R. Precision IPM and soybean cyst nematode. In: NATIONAL SOYBEAN CYST NEMATODE CONFERENCE, 1999, Orlando. **Conference Proceedings**. Orlando, Florida, 1999. 23p.
- TRUDGILL, D.L. Resistance to and tolerance of plant parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v.29, p. 167-193, 1991.

- VALLE, L.A.C., DIAS, W.P., FERRAZ, S. Reação de algumas espécies vegetais, principalmente leguminosas, ao nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe. **Nematologia Brasileira**, v.20, n.2, p.30-40, 1996.
- VALLE, L.A.C., FERRAZ, S., TEIXEIRA, D.A. Estímulo à eclosão de juvenis, penetração e desenvolvimento de *Heterodera glycines* nas raízes de mucuna preta (*Mucuna aterrima*) e guandu (*Cajanus cajan*). **Nematologia Brasileira**, v.21, n.1, p.67-83, 1997a.
- VALLE, L.A.C., SANCHES, J.B., MIZOBUTSI, E.H. FERRAZ, S. Reação de leguminosas utilizadas como cobertura do solo e adubação verde ao nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 30, 1997, Poços de Caldas. **Anais....** Poços de Caldas: MG, 1997b. 330p.
- VEECH, J.A. Plant resistance to nematodes. In: ZUCKERMAN, B.M., ROHDE, R.A. (eds.) **Plant parasitic nematodes**. New York. Academic Press. 1981. v.3, p. 377-403.
- VERDCOURT, B. Papilionoidae. In: POLHILL, R.M. (ed.). **Flora of Tropical East Africa**. Crown Agents, London. p. 503-807. 1971.
- VISSOH, P., MANYONG, V.M., CARSKY, J.R., OSEI-BONSU, P., GALIBA, M. Experiences with *Mucuna* in West Africa. In: BUCKLES, D., ETÉKA, A., OSINAME, O., GALIBA, M., GALANO, N. (eds.). **Cover Crops in West África**. IDRC/CRDI. p. 10-38. 1998.
- WANG, S., RIGGS, R.D. Divergence of race numbers of single female isolates derived from populations of seven races of *Heterodera glycines*. In: JOINT MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF PARASITOLOGISTS AND THE SOCIETY OF NEMATOLOGISTS, 1999, Monterey, California. **Program guide and abstracts**. Monterey, California, 1999. 146p.
- WANG, S., RIGGS, R.D., CRIPPEN, D. Soil infestation density affects the results of *Heterodera glycines* race tests. **Supplement to the Journal of Nematology**, v.30, n.4S, p.553-562, 1998.
- WERLANG, R.C., SANTOS, M.A. Hospedabilidade de plantas daninhas da cultura da soja em áreas de cerrado ao nematóide do cisto da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: PR, 1999. p.460.
- WEAVER, D.B., RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., CARDEN, E.L. Velvetbean in rotation with soybean for management of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne arenaria*. **Supplement to the Journal of Nematology**, v.25, n.4S, p.809-813, 1993.

- WEAVER, D.B., RODRÍGUEZ-KÁBANA, R., CARDEN, E.L. Velvetbean and bahiagrass as rotation crops for management of *Meloidogyne* spp. and *Heterodera glycines* in soybean. **Supplement to the Journal of Nematology**, v. 30, n.4S, p.563-568, 1998.
- WILMOT-DEAR, C.M. A revision of *Mucuna* (*Leguminosae-Phaseoleae*) in China and Japan. **Kew Bulletin**. v.39, n.1, p. 23-65, 1984.
- WILMOT-DEAR, C.M. A revision of *Mucuna* (*Leguminosae-Phaseoleae*) in the Indian subcontinent and Burma. **Kew Bulletin**, v.42, n.1, p. 23-46, 1987.
- WRATHER, L. A., ANAND, S. C., DROPKIN, V.H. Soybean cyst nematode control. **Plant Disease**, v.68, n.9, p.829-833, 1984.
- YOUNG, L.D. Managing soybean resistance to *Heterodera glycines*. **Supplement to the Journal of Nematology**, v.30, n.4S, p.525-529, 1998.

## APÉNDICE

## APÊNDICE A

Quadro 1A - Resumo da análise de variância do número de J2, J3+J4 e número total de nematóides das raças 3, 4 e 14 de *Heterodera glycines* avaliados em plantas de soja 'Doko' e mucunas preta, anã, rajada e cinza, 15 dias após a inoculação

FV	GL	Quadrado médio <sup>1</sup>		
		J2	J3 + J4	Total
Raças (R)	2	10,2748 *	5,9966 *	7,2376 *
Plantas (P)	4	8,8904 **	80,8951 **	15,8306 **
P x C	8	5,5191 *	4,4722 **	6,4238 **
Resíduo	45	2,0302	1,4619	2,0232
CV (%)		17,86	39,16	15,65

\*\* F significativo a 1% de probabilidade.

\* F significativo a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> Valores transformados para  $\sqrt{x}$ .

Quadro 2A - Resumo da análise de variância do número de J2, J3+J4 e número total de nematóides de *Heterodera glycines* da raça 5 avaliados em plantas de soja 'Doko' e mucunas preta, anã, rajada e cinza, 15 dias após a inoculação

FV	GL	Quadrado médio <sup>1</sup>		
		J2	J3 + J4	Total
Plantas	4	7,8804 *	28,9221 **	21,0930 **
Resíduo	15	1,6817	0,9869	1,2742
CV (%)		18,19	15,62	11,13

\*\* F significativo a 1% de probabilidade.

\* F significativo a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> Valores transformados para  $\sqrt{x}$ .

## APÊNDICE B

### Taxonomia do gênero *Mucuna*

***Mucuna*** Adans. Fam. Pl. 2: 325 (1763); Prain, Journ. As. Soc. Bengal 66:404 (1897), *nom. conserv.*.

Sinônimos: *Stizolobium* P.Br., Hist. Jamaica: 290(1756)

*Citta* Lour., Fl. Cochinch.: 456 (1790)

*Carpopogon* Roxb., Hort. Beng.: 54 (1841); Fl. Ind. Ed. Carey 3: 283 (1832).

Ervas, lianas ou raramente arbustos. Folhas pinadas, trifolioladas; folíolos laterais levemente assimétricos, estípulas e estipelas decíduas. Inflorescências axilares racemosas ou paniculadas; brácteas e bractéolas decíduas. Flor papilionácea, púrpura, vermelha, creme, amarela ou branca. Cálice 4-5 lobado, bilabiado, 2 lobos superiores conatos, formando um lábio inteiro ou bífido. Estandarte arredondado unguiculado, base auriculada, geralmente menor que as outras pétalas; asa e quilha estreitas na base, unguiculadas, aurícula dorsal; pétalas da quilha parcialmente conatas ao longo da margem inferior, geralmente curvadas no ápice, formando um rostro cartilaginoso. Estames 10, diadelfos, estame vexilar livre desde a base; anteras dimorfas: 5 anteras maiores, basifixas, alternadas com 5 anteras menores,

dorsifixas ou versáteis; barbadas. Ovário sésil; óvulos poucos-12; estilete longo, filiforme, às vezes pubescente, nunca barbado, curvo; estigma pequeno, terminal. Fruto tipo legume, oblongo ou linear, valvas espessas e geralmente estriadas longitudinalmente, ou ornamentadas com lamelas transversais, geralmente com tricomas irritantes; aparentemente septado entre as sementes, geralmente deiscente, margens freqüentemente aladas; sementes globosas ou oblongas, hilo curvo ou linear, oblongo ou longo e ocupando cerca de  $\frac{3}{4}$  da circunferência da semente e sem arilo.

O gênero *Mucuna* apresenta cerca de 100 espécies, que ocorrem nas regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios (LACKEY, 1981).

Baseando-se nas características da semente, foram encontradas evidências a favor da divisão de *Mucuna* em gêneros menores, entre eles *Stizolobium*.

Mesmo que o conceito genérico de *Stizolobium* fosse restabelecido, ele continuaria sendo um gênero heterogêneo em relação às outras características. É por isso que vários autores (VERDCOURT, 1971; LACKEY, 1981; WILMOT-DEAR, 1984, 1987; LEWIS, 1987) têm considerado *Mucuna* com uma circunscrição mais ampla, pelo menos até que seja realizada a revisão de todos os táxons do gênero. Uma discussão detalhada sobre a taxonomia do gênero pode ser encontrada nos trabalhos de PIPER e TRACY (1910) e VERDCOURT (1971). Nenhum estudo taxonômico utilizando técnicas moleculares modernas ou marcadores fitoquímicos foi ainda realizado no gênero.

Os objetivos desta revisão foram identificar a espécie de *Mucuna* e de esclarecer problemas na delimitação e nomenclatura das variedades da espécie em questão, cujo material foi recebido para desenvolvimento de experimentos no controle do nematóide de cistos da soja (*Heterodera glycines*).

Na classificação de *Mucuna* utilizada atualmente (WILMOT-DEAR, 1984, 1987), as espécies estão distribuídas em dois subgêneros, subg. *Mucuna* e subg. *Stizolobium*, que se distinguem pelo hábito perene e lenhoso, presença de lamelas transversais nas valvas do legume, sementes circulares, com hilo envolvendo cerca de  $\frac{3}{4}$  da circunferência da semente no subg. *Mucuna*; já as espécies do subg. *Stizolobium* são trepadeiras anuais, herbáceas, e apresentam as valvas do legume estriadas longitudinalmente, paralelas à

sutura, sendo as sementes oblongas a arredondadas, com hilo circular a oblongo, menor que a metade da circunferência da semente. Os espécimes estudados neste trabalho apresentam estas características e, por isso, foram identificados com o subg. *Stizolobium*. Boa parte das espécies utilizadas economicamente estão incluídas neste subgênero e foram introduzidas no Brasil, onde são encontradas apenas duas espécies nativas: *Mucuna sloanei* Fawc. & Rendle e *M. urens* (L.) Medik., comuns nas florestas pluviais (GARCIA e MONTEIRO, 1997). O potencial econômico destas espécies não tem sido estudado, provavelmente devido aos seus frutos grandes, densamente cobertos por indumento com tricomas irritantes e às suas sementes com testa espessa e rígida, o que dificulta a germinação (Flávia C.P. Garcia, comunicação pessoal).

*Mucuna* spp. tem sido cultivada em áreas tropicais úmidas como planta melhoradora do solo, como planta de cobertura, para o controle de ervas daninhas, e como planta para adubação verde, forragem animal e controle de fitonematóides (BUCKLES, 1995). Algumas espécies têm sido utilizadas para consumo humano, sendo consideradas ricas fontes de minerais, proteínas e aminoácidos (Duke, 1981, citado por LORENZETTI et al., 1998).

No final do século passado, a mucuna foi introduzida no sul dos Estados Unidos como planta para a alimentação animal e adubação verde. Em 1897, aproximadamente 300 citricultores do Estado da Flórida plantaram mucuna para a melhoria da fertilidade do solo. BUCKLES (1995) considera que o decréscimo da área com mucuna no sul dos Estados Unidos em meados dos anos 40 foi devido à queda dos preços dos fertilizantes minerais e à popularidade dos plantios comerciais de soja.

Na América Central, na África e no Brasil utiliza-se a mucuna em alguns sistemas de cultivo agrícola. Agricultores do norte de Honduras utilizam há mais de 20 anos um sistema milho-mucuna que tem permitido obter retorno econômico com a cultura do milho em regiões de grande altitude e solos pobres. As sementes de mucuna (*M. pruriens*) são inicialmente introduzidas entre as linhas de milho, onde continuam a crescer após a colheita deste. Após a maturação das sementes a mucuna é cortada e os resíduos deixados no solo, sendo feito novo plantio de milho. Com essa prática, consegue-se aumento na produtividade, redução de custos com mão-de-obra, controle de

ervas daninhas, enquanto se promove a conservação do solo. Esta prática também é empregada na Guatemala e no México.

No oeste da África, o sistema milho-mucuna também tem sido utilizado; em campos severamente infestados por *Imperata cylindrica* e *Striga* spp., os agricultores cultivam mucuna com o objetivo de reduzir as populações dessas plantas daninhas (VISSOH et al., 1998).

A espécie *Mucuna pruriens* (L.) DC. é amplamente cultivada, sendo a única espécie sistematicamente investigada pelas suas propriedades químicas e farmacológicas. O princípio tóxico presente nas sementes da planta é o L-dopa, 3-(3,4-dihidroxifenil) alanina, um composto utilizado principalmente para tratamento dos sintomas da doença de Parkinson (LORENZETTI et al., 1998).

***Mucuna pruriens*** (L.) DC., Prodr. 2: 405 (1825)

Basiônimo: *Dolichos pruriens* L. in Stickman, Diss. Herb. Amb.: 23 (1754) & Syst. Nat., ed. 10: 1162 (1759).

Sinônimos:

*Stizolobium pruriens* (L.) Medic., in Vorles., Churpf. Phys. Ges. 2: 399 (1787).

*Mucuna prurita* Hook., Bot. Misc. 2: 348 (1831).

*Mucuna esquirolii* H. Lév., in FEDE, Repert. Nov. Sp. 7: 231 (1909).

*Carpopogon pruriens* (L.) Roxb., Fl. Indica 3: 283 (1832).

Trepadeira herbácea ou semilenhosa; caule estreitamente estriado longitudinalmente, glabro ou variavelmente piloso, pecíolos com indumento semelhante ao do caule. Folhas de tamanho muito variável acima de 46 cm long., estípulas decíduas, 3-4 x 1 mm, indumento semelhante ao do caule; folíolo terminal (8,5-) 14-16 x (4,5-) 8-10 cm, elíptico ou ovadorombóide, comprimento 1 ½ - 1 ¾ a largura, ápice agudo a arredondado, mucronado, base arredondada; folíolos laterais semelhantes ao terminal no comprimento, assimétricos, a metade abaxial 2-3 vezes a largura da metade adaxial, porção maior da base truncada a cordada; nervuras laterais 5-8, proeminentes em

ambos os lados, nervuras terciárias tenuamente reticuladas; cartáceos a coriáceos, indumento variável ou glabro; estipelas cilíndricas, 4-5 mm de comprimento. Inflorescências axilares, até 34 cm comprimento, às vezes ramificadas ao longo da ráquis ou somente nos 2/3 apicais, poucos-14 ramos laterais, ausência de brácteas e bractéolas no pedúnculo; ramos secundários reduzidos, pedicelos 2-4 mm comprimento, tricomas paleáceos, sedosos, adpressos ou crespos e alaranjados, freqüentemente com cicatrizes avermelhadas de tricomas; brácteas e bractéolas decíduas antes da antese, linear-lanceoladas a lanceoladas, raramente mais amplas ou ovadas, ápice agudo, 5-9 x 1-3 mm, indumento como o da inflorescência. Cálice cupuliforme, tubo 5-10 mm comprimento; 2 lobos amplos triangulares, 2-4 x 1,5-3,5 mm, 1 lobo inferior maior, 6-10 x 2-3 mm, geralmente o comprimento 2-3 vezes a largura dos laterais e maior que o tubo do cálice, estreitamente triangular; lábio superior levemente maior que os laterais, ápice arredondado a agudo; indumento adpresso, seríceo, tricomas curtos, paleáceos a castanhos. Corola púrpura ou branca; estandarte 1,6-2,5 cm comprimento,  $\frac{1}{2}$  -  $\frac{2}{3}$  do comprimento. Da quilha, ápice levemente fendido, base auriculada, unguiculada pubescente; alas 2-4 x 1-2 cm, menores ou do mesmo tamanho da quilha, unguícula 4 mm comprimento, aurícula 1 mm comprimento; quilha 2,8-4,2 (-4,5) cm comprimento, unguícula 5 mm comprimento, aurícula 1-2 mm comprimento. Fruto 3-6 sementes, oblongo a linear, toruloso, levemente curvo e estreito em direção ao ápice; ápice agudo, unciforme; ou fruto sigmóide, espessado na região da semente, lateralmente achatado; 5-9 x 0,8-2 x 0,5 cm, indumento tomentoso, tricomas paleáceos, sedosos; septo papiráceo, muito fino, visível externamente, nos frutos lineares, como estrias transversais; margens espessadas e estriadas ao longo da sutura. Sementes de várias cores, elípticas a oblongas, (1-) 1,3-1,7 (-2) x (-0,7) 0,9-1,3 x (0,3) 0,4-1 cm; hilo circundando  $\frac{1}{8}$  da circunferência da semente, 6 mm comprimento, arilo creme nas bordas do hilo.

Espécie amplamente cultivada nos trópicos como forrageira, apresenta ampla variação morfológica.

PIPER e TRACY (1910), com base no tipo de indumento e na coloração das sementes e flores, distinguiram oito espécies, reconhecidas

como cultivares ou variedades de *Mucuna pruriens* (WILMOT-DEAR, 1984, 1987).

Neste trabalho foram utilizados quatro lotes de sementes, identificadas vulgarmente como mucunas cinza, preta, rajada e anã, sendo estes nomes baseados na coloração da testa da semente, excetuando-se a mucuna-anã, que apresenta a coloração rajada e, portanto, pode ser diferenciada somente por seu porte anão. Estas sementes foram cultivadas, resultando em quatro populações distintas morfologicamente. Analisando estas populações, foi possível constatar que são vegetativamente semelhantes e somente a mucuna-anã pode ser diferenciada pelo porte herbáceo, bastante ramificada, formando touceiras e não trepadeira como as outras.

A cor das flores mostrou-se variável: a mucuna-cinza apresentou corola branca, enquanto as outras têm corola vinácea, embora nas mucunas rajada e anã o estandarte seja mais claro [Figura 1A (A e B)].

É na forma e no tipo de indumento dos frutos que ocorrem as principais diferenças [Figura 1A (C e D)]. As mucunas preta e cinza apresentaram frutos semelhantes, maiores, sigmóides, lateralmente achatados, estriados longitudinalmente e com indumento seríceo, adpresso, de tricomas sedosos e paleáceos; já nas mucunas rajada e anã os frutos são menores, torulosos, e as estrias ficam recobertas por um indumento denso, viloso, de tricomas retorcidos e castanho-escuros, geralmente irritantes.

As sementes [Figura 1A (E a J)], brancas na mucuna-cinza e pretas na mucuna-preta, podem variar de rajadas a brancas nas mucunas rajada e anã, não se mostrando um caráter muito consistente.

Apesar das diferenças morfológicas encontradas, nenhuma delas foi restrita ou constante o suficiente para ser considerada um caráter taxonômico no nível de espécie; por isso, taxonomistas especialistas no grupo têm considerado como uma única espécie amplamente variável morfologicamente, como acontece em outras espécies da tribo Phaseoleae, sendo o caso mais conhecido o do feijão (*Phaseolus vulgaris*). Estudos de DNA com várias populações, abrangendo essa variação morfológica, estão sendo realizados por pesquisadores norte-americanos, e espera-se que seus resultados sirvam de ferramenta para a taxonomia deste grupo complexo (Dr. David Weaver, comunicação pessoal).



Figura 1A - *Mucuna pruriens* var. *utilis*: **A-** flores brancas. **B-** flores violáceas. **C-** frutos de *M. pruriens* var. *utilis*. **D-** frutos de *M. pruriens* var. *pruriens*. **E, F, G-** sementes de *M. pruriens* var. *utilis*. **H, I, J-** sementes de *M. pruriens* var. *pruriens*.

Até o momento, os caracteres do fruto são os mais estáveis, sendo possível estabelecer dois padrões diferentes para as quatro populações estudadas. Eles coincidem com os mesmos padrões utilizados por WILMOT-DEAR (1987) para delimitar duas variedades de *Mucuna pruriens*, var. *pruriens* e var. *utilis*, descritas a seguir.

#### Var. *pruriens*

Flores púrpuras, estandarte branco a vináceo; fruto linear ca. 5-7 x 1-1,5 cm, toruloso, indumento castanho-escuro a nigrescente, denso, viloso; tricomas retorcidos, irritantes. Sementes rajadas de branco e marrom, arredondadas.

Nomes vulgares: mucuna-rajada e mucuna-anã.

Amplamente distribuída: África tropical, Madagascar, Ásia e América tropical (WILMOT-DEAR, 1984).

Material examinado: **Minas Gerais**. Viçosa, UFV: trepadeira cultivada em estufa, 11. vii. 1997 (fl.), F.C.P. Garcia 783 (VIC); Viçosa, São José do Triunfo, 17. vii. 1997 (fl.), F.C.P. Garcia 786 (VIC); Viçosa, horta nova, 25. lii. 1998 (fl.), F.C.P. Garcia 792 (VIC); Viçosa, horta nova, 25. iii. 1998 (fl.), F.C.P. Garcia 791 (VIC); Viçosa, Campus da UFV, Estufa da Fitopatologia, 05. v. 1998 (fl.), F.C.P. Garcia 794 (VIC); Viçosa, Campus da UFV, Estufa da Fitopatologia, 05. v. 1998 (fl., fr.), F.C.P. Garcia 793 (VIC).

Var. *utilis* (Wall. Ex Wight) Bak. Ex Burck. In Ann. Jard. Buitenzorg 11: 187 (1893). Tipo não indicado.

Sinônimos:

*Marcanthus cochinchinensis* Lour., Fl. Cochinch.: 461 (1790).

*Carpogon niveus* Roxb., Hort. Beng.: 54 (1814) & Fl. Ind. 3: 285: (1831).

*Mucuna capitata* Sweet, Hort. Brit. Ed. 1: 482 (1827) nom. nud.

- Carpogon capitatus* Roxb. Fl. Ind. 3: 284 (1832).
- Mucuna capitata* Wight & Arn. Prodr. 1(2): 255 (1834).
- M. nivea* (Roxb.) Wight & Arn. Prodr.: 255 (1834).
- M. utilis* Wall, Ex Wight, Ic. Pl. Ind. Or. 1: 280 (1840).
- M. velutina* Hassk., Hort. Bob.: (1834).
- M. pruriens* (L.) DC. Var. *Capitata* Burck in Ann. Jard. Buitenzorg 11: 87 (1893).
- M. martini* H. Lév, & Vaniot in Bull. Soc. Bot. France 55: 409 (1908).
- Stizolobium deeringianum* Bort in U. S. Dpt. Agric. Bur. Pl. Industry, Bull. 141: 31 pl. 2,3 (1909).
- Mucuna deeringiana* (Bort) Merr. In Philipp. J. Sci. 5: 118 (1910).
- Stizolobium utile* (Wall. Ex Wight) Piper & Tracy in U. S. Dept. Agric. Bur. Pl. Industry, Bull. 179: 14 (1910).
- S. hassjoo* Piper & Tracy in tom. Cit.: 17, Pl. 5 fig. B (1910).
- S. aterrimum* Piper & Tracy in tom. cit.: 18 (1910).
- S. velutinum* (Hassk.) Piper & Tracy tom. cit.: 20 (1910).
- Mucuna cochinchinensis* (Lour.) A. Chev. In Bull. Agr. Inst. Sci. Saigon 1: 91 (1919).
- M. atrocarpa* Metcalf in Lingnan Sci. Journ. 19: 559 (1940).
- M. hassjoo* (Piper & Tracy) Mansf. In Kulturpfl.; Beih. 7: 204 (1959).

Flores brancas ou púrpuras; frutos planos, sigmóides, lateralmente achatados, faces estriadas longitudinalmente; indumento seríceo; tricomas paleáceos, sedosos, alvos a castanho-claros, não irritantes. Sementes brancas ou negras, oblongas.

Nomes vulgares: mucuna-cinza, mucuna-preta.

Amplamente cultivada nos trópicos (WILMOT-DEAR, 1984).

Material examinado: **Minas Gerais**. Viçosa, São José do Triunfo, horta do fundão, 17. vii. 1997 (fl., fr. Sementes), F.C.P. Garcia. 784 (VIC); Viçosa, São José do Triunfo, horta do fundão, 17. vii. 1997 (fl.), F.C.P. Garcia. 785 (VIC); Viçosa, horta nova, 25. iii. 1998 (fl.), F.C.P. Garcia. 789 (VIC); Viçosa, UFV, horta nova, 25. iii. 1998 (fl.), F.C.P. Garcia. 790 (VIC); Viçosa, Estufa da

Fitopatologia, 05. v. 1998 (fl.), F.C.P. Garcia. 795 (VIC); Viçosa, UFV, Vila Gianetti, Grupo Entre Folhas, 12. iv. 2000 (fl.), A.F.Carvalho. 657 (VIC); Viçosa, UFV, Vila Gianetti, Grupo Entre Folhas, 12. iv. 2000 (fl.), A.F. Carvalho. 658 (VIC).