

**EDSON HIYDU MIZOBUTSI**

**CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA DA LINHAGEM L2300  
DE FEIJOEIRO A *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**

A Deus, por tudo.

À minha esposa Gisele.

À minha filha Laura.

## **AGRADECIMENTO**

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

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

Ao professor Silamar Ferraz, pela orientação, pelos ensinamentos e pela amizade.

Ao professor Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, pelas sugestões, pela orientação no planejamento dos trabalhos, pelo incansável apoio na redação e revisão do manuscrito e, acima de tudo, pela grande amizade.

Ao professor Sérgio Hermínio Brommonschenkel, pela orientação na realização dos experimentos de análise genética da resistência.

À Dra. Regina M.D. Carneiro, pelas sugestões para o aperfeiçoamento do manuscrito deste trabalho.

Aos professores Leandro Grassi Freitas e Rosângela D'arc Lima de Oliveira, pela amizade e pelo estímulo durante a realização do curso.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, pelos valiosos ensinamentos.

Aos meus grandes amigos, Adelica, Alessandra Boari, Regina, Ailton, Luiz Artur e José Mauro, por tudo.

Aos amigos do laboratório de nematologia e aos colegas de curso, pelo agradável convívio.

A todos os funcionários do Departamento de Fitopatologia, especialmente a Cecília, Délio, Elói e Brás, pela amizade e cooperação.

## **BIOGRAFIA**

EDSON HIYDU MIZOBUTSI, filho de Eduardo Sushamu Mizobutsi e Julia Iyda Mizobutsi, nasceu em 28 de abril de 1964, em Alvares Machado, São Paulo.

Em Janeiro de 1992, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), em Dourados, MS.

Em 1992, obteve uma bolsa de Desenvolvimento Tecnológico Industrial no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

Em março de 1994, iniciou o curso de mestrado em Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 1997, ingressou no curso de doutorado em Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

## ÍNDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	6
2.1. Produção de inóculo de <i>Heterodera glycines</i> raça 3 .....	6
2.2. Extração de cistos do solo e de fêmeas de <i>H. glycines</i> das raízes de soja.....	7
2.3. Preparo da suspensão de ovos a partir de fêmeas de <i>H. glycines</i> .....	7
2.4. Avaliação dos componentes de resistência da linhagem L2300 de feijoeiro.....	7
2.5. Influência da planta hospedeira na viabilidade do inóculo de <i>H. glycines</i> raça 3 e no tempo de sobrevivência do inóculo no solo ....	9
2.5.1. Efeito da planta em que foi multiplicado o inóculo sobre a eclosão de juvenis de <i>H. glycines</i> raça 3 .....	9
2.5.2. Efeito da planta em que foi multiplicado o inóculo sobre a penetração de juvenis de segundo estágio de <i>H. glycines</i> raça 3 em raízes de soja FT-Cristalina .....	9
2.5.3. Efeito da planta em que foi multiplicado o inóculo sobre número de fêmeas de <i>H. glycines</i> raça 3 no sistema radicular de soja FT-Cristalina .....	10
2.5.4. Avaliação do efeito da planta em que foi multiplicado o inóculo no tempo de sobrevivência dos ovos contidos nos cistos .....	11

2.6. Avaliação do efeito da linhagem L2300 de feijoeiro na redução da população de <i>H. glycines</i> comparado a diferentes hospedeiros ....	11
2.7. Reação da linhagem L2300 e do cultivar Ouro de feijoeiro a <i>H. glycines</i> raças 2, 4 e 14 .....	13
2.8. Efeito da temperatura na expressão da resistência da linhagem L2300 de feijoeiro a <i>H. glycines</i> raça 3 .....	14
2.9. Análise genética da resistência da linhagem L2300 a <i>H. glycines</i> raça 3.....	15
2.9.1. Seleção de linhas puras de feijoeiro da linhagem L2300 e da cultivar Ouro .....	15
2.9.2. Cruzamentos entre linhas puras da linhagem L2300 e da cultivar Ouro.....	16
2.9.3. Herança da resistência.....	17
2.9.3.1. Teste da hipótese de herança monogênica.....	17
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	19
3.1. Avaliação dos componentes de resistência da linhagem L2300 de feijoeiro.....	19
3.2. Influência da planta hospedeira na viabilidade do inóculo de <i>H. glycines</i> raça 3 e no tempo de sobrevivência do inóculo no solo ....	26
3.3. Redução da população de <i>H. glycines</i> com a utilização da linhagem L2300 de feijoeiro comparada a diferentes hospedeiros.....	33
3.4. Reação do feijoeiro da linhagem L2300 e da cultivar Ouro a <i>H. glycines</i> raças 2, 4 e 14.....	37
3.5. Efeito da temperatura na resistência da linhagem L2300 de feijão a <i>H. glycines</i> raça 3.....	40
3.6. Análise genética da resistência do feijoeiro da linhagem L-2300 a <i>H. glycines</i> raça 3.....	43
3.6.1. Seleção de linhas puras de feijoeiro da linhagem L-2300 e da cultivar Ouro .....	43
3.6.2. Teste da hipótese de herança monogênica .....	48
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54

## RESUMO

MIZOBUTSI, Edson Hiydu, D.S., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2001. **Caracterização da resistência da linhagem L2300 de feijoeiro a *Heterodera glycines***. Orientador: Silamar Ferraz. Conselheiros: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Everaldo Gonçalves de Barros e Sérgio Hermínio Brommonschenkel.

Para avaliar os componentes da resistência a *H. glycines* na linhagem de feijoeiro L2300, foi considerado, além do número de fêmeas/sistema radicular, o número de ovos produzidos por elas. A linhagem L2300 apresentou os menores números de fêmeas e ovos por sistema radicular e de ovos por fêmea. Também foram menores os números de cistos e ovos por cisto. A cultivar Ouro, suscetível a *H. glycines*, apresentou menor número de ovos por fêmea e menor número de cistos e de ovos por cisto em relação à soja. Compararam-se a viabilidade e o tempo de sobrevivência no solo do inóculo de *H. glycines* produzido no feijoeiro L2300 com aquele produzido na cultivar suscetível Ouro e na soja suscetível FT-Cristalina. Não se observou efeito da planta hospedeira em que foi produzido o inóculo de *H. glycines* sobre a eclosão dos juvenis nas avaliações realizadas aos dois e quatro dias após a montagem do ensaio. Observou-se menor número de juvenis e de fêmeas nas raízes de soja FT-Cristalina quando se utilizou inóculo produzido na linhagem L2300. Os cistos produzidos em feijoeiro da linhagem L2300 e na cv. Ouro

apresentaram menor sobrevivência após permanecerem no solo, sem plantas, por dezoito meses. Ao avaliar o efeito da linhagem L2300 de feijoeiro na redução da população de *H. glycines*, comparado a outras culturas, maior número de cistos foi obtido em vasos onde foram plantados a soja FT-Cristalina e o feijoeiro cv. Ouro, ambos suscetíveis ao nematóide. O número de fêmeas por sistema radicular da soja FT-Cristalina foi maior quando inicialmente foi plantado o feijoeiro suscetível, cv. Ouro. Na sucessão soja suscetível-soja suscetível, o sistema radicular foi praticamente destruído devido à alta população do nematóide, resultando em baixo número de fêmeas por sistema radicular. Avaliando-se a reação da linhagem L2300 do feijoeiro a outras raças de *H. glycines*, essa planta foi moderadamente suscetível às raças 4 e 14 e suscetível à raça 2. O efeito da temperatura na resistência da linhagem de feijoeiro L2300 foi avaliado e foi estável nas temperaturas de 22, 24 e 26°C. Maior número de fêmeas por sistema radicular da linhagem L2300 foi observado na temperatura de 30°C. No estudo da análise genética da linhagem L2300, testou-se a hipótese de herança monogênica sob diferentes graus médios de dominância (GMD). Com base nessa análise, a hipótese de herança monogênica com dominância parcial (GMD= -0,5), no sentido do menor número de fêmeas, é a mais adequada para explicar os resultados observados (P=0,69 pelo teste de qui-quadrado).

## ABSTRACT

MIZOBUTSI, Edson Hiydu, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November 2001. **Resistance characteristics of the L2300 line of dry bean to *Heterodera glycines***. Adviser: Silamar Ferraz. Committee Members: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Everaldo Gonçalves de Barros and Sérgio Hermínio Brommonschenkel.

The eggs and females numbers per root system were the criteria in a study of resistance factors in *Phaseolus vulgaris* L2300 line to *Heterodera glycines*, the soybeans cyst nematode. These numbers and those of cyst and eggs per cyst in L2300 were the lowest among tested dry bean cultivars. Although susceptible to the SCN, the Ouro dry beans cultivar allowed less eggs per female nematode, less cysts per root and less eggs per cyst than soybeans. In addition, survival time and extended viability of *H. glycines* inocula in soil were compared for the resistant L2300 dry beans line with susceptible 'Ouro' beans and susceptible 'FT-Cristalina' soybean. As indicated by juveniles counts done two and four days after the experiment began, these host plants, used as sources of inoculum, showed no effect on eggs hatching. But less juveniles and females were found in susceptible 'FT-Cristalina' when inoculum came from 'L2300' and also cysts from this line and the Ouro cv. survived less in soil kept with no plants for 18 months. Likewise, *H. glycines* population was smaller in pots in whose soil L2300 was grown instead of the susceptible 'FT-Cristalina'

and 'Ouro'. Data indicated that number of females on 'FT-Cristalina' root system increased where 'Ouro' instead of L2300 line had been the previous crop. Root system of soybeans were destroyed to such an extent in susceptible-susceptible soybeans crop successions that only a few females per soybean root system could be found eventually. When evaluated against several *H. glycines* races L2300 showed moderate susceptibility to races 4 and 14 while susceptible to race 2. L2300 resistance to the SCN showed no change at 22, 24, or 26°C, and the highest number of females per root was found at 30°C. Based on the least female numbers and at  $P=0.69$  (chi square test), the hypothesis of monogenic resistance with partial dominance ( $MGD=-0.5$ ) suits best to explain the available data.

## 1. INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos produtos agrícolas de maior importância social e econômica, pois ele e arroz são os alimentos básicos da dieta do povo brasileiro. O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial dessa leguminosa. A colheita na safra 2000/01 foi de aproximadamente 3 milhões de toneladas (BRASIL, 2001), mas a produtividade média é de apenas 600 kg por hectare (SANTOS e BRAGA, 1998; COSTA, 2000). As pragas e doenças comprometem a produtividade do feijoeiro, e as perdas causadas por fitopatógenos estão estimadas em 10% ao ano (HALL, 1991). Os nematóides estão entre os fitopatógenos que podem reduzir a produtividade de modo significativo.

No Brasil, os principais nematóides que ocorrem na cultura do feijão são os dos gêneros *Meloidogyne* (CARVALHO, 1955; LORDELLO e SANTOS, 1960; FREIRE e FERRAZ, 1977; MENTEN et al., 1980) e *Pratylenchus* (FREIRE e FERRAZ, 1977). Além desses, há relatos de feijoeiro como hospedeiro de espécies do gênero *Heterodera*: *H. schachtii* (KRUSBERG e HIRSCHMANN, 1958) e *H. humili* (SEN e JENSEN, 1969). Entretanto, para o Brasil, uma potencial ameaça à cultura do feijão é a infecção por *Heterodera glycines* Ichinohe, agente causal do nanismo amarelo da soja, também conhecido como nematóide do cisto da soja.

Esse fitoparasita foi detectado pela primeira vez no Brasil na cultura da soja, na safra de 1991/92, em Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, causando, até 1995, perdas de US\$ 150 milhões (YORINORI, 1995). Atualmente, *H. glycines* está presente em mais de 80 municípios em sete estados (MG, SP, MS, MT, GO, PR e RS), infestando mais de 2.000.000 ha (Silva,1999).

A capacidade de sobrevivência dos cistos aliada à alta variabilidade genética do patógeno fazem com que o controle da doença seja dificultado. Os cistos formados por *H. glycines* constituem uma excelente forma de sobrevivência desse nematóide. Segundo RIGGS e SCHMITT (1989), os ovos dentro dos cistos podem sobreviver por vários anos, devido, em parte, à proteção oferecida pela parede do cisto. Além disso, os cistos podem também facilitar a dispersão, a curta e longa distância, por qualquer método que envolva movimentação do solo (MENDES, 1993). Além de poder sobreviver por longos períodos de tempo, as populações de *H. glycines* podem apresentar alta diversidade genética (RIGGS et al., 1981). Apesar de a sua constatação no Brasil ser relativamente recente, já foram encontradas no País as raças 1, 2, 3, 4, 4<sup>+</sup>, 5, 6, 9, 10, 14 e 14<sup>+</sup> (NOEL et al., 1994; WAIM e SILVA, 1997; DIAS et al., 1998).

Em feijoeiro, *H. glycines* foi encontrado causando danos em cultivos comerciais nos Estados Unidos (Illinois), com sintomatologia típica daquela encontrada em soja (NOEL et al., 1982). No ano seguinte, foi relatada a ocorrência deste nematóide em cultivos de feijão no Vale de Cauca, na Colômbia (GOMEZ-TOVAR e MEDINA, 1983). Em levantamento realizado em uma área de dois mil hectares de feijoeiro sob pivô central nos municípios de Iraí de Minas, Romaria e Nova Ponte, na safra de fevereiro a maio de 1997, foi constatada a presença de vários gêneros de fitonematóides, dentre esses o nematóide de cisto da soja (ALVES e SANTOS, 1997).

A constatação de *H. glycines* em áreas de cultivo comercial de feijoeiro é preocupante, pois o patógeno pode causar perdas de produção significativas. BECKER (1997) registrou redução de 18 a 25% da produção nas cultivares Ouro e Carioca, respectivamente, devido a *H. glycines*. Este nematóide pode ser considerado um problema potencial para o feijoeiro, principalmente para

aquelas áreas onde o feijoeiro é plantado em esquema de rotação com soja ou outras culturas hospedeiras (NOEL et al., 1982). Além de perdas na cultura do feijão, o plantio dessa espécie pode contribuir para aumentar a população do nematóide e, conseqüentemente, aumentar a intensidade da doença na soja. De acordo com GARCIA et al. (1999), o cultivo de feijão na entressafra de verão, sob irrigação, é uma atividade comum em áreas da Região Centro-Oeste. No entanto, essa prática deve ser evitada em solos infestados pelo nematóide de cisto da soja, principalmente se realizada antecedendo ou sucedendo a cultura da soja.

Os métodos de controle de *H. glycines* em soja podem ser utilizados para o controle desse nematóide na cultura do feijoeiro. Os principais são: rotação de culturas (EPPS e CHAMBERS, 1965), uso de nematicidas (EPPS et al., 1981), controle biológico (HARTWIG, 1981; VAN GUNDY, 1985; STIRLING, 1991; KIM e RIGGS, 1992) e cultivares resistentes (CAVINESS, 1992).

A rotação de culturas tem demonstrado ser bastante eficiente no controle do nematóide de cisto da soja. O milho é uma das culturas mais utilizadas em rotação com a soja, pois não é hospedeira de *H. glycines* (GARCIA et al., 1999). As mucunas, mais especificamente a *Mucuna deeringiana*, também são recomendadas para o controle de fitonematóides, por reduzirem a população do patógeno (RODRIGUEZ-KÁBANA et al., 1992). Embora seja eficiente, a rotação com culturas não-hospedeiras dificilmente atende às expectativas de retorno econômico do produtor.

O uso de nematicidas é limitado devido ao seu custo elevado e efeito danoso à saúde do homem e dos animais e aos danos que causam ao ambiente. Esses produtos químicos persistem no solo, deixam resíduos nos produtos colhidos e contaminam a água do lençol freático (KERRY, 1987). No Brasil, os nematicidas existentes no mercado não têm sido utilizados no controle de *H. glycines*.

O controle biológico, mediante o uso de microrganismos, é uma alternativa para o controle de fitonematóides. Organismos como fungos, bactérias, vírus, protozoários, entre outros, têm sido identificados como parasitas ou predadores de nematóide (VAN GUNDY, 1985). Entretanto, ainda

não se obteve um eficiente agente de controle de *H. glycines* para o uso no campo.

O uso de cultivares resistentes é a maneira mais prática e econômica de controle desse nematóide. A maioria das cultivares brasileiras de *P. vulgaris* é suscetível (BECKER, 1997). Esse autor aponta a linhagem de feijoeiro L2300 como uma fonte efetiva de resistência ao nematóide, de herança aparentemente monogênica e recessiva. Entretanto, ainda são necessários estudos genéticos complementares para elucidar a herança da resistência em L2300.

A linhagem L2300 foi classificada como moderadamente resistente por apresentar o índice de fêmeas (IF) entre 10 e 25%. Entretanto, L2300 proporcionou redução no número de fêmeas e baixa porcentagem destas contendo ovos. A avaliação de resistência e suscetibilidade de genótipos de soja a *H. glycines* tem sido feita considerando-se uma única variável, que em geral é o IF, que mede o grau de suscetibilidade do hospedeiro, comparados com a cultivar suscetível padrão, "Lee". Se o IF é menor que 10%, a reação é considerada negativa, e o hospedeiro é considerado resistente. No entanto, a avaliação de resistência utilizando somente um critério de seleção, como o IF, pode resultar no descarte de materiais potencialmente resistentes. Segundo LUEDDERS (1989), provavelmente existem mais genes para resistência ao nematóide de cisto da soja do que os que já foram descritos. Entretanto, em virtude do método de classificação, materiais promissores foram eliminados dos programas de avaliação de resistência. É necessário considerar maior número de variáveis ou componentes de resistência ao se caracterizar ou quantificar a resistência de genótipos de feijoeiro.

Apesar de se tratar aparentemente de uma herança simples, a resistência de *Phaseolus* a *H. glycines* não é total e, portanto, pode ser afetada pelo ambiente. Conforme já demonstrado em outros patossistemas, a resistência ao nematóide das galhas pode ser afetada pela temperatura do solo, como no caso do tomateiro e *Meloidogyne incognita* (AMMANTI et al., 1986; CARTER, 1982; DROPKIN, 1969a) e feijão comum e *M. incognita* (FASSULOTIS et al., 1970; OMWEGA et al., 1990; MULLIN et al., 1991; SYDENHAN et al., 1997).

A estabilidade da resistência a altas temperaturas (acima de 30°C) é fator importante a ser considerado na escolha de genótipos com resistência a nematóides. Geralmente, a resistência da planta ao nematóide diminui com o aumento da temperatura (CARTER, 1982; DROPKIN, 1969a). Plantas de tomate contendo gene *Mi* conferem resistência a *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (WILLIANSOM et al., 1994), entretanto essa resistência não é eficaz em altas temperaturas (DROPIKIN, 1969b). Da mesma forma, algumas linhagens de feijão resistentes a *M. incognita*, quando submetidas a altas temperaturas, comportam-se como suscetíveis (IRIZARRY et al., 1971). A linhagem L2300 é resistente a *H. glycines* raça 3, porém não se conhece o efeito da temperatura sobre essa resistência, sendo necessários estudos para caracterizar essa possível influência.

Embora ainda não haja no Brasil registros de perdas devido a *H. glycines* em culturas do feijoeiro, deve-se iniciar um programa de melhoramento visando incorporação de resistência nas cultivares mais importantes, como forma de se antecipar ao problema e prevenir a ocorrência de prejuízos da magnitude dos observados em soja.

Para utilização de um material resistente num programa de melhoramento é desejável conhecer o potencial do(s) gene(s) de resistência e também a herança da resistência para se planejar a forma de introgressão do(s) gene(s) em cultivares comerciais. Portanto, os objetivos deste trabalho foram: caracterizar a resistência a *H. glycines* na linhagem de feijoeiro L2300, considerando, além do número de fêmeas/sistema radicular, o número de ovos produzidos por elas; comparar a viabilidade do inóculo de *H. glycines* produzidos na linhagem resistente de feijoeiro L2300 com inóculo produzido na cultivar suscetível Ouro e na soja suscetível FT-Cristalina e o tempo de sobrevivência desse inóculo no solo; avaliar o efeito da linhagem L2300 de feijoeiro na redução da população de *H. glycines* no solo, comparado a outros tratamentos; avaliar a reação da linhagem L2300 do feijoeiro a outras raças de *H. glycines*; avaliar o efeito da temperatura na expressão da resistência da linhagem de feijoeiro L2300; e verificar se a resistência da linhagem L2300 de feijoeiro é conferida por somente um gene recessivo.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado nas casas de vegetação do Departamento de Fitopatologia e no Laboratório de Controle Biológico de Fitonematóides do Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), da Universidade Federal de Viçosa .

Para a condução dos ensaios foram utilizadas a linhagem L2300 e a cultivar Ouro de feijoeiro, resistente e suscetível, respectivamente, a *H. glycines*. Esses materiais foram selecionados com base nos resultados obtidos por BECKER (1997). As sementes da cultivar Ouro foram obtidas do banco de germoplasma de feijoeiro da UFV; já as sementes da linhagem L2300 foram provenientes da EMBRAPA/CENARGEN.

### 2.1. Produção de inóculo de *Heterodera glycines* raça 3

O inóculo inicial de *H. glycines* foi obtido de amostras de solo provenientes de Nova Ponte – MG, coletadas em 1993; e mantido em vasos contendo plantas de soja FT-Cristalina, em casa de vegetação, para a multiplicação e manutenção do nematóide. Essa população foi caracterizada como pertencente à raça 3, utilizando o esquema de raça proposto por RIGGS e SCHMITT (1988).

## **2.2. Extração de cistos do solo e de fêmeas de *H. glycines* das raízes de soja**

A extração de cistos das amostras de solo foi realizada pelo método da flotação centrífuga em solução densa de sacarose (DUNN, 1969).

Para a extração das fêmeas, as raízes de soja foram retiradas cuidadosamente dos vasos e imersas em um balde com água, para eliminar o excesso de solo. A seguir, as raízes foram colocadas sobre uma peneira de 0,85 mm de abertura (20 mesh), acoplada a uma de 0,15 mm (100 mesh), e receberam um jato forte de água de torneira, para desalojar as fêmeas do sistema radicular. Os detritos retidos na peneira de 0,85 mm foram descartados, e as fêmeas retidas na peneira de 0,15 mm foram recolhidas em um béquer. Para eliminar a matéria orgânica e o solo contido nas suspensões de fêmeas, utilizou-se o método da flotação centrífuga em solução de sacarose (DUNN, 1969).

## **2.3. Preparo da suspensão de ovos a partir de fêmeas de *H. glycines***

Uma alíquota de 10 mL da suspensão de fêmeas, obtida como no item 2.2, foi colocada em um esmagador de tecidos com capacidade de 40 mL, para liberar os ovos. A suspensão resultante foi vertida sobre uma peneira de 0,075 mm de abertura (200 mesh), acoplada a uma de 0,026 mm (500 mesh). Os resíduos retidos na peneira de 0,075 mm foram descartados, e os ovos, na de 0,026 mm, foram recolhidos em um béquer. A concentração da suspensão foi estimada ao microscópio estereoscópico, utilizando-se câmara de Peters ajustada para conter 500 ovos/mL de água.

## **2.4. Avaliação dos componentes de resistência da linhagem L2300 de feijoeiro**

Sementes de feijoeiro da linhagem L2300 cv. Ouro e soja FT-Cristalina foram semeadas em bandejas plásticas contendo areia previamente tratada com brometo de metila. Após a germinação, as plântulas foram transplantadas

para vaso de argila com capacidade para 1,5 L, contendo uma mistura de solo e areia (1:1) também previamente tratada com brometo de metila. O inóculo de *H. glycines* raça 3 foi obtido de uma população mantida em casa de vegetação, como descrito no item 2.1. A suspensão de ovos utilizada no ensaio foi obtida como descrito no item 2.3. Três dias após o transplante, cada planta foi inoculada com 2.000 ovos de *H. glycines*. O ensaio foi conduzido em casa de vegetação em um delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e dez repetições. Quantificaram-se o número de fêmeas/sistema radicular, o número de ovos/sistema radicular e o número de ovos/fêmeas. As avaliações foram feitas aos 30, 40 e 50 dias após a inoculação.

As plantas foram retiradas dos vasos e as fêmeas extraídas como descrito no item 2.2. para obtenção de uma suspensão. A suspensão de fêmeas foi colocada em placa de plástico com o fundo quadriculado e o número de fêmeas foi contado ao microscópio estereoscópico. Para quantificar o número de ovos/sistema radicular, utilizou-se a mesma técnica descrita no item 2.3. Após a obtenção da suspensão de ovos, estes foram quantificados ao microscópio estereoscópico, utilizando câmara de contagem de Peters. Para quantificar o número de ovos por fêmeas, foram coletadas dez fêmeas de cada planta e colocadas sobre uma lâmina quadriculada. A cutícula do corpo da fêmea foi rompida manualmente com auxílio de um estilete para liberação dos ovos, que foram contados ao microscópio estereoscópico. Para que se pudesse quantificar o número de cistos/100 cm<sup>3</sup> de solo e o número de ovos/cistos, dez vasos de cada planta hospedeira foram mantidos até o final do ciclo da cultura. A extração dos cistos foi realizada conforme a metodologia descrita no item 2.2. Para a contagem dos cistos, a suspensão contendo os cistos foi vertida em uma placa de plástico com o fundo quadriculado e examinada ao microscópio estereoscópico. A quantificação do número de ovos/cisto foi realizada da mesma forma como descrito anteriormente para número de ovos/fêmeas. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar durante o ensaio (outubro a novembro de 2000) foram de 32,0°C e 18,0°C, respectivamente.

## **2.5. Influência da planta hospedeira na viabilidade do inóculo de *H. glycines* raça 3 e no tempo de sobrevivência do inóculo no solo**

*Heterodera glycines* raça 3 foi multiplicado em feijoeiro resistente (linhagem L2300), feijoeiro suscetível (cv. Ouro) e soja suscetível (FT-Cristalina) por três gerações consecutivas.

Para obtenção dos ovos produzidos nas diferentes plantas hospedeiras, as raízes foram cuidadosamente retiradas dos vasos e as fêmeas foram extraídas como descrito no item 2.2. As suspensões de ovos foram preparadas como descrito no item 2.3.

### **2.5.1. Efeito da planta em que foi multiplicado o inóculo sobre a eclosão de juvenis de *H. glycines* raça 3**

Para o teste de eclosão foram utilizadas placas de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo 4 mL de água destilada e um disco de papel-filtro sobre uma tela de náilon. Em cada placa foi adicionado 1 mL de suspensão com 500 ovos produzidos nas diferentes hospedeiras, e as placas foram mantidas à temperatura constante de 24°C, no escuro. Dois e quatro dias após a montagem do ensaio contou-se, sob microscópio estereoscópico, o número de juvenis eclodidos. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e dez repetições.

### **2.5.2. Efeito da planta em que foi multiplicado o inóculo sobre a penetração de juvenis de segundo estágio de *H. glycines* raça 3 em raízes de soja FT-Cristalina**

Sementes de soja FT-Cristalina foram semeadas em bandejas plásticas contendo areia previamente tratada com brometo de metila. Após a germinação, as plântulas com aproximadamente 5 cm de altura foram transplantadas para copos plásticos (uma planta/copo) com capacidade para 400 mL, contendo 350 mL de areia previamente tratada com brometo de metila. Dois dias após o transplântio foi adicionada em cada copo uma suspensão contendo 2.000 ovos de *H. glycines* raça 3. Os copos foram mantidos em casa

de vegetação e, após 10 dias, as plantas foram retiradas dos copos e o sistema radicular foi submetido ao método de coloração de nematóides em tecido de planta (BYRD et al., 1983). A seguir, quantificou-se o número de juvenis que penetraram nas raízes utilizando microscópio estereoscópico. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar durante o ensaio (outubro de 2000) foram de 32,0°C e 19,0°C, respectivamente. A média da temperatura do solo nas horas mais quente do dia foi de 23°C.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e seis repetições.

### **2.5.3. Efeito da planta em que foi multiplicado o inóculo sobre número de fêmeas de *H. glycines* raça 3 no sistema radicular de soja FT-Cristalina**

Para avaliar o desenvolvimento de *H. glycines* raça 3 nas raízes de soja foram utilizados vasos de argila com capacidade de 1,5 L contendo uma mistura de solo e areia (1:1), previamente tratada com brometo de metila. Plântulas de soja FT-Cristalina de aproximadamente 5 cm de altura foram transplantadas para os vasos. Após dois dias procedeu-se à inoculação de 2.000 ovos/planta, utilizando-se a suspensão de ovos provenientes dos feijoeiros L2300, Ouro e soja FT-Cristalina obtidos como descrito no item 2.3. As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação. Trinta dias após a inoculação, quantificou-se o número de fêmeas por sistema radicular. A extração das fêmeas foi feita como descrito no item 2.2. O delineamento empregado foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e dez repetições. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar durante o ensaio (outubro a novembro de 2000) foram 32,0°C e 18,0°C, respectivamente.

A repetição do experimento foi conduzida nas mesmas condições anteriores, no período de novembro a dezembro de 2000. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar durante o ensaio foram de 34,0°C e 21,0°C, respectivamente.

#### **2.5.4. Avaliação do efeito da planta em que foi multiplicado o inóculo no tempo de sobrevivência dos ovos contidos nos cistos**

*Heterodera glycines* raça 3 foi multiplicado em feijoeiro da linhagem L2300, cv. Ouro e na soja FT-Cristalina, para obtenção de cistos. Ao final do ciclo da cultura, os cistos foram extraídos do solo utilizando-se a mesma metodologia descrita no item 2.2. A seguir, os cistos obtidos foram colocados em vasos de argila de 1,5 L contendo solo e areia (1:1), previamente esterilizado com brometo de metila. Cada vaso recebeu 20 cistos produzidos na linhagem L2300, cv. Ouro e na soja, os quais possuíam em média 23,0, 137,0 e 325,0 ovos/cistos, respectivamente. Após a infestação do solo com os cistos, trinta vasos receberam uma plântula de soja da cv. FT-Cristalina e após 30 dias avaliou-se o número de fêmeas/sistema radicular. Para avaliação da sobrevivência aos 17 meses trinta vasos foram mantidos em casa de vegetação sem planta e sem irrigação. Posteriormente, cada vaso recebeu uma plântula de soja FT-Cristalina e, após 30 dias, avaliou-se o número de fêmeas/sistema radicular. A sobrevivência foi calculada como: (número de fêmeas obtidas aos 18 meses/número de fêmeas obtidas aos 30 dias)x100. O experimento foi montado em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, com três tratamentos e dez repetições, no período de novembro de 1999 a junho de 2001.

#### **2.6. Avaliação do efeito da linhagem L2300 de feijoeiro na redução da população de *H. glycines* comparado a diferentes hospedeiros**

As culturas testadas foram: soja cv. FT-Cristalina, soja cv. Liderança, feijão linhagem L2300, feijão cv. Ouro, mucuna-anã (*Mucuna deeringiana*) e milho.

Com o objetivo de obter cistos como fonte de inóculo, plantou-se soja FT-Cristalina em vasos contendo como substrato uma mistura de solo e areia (1:1), previamente tratado com brometo de metila e dois dias após o transplântio, as plantas foram inoculadas com 2.000 ovos de *H. glycines* raça 3 obtidos de uma população como descrito no item 2.1 e preparados como no item 2.3. Após 90 dias, retirou-se, de cada vaso, uma amostra de 100 cm<sup>3</sup> de

solo para quantificar o número de cistos. A extração de cistos foi realizada de acordo com o método descrito no item 2.2. A avaliação foi feita ao microscópio estereoscópico, quantificando-se o número de cistos presentes em cada amostra, conforme descrito no item 2.4. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar registradas durante esse período (setembro a dezembro de 1999) foram de 34,0°C e 19,0°C, respectivamente.

As sementes das plantas testadas foram semeadas em bandejas plásticas contendo, como substrato, areia previamente tratada com brometo de metila. Após a germinação, as plântulas foram transplantadas para os vasos contendo solo infestado com cistos de *H. glycines*. Após 90 dias, foi avaliado o número de cistos presentes em cada vaso, utilizando o método descrito no item 2.4. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar registradas durante esse período (fevereiro a maio de 2000) foram de 39,0°C e 21,0°C, respectivamente.

A seguir todos os vasos receberam uma planta de soja da cv. FT-Cristalina e, após 30 dias, quantificou-se o número de fêmeas por sistema radicular, procedendo-se da mesma forma como descrito no item 2.4. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar registradas durante esse período (maio a junho de 2000) foram de 25,03°C e 18,27°C, respectivamente.

A repetição do experimento foi conduzida nas mesmas condições anteriores, no período de agosto a dezembro de 2000, entretanto, o inóculo inicial utilizado foram cistos obtidos de solo infestado. Foi quantificado o número de cistos nesse solo e cada vaso recebeu em média 200 cistos. Quantificou-se também o número de ovos/cisto que, em, média foi de 285,7 ovos. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar durante o ensaio foram de 32,0°C e 18,0°C, respectivamente, e a média da temperatura do solo registrada nas horas mais quente do dia foi de 23,0°C.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e dez repetições.

## **2.7. Reação da linhagem L2300 e do cultivar Ouro de feijoeiro a *H. glycines* raças 2, 4 e 14**

Os inóculos de *H. glycines* raças 2, 4 e 14 utilizados no teste foram provenientes da Embrapa Soja - PR. O solo infestado foi colocado em vasos plásticos, que receberam uma planta de soja das cultivares Bedford, Centenial e Sharkey, que são recomendadas para a multiplicação dessas respectivas raças. Esses vasos foram mantidos em casa de vegetação por um período de quatro anos. As plantas foram renovadas sempre que necessário.

Para a montagem do ensaio, plantas das cultivares Bedford, Centenial e Sharkey com 30 dias de idade foram retiradas dos vasos para extração das fêmeas e posterior extração dos ovos utilizando os mesmos procedimentos descritos nos itens 2.2 e 2.3.

O primeiro ensaio foi realizado somente com *H. glycines* raça 4. Pelo fato de a identidade das raças 2 e 14 não ter sido confirmada no teste com as plantas diferenciadoras de raças, estas não foram incluídas neste primeiro ensaio.

As sementes de soja (PI90763, PI88788, Pickett, Peking e Lee) e de feijão (linhagem L2300 e cv. Ouro) foram semeadas em bandejas plásticas contendo areia previamente tratada com brometo de metila. Após a germinação, as plântulas com aproximadamente 5 cm de altura foram transplantadas para vasos de argila (1,5 L) contendo uma mistura de solo e areia (1:1), previamente tratada com brometo de metila. Três dias após o transplante, cada planta foi inoculada com 2.000 ovos/planta. Decorridos 30 dias da inoculação, quantificou-se o número de fêmeas por sistema radicular das plantas. A extração das fêmeas foi feita como descrito no item 2.2 e calculou-se o Índice de Fêmeas (IF) para cada planta. Para a soja, o IF foi calculado como: (número de fêmeas na planta-teste/número de fêmeas da cv. Lee)x100, e para o feijão, IF = (número de fêmeas na planta-teste/número de fêmeas da cv. Ouro)x100. Utilizando-se o esquema de classificação de resistência de genótipo de feijoeiro (BECKER e FERRAZ, 2000), os resultados dos IFs obtidos para os feijoeiros foram enquadrados nas seguintes classes: resistente: 0-9%; moderadamente resistente: 10-25%; e

moderadamente suscetível: 26-50%. As plantas que apresentaram IF acima de 50% foram classificadas como suscetíveis.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em delineamento inteiramente casualizado, com sete tratamentos e dez repetições. As médias das temperaturas máxima e mínima durante o ensaio (março a abril de 2000) foram de 31,8°C e 21,2°C, respectivamente.

A repetição do experimento foi feita utilizando-se o mesmo procedimento descrito anteriormente no período de fevereiro a março de 2001. No entanto, neste ensaio, além da raça 4 utilizada no primeiro ensaio, foram incluídas as raças 2 e 14 de *H. glycines*. As médias das temperaturas máxima e mínima do ar durante o ensaio foram de 32,0°C e 21,0°C, respectivamente.

### **2.8. Efeito da temperatura na expressão da resistência da linhagem L2300 de feijoeiro a *H. glycines* raça 3**

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento com temperaturas constantes de 22,0°C, 26,0°C e 30,0°C e em casa de vegetação, em que as médias das temperaturas máxima e mínima do ar registradas durante o ensaio (janeiro a fevereiro de 2000) foram de 33,0°C e 20,0°C, respectivamente. A média da temperatura do solo nas horas mais quentes do dia dos vasos mantidos em casa de vegetação foi de 24,0°C.

Sementes de feijoeiro da linhagem L2300 e da cv. Ouro foram semeadas em bandejas plásticas contendo areia previamente tratada com brometo de metila. Após a germinação, as plântulas foram transplantadas para vasos plásticos contendo uma mistura de solo e areia (1:1), também previamente tratada. As plantas foram mantidas nas diferentes temperaturas e, após três dias, cada planta foi inoculada com suspensão de 2.000 ovos de *H. glycines*, preparada como descrito no item 2.3. A temperatura do solo dos vasos mantidos na câmara de crescimento foi verificada diariamente, para certificar se a temperatura do ar era semelhante à do solo. A água utilizada para irrigar as plantas mantidas na câmara de crescimento era deixada no interior da câmara para que a temperatura fosse semelhante à temperatura do ar. Dessa forma, procurou-se evitar oscilações na temperatura do solo contido

nos vasos. Trinta dias após a inoculação, as plantas foram retiradas dos vasos e as fêmeas foram extraídas conforme a técnica descrita no item 2.2. A seguir, quantificou-se o número de fêmeas por sistema radicular com o auxílio do microscópio estereoscópico. O número de fêmeas foi transformado para Índice de Fêmeas, semelhante ao descrito no item 2.7.

## **2.9. Análise genética da resistência da linhagem L2300 a *H. glycines* raça 3**

### **2.9.1. Seleção de linhas puras de feijoeiro da linhagem L2300 e da cultivar Ouro**

No período de janeiro a novembro de 1998, três ciclos de autofecundações foram realizados visando selecionar linhas puras dentro da linhagem L2300 e da cv. Ouro. Para isso, em vasos contendo 4,0 kg de uma mistura de solo e areia (3:1), previamente tratada com brometo de metila, foram cultivadas 20 plantas de feijoeiro da cv. Ouro e 20 plantas da linhagem L2300. As sementes de cada planta foram colhidas separadamente. A seguir, por três ciclos, uma semente de cada linha foi semeada e colheram-se as suas descendentes, que foram armazenadas em geladeira para uso posterior.

A partir das sementes obtidas na terceira geração, dez sementes de cada linha (20 linhas da cv. Ouro e 20 linhas da linhagem L2300) foram semeadas em bandejas contendo areia previamente tratada com brometo de metila. Quando o comprimento da radícula atingiu 20-30 mm, as plântulas foram transplantadas para vasos de argila (1,5 L) contendo uma mistura de solo e areia (1:1) previamente tratada. Para superestimar a reação das linhas a serem testadas, cada planta recebeu, dois dias após o transplântio, 4 mL de suspensão de inóculo (4.000 ovos/planta), preparada como descrito no item 2.3. A suspensão foi colocada junto à raiz, em dois orifícios abertos no solo com um bastão de vidro. O delineamento empregado foi o inteiramente casualizado, com 40 tratamentos e 10 repetições.

Trinta dias após a inoculação, as raízes das plantas foram cuidadosamente separadas do solo e lavadas para extração de fêmeas, seguindo-se a metodologia descrita no item 2.2. A seguir, quantificou-se o

número de fêmeas por sistema radicular com auxílio de microscópio estereoscópico. As médias das temperaturas máximas e mínimas do ar durante o ensaio (janeiro a fevereiro de 1999) foram 34,0°C e 21,0°C, respectivamente.

A escolha de plantas da linha da linhagem L2300 (L3, L4 e L12) e da linha da cv. Ouro (O4, O6 e O7) que foram submetidas à nova inoculação foi baseada no menor e maior número de fêmeas por sistema radicular, respectivamente. O experimento foi montado de acordo com o descrito anteriormente, com a diferença de que neste experimento foram utilizados 2.000 ovos por planta (4 mL de suspensão com 500 ovos/mL).

Decorridos 30 dias da inoculação, as plantas foram retiradas e as fêmeas extraídas seguindo-se a mesma técnica descrita no item 2.2. As variáveis avaliadas foram: número de fêmeas/sistema radicular, número de ovos/sistema radicular e número de ovos/fêmeas. O delineamento empregado foi o inteiramente casualizado, com seis tratamentos e dez repetições. As médias das temperaturas máximas e mínimas do ar durante o ensaio (abril a maio de 1999) foram de 33,0°C e 21,0°C, respectivamente. A média da temperatura do solo nas horas mais quente do dia foi de 22,0°C.

### **2.9.2. Cruzamentos entre linhas puras da linhagem L2300 e da cultivar Ouro**

Com base nos resultados obtidos no item 2.9.1, a linha L12 da linhagem L2300, que apresentou o menor número de fêmeas por sistema radicular, foi selecionada como genitor resistente, e a linha O6 da cv. Ouro, que apresentou maior número de fêmeas por sistema radicular, foi selecionada como genitor suscetível.

Os cruzamentos foram realizados de acordo com a técnica de Bliss, como descrito por BECKER (1997), que consiste em realizar a emasculação imediatamente antes da polinização, para evitar ao máximo a contaminação com pólen indesejável. A técnica de Bliss proporciona maior número de sementes híbridas por vagem, menor taxa de autofecundação e maior eficiência estimada pelo número de vagens produzidas na hibridação artificial (ANTUNES et al., 1980).

Os cruzamentos para obtenção da população F1 foram realizados em casa de vegetação no período de julho a setembro de 1999. Foram utilizadas dez plantas da linha O6 do cv. Ouro (genitor feminino) e dez da linha L12 da linhagem L2300 (genitor masculino), mantidas em vasos plásticos contendo 4,0 kg da mistura de solo, areia e esterco de curral (3:1:1), previamente tratada com brometo de metila. Parte das sementes F1 foi plantada no período de outubro a dezembro de 1999 para obtenção, por autofecundação, de sementes F2.

### **2.9.3. Herança da resistência**

Duzentas e duas plantas da população F2 e 40 plantas da população F1 e 20 plantas dos genitores (L12 e O6) foram inoculadas com uma suspensão de 2.000 ovos de *H. glycines* raça 3 por planta, que foi colocada em dois orifícios abertos ao lado do coleto de cada planta. Decorridos 30 dias, as plantas foram retiradas dos vasos e os sistemas radiculares lavados, para extração das fêmeas. A contagem do número de fêmeas por sistema radicular foi feita em microscópio estereoscópico, utilizando-se uma placa quadriculada.

As médias das temperaturas máxima e mínima do ar durante o ensaio (janeiro a fevereiro de 2001) foram de 32,3°C e 21,0°C, respectivamente.

#### **2.9.3.1. Teste da hipótese de herança monogênica**

Os dados obtidos no item 2.9.3, para número de fêmeas por sistema radicular, observados nas plantas das diferentes gerações estudadas, foram utilizados para verificação da hipótese de herança monogênica sob diferentes graus médios de dominância presumidos (GOMES et al., 2000).

A distribuição de frequência de plantas de cada geração, quanto ao número de fêmeas por sistema radicular, foi determinada para cada população. Escolheu-se um ponto de truncagem (PT), abaixo do qual se situasse a maioria das plantas do genitor P1(L12 - resistente) e acima do qual se situasse a

maioria das plantas do genitor P2 (O6 - suscetível). No caso em questão, a média do número de fêmeas entre P1 e P2  $((P1+P2)/2)$  foi escolhida como ponto de truncagem (PT=20). Foi testada a hipótese de herança monogênica sob vários graus médios de dominância (GMD) presumidos, conforme descrito por GOMES et al. (2000).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Avaliação dos componentes de resistência da linhagem L2300 de feijoeiro

O índice de fêmeas foi menor na linhagem L2300 que na cv. Ouro nas avaliações realizadas aos 30, 40 e 50 dias após a inoculação (Quadro 1). Na análise do efeito dos tratamentos dentro dos tempos de 30, 40 e 50 dias, os valores de número de fêmeas na linhagem L2300 foram inferiores ( $p < 0,05$ ) aos observados na cv. Ouro e soja FT-Cristalina (Figura 1). A resistência da linhagem L2300 manteve-se estável mesmo quando as avaliações foram realizadas aos 40 e 50 dias após a inoculação. Aos 30 dias, a cv. Ouro apresentou número de fêmeas/sistema radicular superior ao da linhagem L2300. Não houve diferença quanto ao número de fêmeas por sistema radicular entre a cv. Ouro e soja. Numericamente, o valor dessa variável foi maior na cv. Ouro que em soja, provavelmente pelo fato de muitas espécies de *Phaseolus* apresentarem sistema radicular mais extenso e com maior taxa de crescimento do que o sistema radicular de soja, suportando, desse modo, maior número de nematóides nas raízes (BECKER, 1997; ABAWI e JACOBSEN, 1984).

Nas avaliações realizadas aos 40 e 50 dias, observou-se aumento no número de fêmeas nas raízes de soja e decréscimo nas raízes das plantas da

Quadro 1 - Média do índice de fêmeas (IF) na linhagem L2300 e na cultivar Ouro de feijoeiro e a reação dessas plantas a *Heterodera glycines* raça 3

Avaliações (Dias após inoculação)	Tratamento	Média* IF	Reação
30	L2300	21,25 ( $\pm 10,14$ )**	S
30	Ouro	100,00 ( $\pm 45,86$ )	S
40	L2300	28,56 ( $\pm 15,71$ )	S
40	Ouro	100,00 ( $\pm 37,26$ )	S
50	L2300	28,20 ( $\pm 13,81$ )	S
50	Ouro	100,00 ( $\pm 46,09$ )	S

\*Média de dez repetições. \*\* (desvio-padrão).

IF=[(número de fêmeas na raiz da planta em teste)/(média observada na cv. Ouro)]x100; R=IF<10%; S= IF>10%.

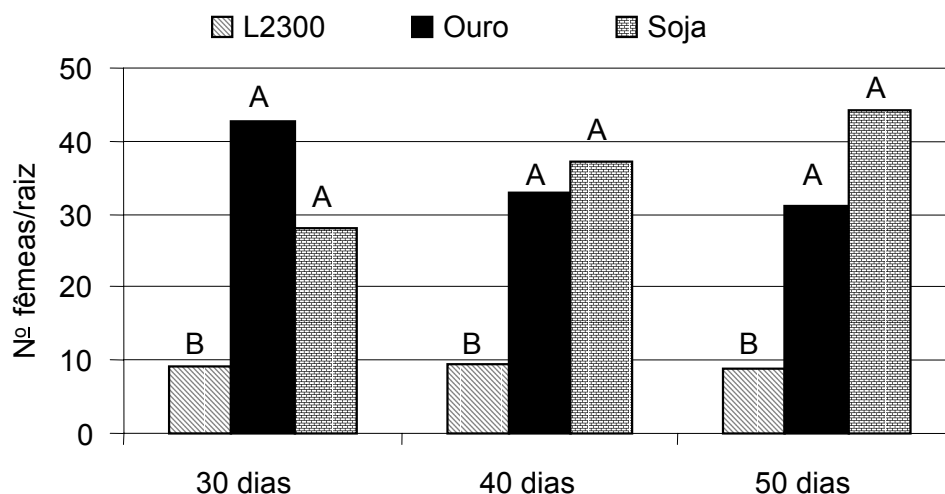


Figura 1 - Número de fêmeas por sistema radicular de feijoeiro da linhagem L2300 e da cv. Ouro e de soja FT-Cristalina inoculadas com ovos de *Heterodera glycines* raça 3, avaliado aos 30, 40 e 50 dias após a inoculação. Médias dos tratamentos seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, quando comparadas numa dada época de avaliação.

cv. Ouro (Figura 1). Entretanto, na linhagem L2300 praticamente não houve diferença no número de fêmeas aos 30, 40 e 50 dias (Figura 1). O aumento do número de fêmeas em soja aos 40 e 50 dias foi devido à ocorrência de mais de uma geração do nematóide, que apresenta desenvolvimento rápido nesta espécie vegetal. A partir de 13 a 15 dias após a inoculação, ACEDO et al. (1984) já observaram fêmeas com ovos nas raízes de soja, e após 22 dias observaram muitos ovos na matriz gelatinosa externa. Portanto, 40 ou 50 dias são suficientes para que ocorra mais de um ciclo do parasito em soja.

Nas raízes do feijoeiro da cv. Ouro e da linhagem L2300, os resultados sugerem que o ciclo do nematóide foi mais longo. BECKER (1997) observou fêmeas férteis na cv. Ouro, com ovos já desenvolvidos presentes no seu interior, somente no vigésimo dia após a inoculação e que aos 35 dias após a inoculação havia 97% de fêmeas férteis. Na cultivar Ouro, as fêmeas encontradas aos 40 dias apresentavam coloração marrom-escura, característica de fêmeas mais velhas; em soja, fêmeas desse tipo foram encontradas aos 30 dias.

A redução do número de fêmeas no sistema radicular da cv. Ouro na avaliação realizada aos 40 dias poderia ser devido ao fato de que as primeiras fêmeas que se desenvolveram já haviam se convertido em cistos e se desligado da raiz, porém novas fêmeas ainda não estavam formadas. Para corroborar essa afirmação seria necessário quantificar o número de cistos e o número de fêmeas maduras no solo. Entretanto, como a avaliação do número de fêmeas/sistema radicular é feita lavando-se as raízes, essas variáveis não foram quantificadas. Na avaliação aos 50 dias, o número reduzido de fêmeas encontradas na cv. Ouro pode ser explicado pelo não-desenvolvimento de novas fêmeas. Apesar de terem ocorrido infecções secundárias a partir de juvenis de segundo estágio provenientes dos cistos formados aos 40 dias, o intervalo de dez dias foi curto para que tenha havido formação de novas fêmeas. São necessários, no mínimo, 15 dias para que se observem fêmeas parasitando raízes da cv. Ouro, após uma inoculação (BECKER, 1997).

Na avaliação do número de ovos/sistema radicular não houve diferença ( $P < 0,05$ ) entre a cv. Ouro e a soja nas três datas avaliadas (Figura 2).

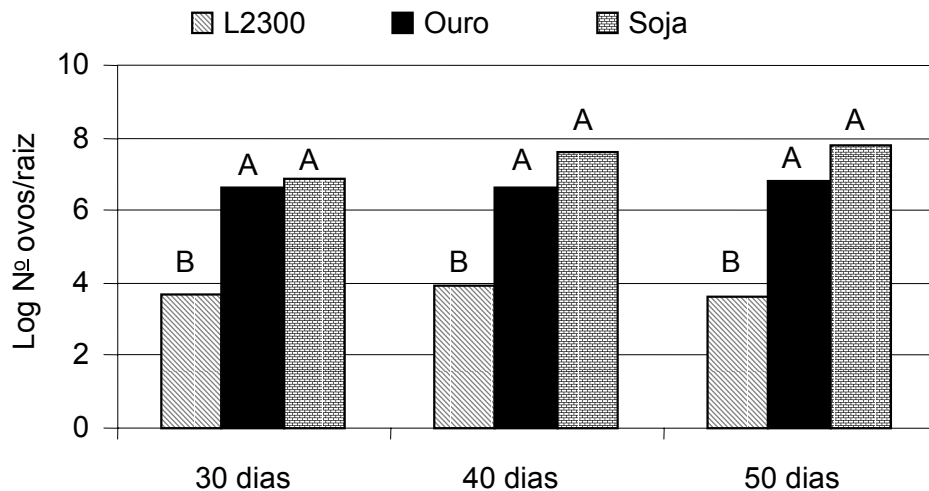


Figura 2 - Número de ovos por sistema radicular de feijoeiro da linhagem L2300 e da cv. Ouro e de soja FT-Cristalina inoculados com ovos de *Heterodera glycines* raça 3, avaliado aos 30, 40 e 50 dias. Médias dos tratamentos seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey dentro de uma data de avaliação.

O número de ovos por fêmeas na linhagem L2300 e na cv. Ouro foram menores do que o da soja nos tempos de 30, 40 e 50 dias (Figura 3). No entanto, a cv. Ouro apresentou maior número de ovos por fêmeas do que a linhagem L2300 (Figura 3).

O menor número de ovos por fêmea e, conseqüentemente, menor número de ovos por sistema radicular, observado na linhagem L2300 de feijoeiro, é resultado do tipo de resistência apresentada por essa planta. Possivelmente, a resistência da linhagem L2300 está relacionada com a limitação de ordem nutricional ou fatores bioquímicos necessários para o pleno desenvolvimento do síncito (BECKER et al., 1999).

A qualidade do nutriente é muito importante e provavelmente influencia diretamente a bioquímica e a fisiologia do nematóide (COOK et al., 1992). Lipídios e carboidratos são as principais fontes de reserva para os fitonematóides (BARRET, 1981). A diminuição da infectividade dos fitonematóides é associada com a diminuição na reserva de lipídios (VAN

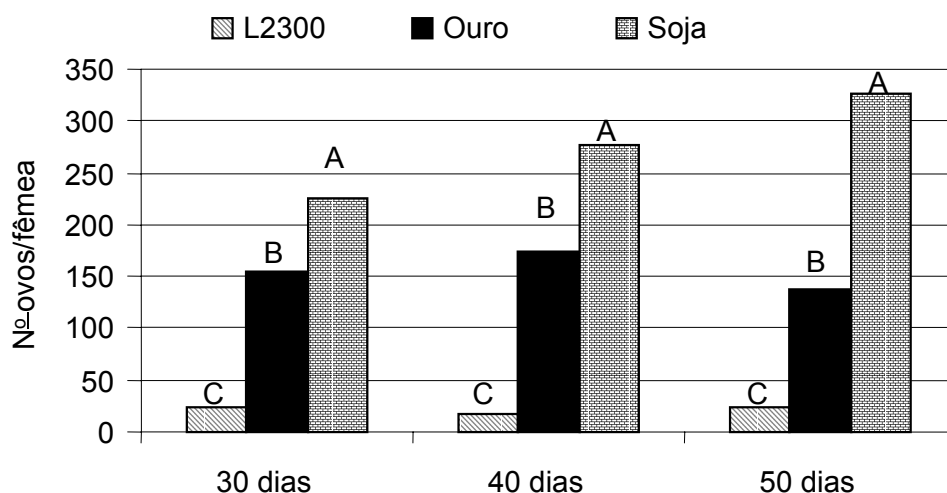


Figura 3 - Número de ovos por fêmea multiplicada no feijoeiro da linhagem L2300 e da cv. Ouro e na soja FT-Cristalina, avaliado aos 30, 40 e 50 dias. Médias dos tratamentos seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey dentro de uma data de avaliação.

GUNDY et al., 1967; STOREY, 1984; ROBINSON et al., 1985; WRIGHT et al., 1989), por afetar a mobilidade dos fitonematóides (VAN GUNDY et al., 1967), provavelmente ocasionando redução na penetração nas raízes.

Segundo ISHIBASHI et al. (1973), plantas de soja que foram submetidas a distúrbios fisiológicos promoveram redução do número de ovos e do tamanho da matriz gelatinosa das fêmeas de *H. glycines*. HALBRENDT et al. (1992) encontraram fêmeas de *H. glycines* de menor tamanho em cultivares resistentes de soja, quando comparadas àquelas presentes nas raízes das cultivares suscetíveis.

A quantificação do número de cistos/100 cm<sup>3</sup> de solo ao final do ciclo da cultura demonstrou que os feijoeiros da linhagem L2300 e da cv. Ouro apresentaram menor número de cistos, comparados à soja, nas avaliações realizadas aos 30, 40 e 50 dias (Figura 4). Menor número de ovos/cisto foi observado na linhagem L2300 (Figura 5). O menor número de cistos encontrado na linhagem L2300 e na cv. Ouro, comparado à soja, foi decorrente

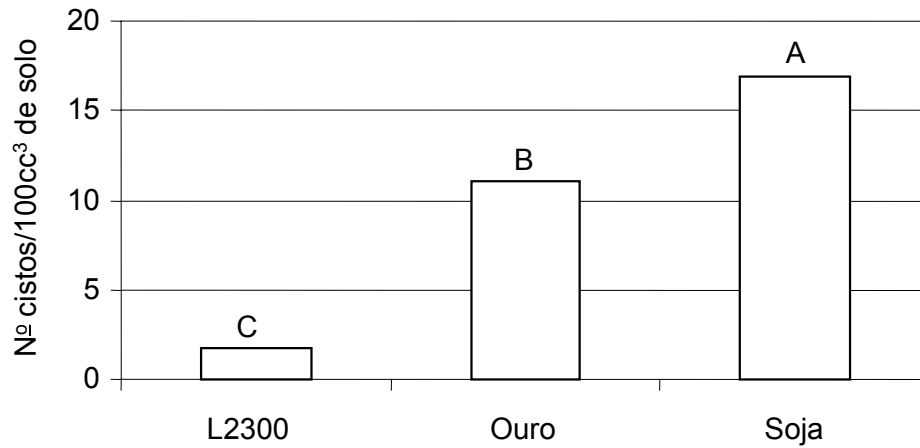


Figura 4 - Número de cistos de *Heterodera glycines* em 100 cm<sup>3</sup> de solo quantificado ao final do ciclo de feijoeiro da linhagem L2300, cv. Ouro e de soja FT-Cristalina. Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

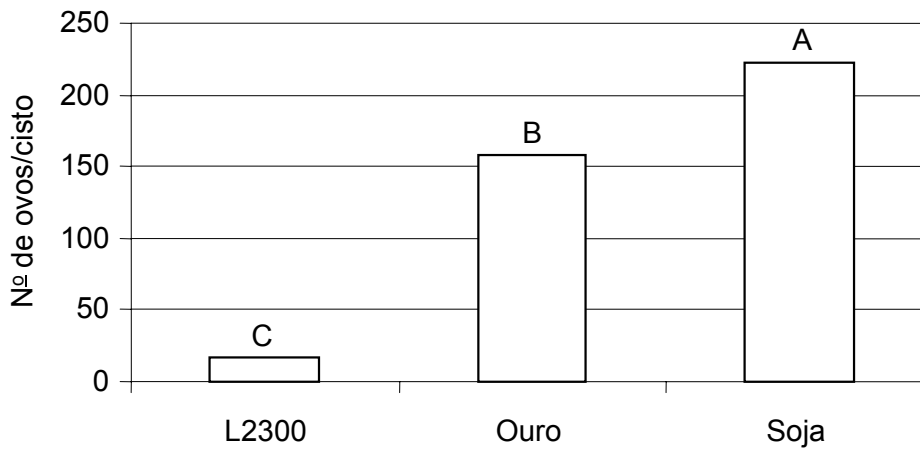


Figura 5 - Número de ovos por cisto de *Heterodera glycines* extraído do solo ao final do ciclo da planta de feijoeiro da linhagem L2300, cv. Ouro e soja FT-Cristalina. Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

da redução do número de fêmeas formadas nas raízes dessas plantas. Os feijoeiros Ouro e, principalmente, L2300 retardam o desenvolvimento do nematóide (BECKER, 1997).

A avaliação de resistência de genótipos de soja ou de feijão a *H. glycines* tem sido feita considerando-se uma única variável, o índice de fêmeas. No entanto, a avaliação de resistência utilizando somente um critério de seleção pode ocasionar a perda de materiais com potencial de controle do nematóide, a exemplo do que ocorreu com o genótipo de soja PI88788. Embora PI88788 tenha reação de suscetibilidade à raça 4 no teste com as diferenciadoras, é reconhecidamente uma das melhores fontes de resistência, inclusive a essa raça. O IF de PI88788 para a raça 3 está acima de 10%, muito próximo ao limite entre resistência e suscetibilidade (NIBLACK, 1992), porém outros atributos, como redução do tamanho e da fertilidade das fêmeas, contribuem para a resistência a *H. glycines*.

A resistência da linhagem L2300 a *H. glycines* não é resultado apenas do menor número de fêmeas por sistema radicular, mas também da baixa fertilidade destas. O número de ovos por sistema radicular e o número de ovos por fêmea são evidências da menor fertilidade e seriam variáveis úteis na avaliação de resistência. É possível, que com a utilização de mais de um critério para seleção de genótipos resistentes, houvesse menor descarte de materiais promissores.

Para a avaliação da resposta de plantas a nematóides, duas variáveis devem ser quantificadas: a reprodução do nematóide e o dano causado por ele (JONES, 1956). Para o nematóide das galhas do gênero *Meloidogyne* a eficiência da planta hospedeira é medida pelo Índice de Galhas (IG), número de massas de ovos/g de raiz, fêmeas/g de raiz, ovos/g de raiz ou índice de reprodução (número de ovos que se desenvolveram na cultivar resistente como percentagem daquele desenvolvido sobre a cultivar suscetível) (FASSULIOTIS, 1967; VEECH, 1981). Em altas populações do nematóide, dependendo da cultura, pode não haver formação de galhas, porém as massas de ovos podem aparecer tardiamente. Portanto, se a avaliação é baseada somente no índice de galhas ou massa de ovos antes dos 50 dias, o resultado pode ser interpretado de maneira errônea. Em trabalhos de seleção de genótipos de feijoeiro para resistência a *H. glycines*, seria interessante quantificar, além do

IF, as variáveis número de ovos por sistema radicular e número de ovos por fêmea.

### **3.2. Influência da planta hospedeira na viabilidade do inóculo de *H. glycines* raça 3 e no tempo de sobrevivência do inóculo no solo**

Houve efeito da planta hospedeira em que foi multiplicado o inóculo sobre o número de juvenis de *H. glycines*. Na avaliação da eclosão após dois dias, havia menor número de juvenis de segundo estágio (J2) eclodidos em L2300 que na cv. Ouro ou em soja (Figura 6). Não houve diferença do número de J2 na cv. Ouro e soja. Aos quatro dias, não se observou diferença entre as plantas hospedeiras em que foi multiplicado o inóculo, quanto ao número de J2 (Figura 6). Observou-se maior número de J2 ativos em inóculos produzidos em soja cv. FT-Cristalina e feijoeiro da cv. Ouro. No inóculo produzido na linhagem L2300 a maioria dos J2 estava inativa.

Quanto à penetração de J2 em raízes de soja cv. FT-Cristalina, o inóculo produzido na linhagem L2300 não diferiu daquele produzido na cultivar Ouro ou em soja FT-Cristalina. De modo semelhante, o inóculo produzido na cultivar Ouro não diferiu do inóculo produzido em soja FT-Cristalina (Figura 7).

Na avaliação do desenvolvimento do nematóide nas raízes de soja FT-Cristalina, não se observou diferença estatística entre o inóculo produzido na linhagem L2300 e na cultivar Ouro. Entretanto, o número de fêmeas de *H. glycines* em raízes de soja FT-Cristalina foi menor quando o inóculo foi produzido na linhagem L2300 do que quando na cv. Ouro (Figura 8).

Na repetição do experimento, o número de juvenis eclodidos, aos dois dias, do inóculo produzido em L2300 não diferiu daquele produzido em Ouro nem do inóculo produzido em soja, mas houve diferença entre o inóculo produzido na cv. Ouro e aquele produzido em soja (Figura 9). Na avaliação feita aos quatro dias, não houve diferença estatística entre os tratamentos (Figura 9). Semelhante ao primeiro ensaio, após quatro dias não se observaram J2 ativos na linhagem L2300.

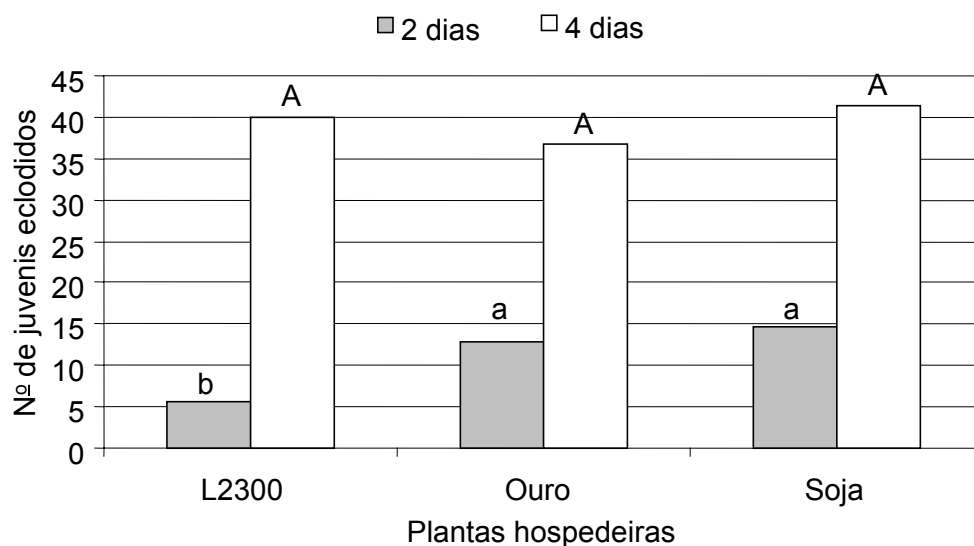


Figura 6 - Efeito da planta hospedeira em que foi multiplicado o inóculo sobre o número de juvenis de *Heterodera glycines* avaliado aos dois e quatro dias após a montagem do ensaio. Dentro de cada época avaliada, as médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Fisher LSD.

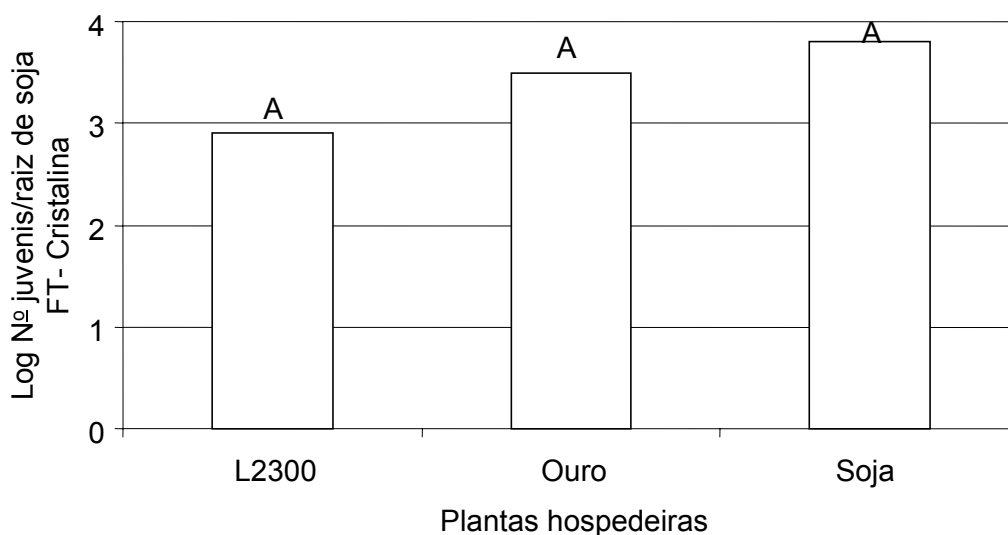


Figura 7 - Efeito da planta hospedeira em que foi multiplicado o inóculo na penetração de juvenis de *Heterodera glycines* em raízes de soja FT- Cristalina. Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Fisher LSD.

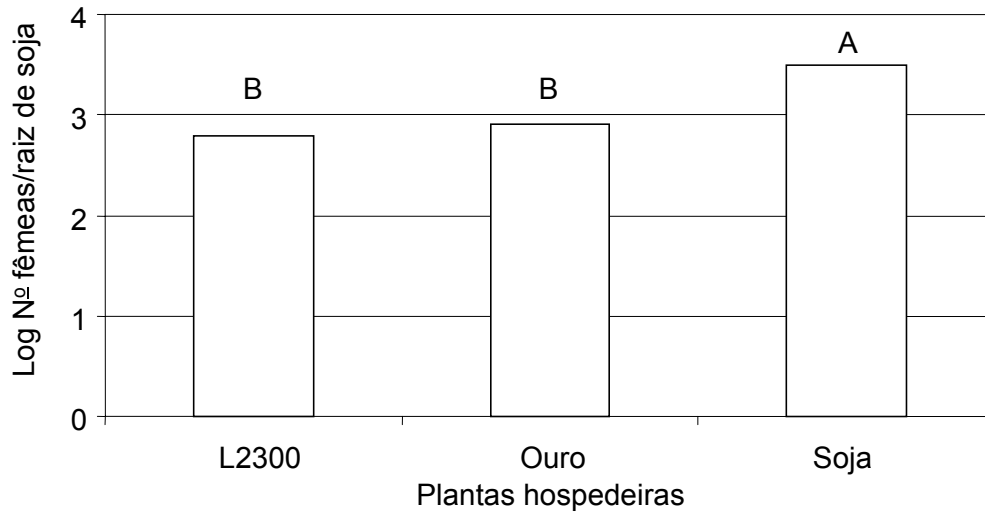


Figura 8 - Efeito da planta hospedeira em que foi multiplicado o inóculo no número de fêmeas de *Heterodera glycines* em raízes de soja FT-Cristalina. Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Fisher LSD

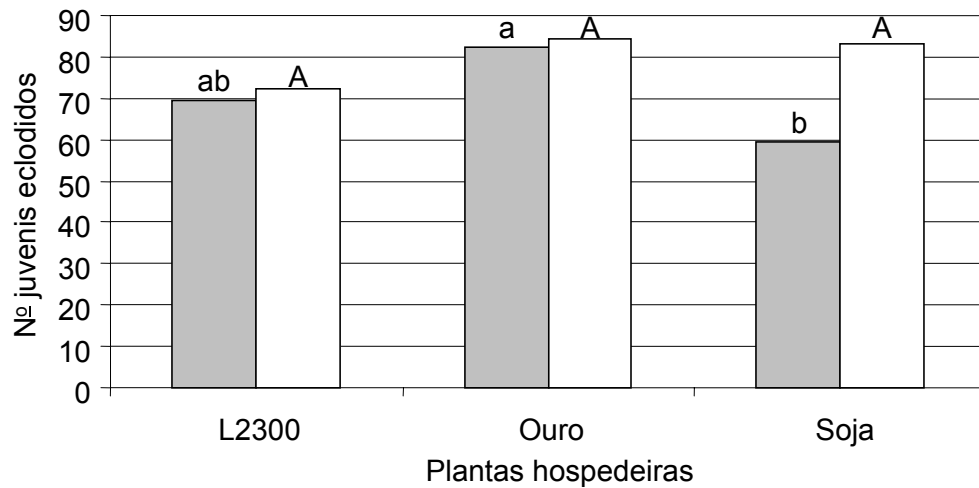


Figura 9 - Efeito da planta hospedeira (feijão L2300 e Ouro; soja FT-Cristalina) em que foi multiplicado o inóculo sobre a eclosão de juvenis de *Heterodera glycines* avaliados aos dois e quatro dias após a montagem do ensaio. Dentro de cada época de avaliação, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Fisher LSD.

No teste de penetração, o inóculo produzido na linhagem L2300 diferiu do inóculo produzido na cv. Ouro e na soja. Também houve diferença quanto a penetração de juvenis advindos de inóculo produzido na cv. Ouro e soja (Figura 10). Foi observado maior número de J2 na raiz de soja quando se utilizou inóculo produzido na própria soja. Dentre todos os tratamentos, menor penetração dos J2 nas raízes de soja foi observada para o inóculo produzido na linhagem L2300 (Figura 10).

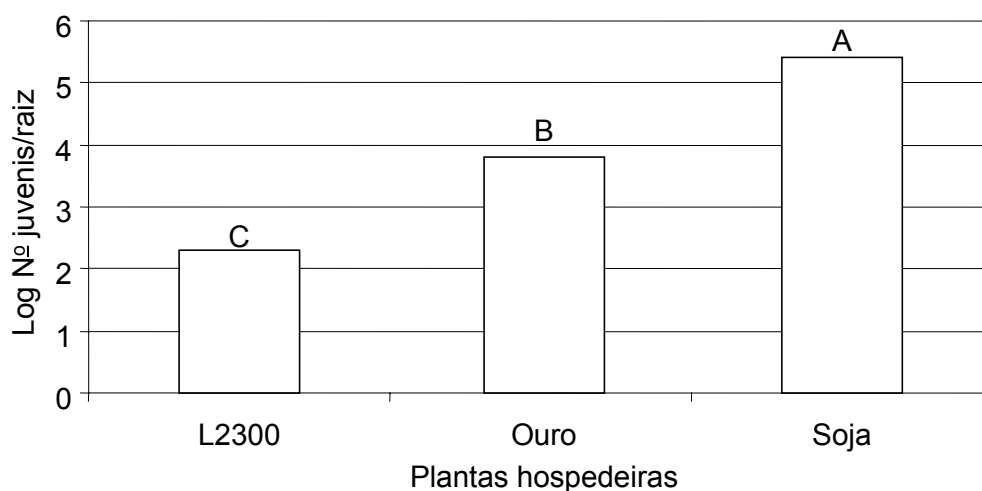


Figura 10 - Efeito da planta hospedeira (feijão L2300 e Ouro; soja FT-Cristalina) na penetração de juvenis de *Heterodera glycines* nas raízes de soja FT-Cristalina. Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Fisher LSD.

A maior ou menor taxa de penetração de J2 nas raízes de soja pode ser explicada pela maior ou menor disponibilidade de nutrientes. Após a eclosão, os juvenis permanecem infectivos por um período limitado, e esse tempo tem sido correlacionado com a quantidade de reserva de lipídios (STOREY, 1984). O declínio na reserva de lipídios também tem sido associado com a redução da mobilidade de fitonematóides (VAN GUNDY et al., 1967). A redução do nutriente de reserva do nematóide pode ser uma explicação para a

baixa penetração dos juvenis em raízes de soja FT-Cristalina, quando se utilizou inóculo produzido na linhagem L2300.

O desenvolvimento do nematóide é dependente do metabolismo da planta, e a quantidade de nutrientes disponível no sítio de alimentação determina seu crescimento e fecundidade. Quanto maior o sítio de alimentação, maior a área de contato com o tecido do hospedeiro e maior a disponibilidade de nutrientes (Van Haren et al., 1994, citados por PERRY e GAUR, 1996). De modo semelhante, Bird (1972), citado por PERRY e GAUR (1996), observou que em *Meloidogyne* sp. o tamanho do sítio de alimentação estava diretamente relacionado ao tamanho do nematóide, porém o tamanho dos ovos não era afetado. A resistência da linhagem L2300 parece estar relacionada à limitação de ordem nutricional ou a fatores bioquímicos necessários para o desenvolvimento adequado do síncito. As fêmeas de *H. glycines* estabelecidas na cv. Ouro parecem apresentar maior desenvolvimento e maior fecundidade (BECKER et al., 1999). Nessa cultivar, o síncito se estende do protoxilema ao metaxilema, incorporando células da endoderme, periciclo e floema; assim, há maior suplemento alimentar obtido das células nutridoras do que aquele obtido por fêmeas que se desenvolveram na raiz da linhagem L2300, cujo síncito, de acordo BECKER et al. (1999), é bem menor e se restringe ao protoxilema.

Pelo fato de a linhagem L2300 restringir o alimento necessário para o desenvolvimento normal do nematóide, é provável que haja redução da reserva de nutriente deste. HOLZ et al. (1999) encontraram diferenças nos níveis de lipídios e na fecundidade de populações de *Globodera rostochiensis*, multiplicadas em diferentes cultivares de batata.

Na avaliação do desenvolvimento do nematóide nas raízes de soja FT-Cristalina, verificou-se menor número de fêmeas quando o inóculo foi produzido na linhagem L2300, quando comparado àquele produzido na cv. Ouro ou soja (Figura 11). Houve diferença quanto ao número de fêmeas/sistema radicular quando o inóculo foi produzido na cv. Ouro ou em soja (Figura 11). Obteve-se maior número de fêmeas por sistema radicular quando o inóculo foi produzido em soja (Figura 11).

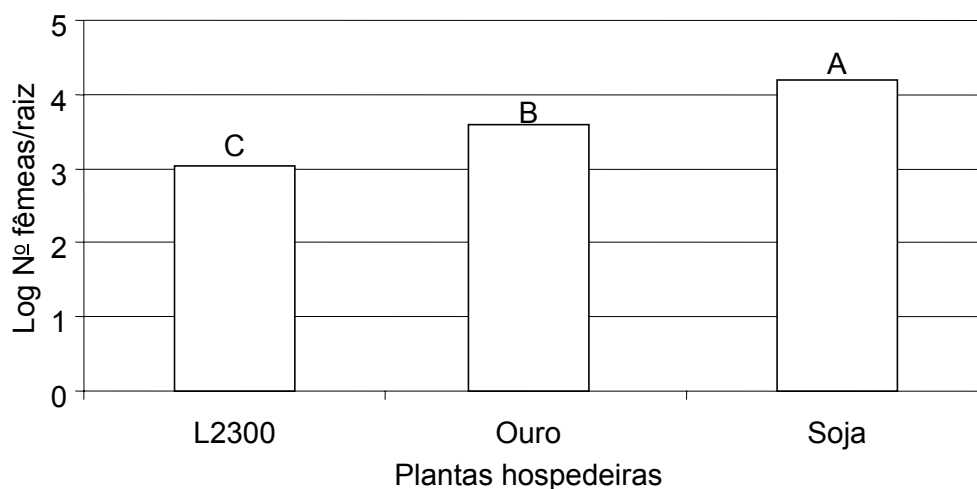


Figura 11 - Efeito da planta hospedeira no desenvolvimento de fêmeas de *Heterodera glycines* nas raízes de soja FT-Cristalina. Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Fisher LSD.

Uma das prováveis causas da redução do número de fêmeas no sistema radicular da soja FT-Cristalina, quando se utilizou inóculo produzido na linhagem L2300, é a baixa mobilidade do nematóide no solo. ROBINSON et al. (1985) observaram que o atraso na eclosão após o estímulo pelo difusato de raízes de batata está associado à menor infectividade de *G. rostochiensis*, devido à redução da reserva de lipídios. Esse efeito foi significativo quando a reserva de lipídios caiu cerca de 50% do nível inicial dos ovos não estimulados. A redução da reserva de lipídios limita as atividades dos nematóides, impedindo-os de alcançar a raiz, penetrar e movimentar-se para o sítio de alimentação. Em várias espécies de fitonematóides, o declínio na infectividade tem sido correlacionado com a redução da reserva de lipídios (ROBINSON et al., 1985).

A sobrevivência do inóculo de *H. glycines* foi reduzida quando o nematóide foi multiplicado em feijoeiro da linhagem L2300 e na cultivar Ouro. Após 18 meses, a sobrevivência foi de 20,4% para o inóculo produzido em L2300, de 34,7% para o inóculo produzido em 'Ouro' e de 88,6% para o inóculo produzido em soja (Quadro 2).

Quadro 2 - Sobrevivência dos ovos contidos nos cistos de *Heterodera glycines* raça 3 produzidos em feijoeiros da linhagem L2300 e na cv. Ouro e na soja FT-Cristalina e avaliados em diferentes tempos

Hospedeiros	Número de fêmeas*		Sobrevivência (%)
	1 mês	18 meses	
L2300	16,7	3,4	20,4
Ouro	35,2	12,2	34,7
Soja	57,7	51,1	88,6

\*Média de dez repetições.

Novamente, é possível que a quantidade de reserva de lipídios tenha tido influência no tempo de sobrevivência do juvenil de segundo estágio (J2) não eclodido e na infecção do J2 após a eclosão, como demonstrado para *Globodera rostochiensis* (ROBINSON et al., 1985; STOREY, 1984).

O estudo de metabolismo de lipídios em nematóides tem despertado grande interesse, em razão da sua importância como reserva de nutrientes (BARRET, 1981; CHITWOOD, 1998). Vários pesquisadores quantificaram a porcentagem relativa do lipídio total, neutro e polar em nematóide de vida livre e fitonematóides (KRUSBERG, 1976; KRUSBERG et al., 1973; CHITWOOD e KRUSBERG, 1981; GIBSON et al., 1995; HOLZ et al., 1997). Nesses estudos, demonstrou-se o envolvimento de lipídios como fonte de energia para diferentes processos do ciclo de vida dos nematóides. Mediante essas evidências, seria interessante a realização de experimentos para quantificar o conteúdo de lipídios de *H. glycines* multiplicado na linhagem L2300 e verificar se a redução na infectividade realmente está correlacionada à baixa reserva de lipídios do nematóide.

### 3.3. Redução da população de *H. glycines* raça 3 com a utilização da linhagem L2300 de feijoeiro comparada a diferentes hospedeiros

No primeiro experimento, não houve interação significativa entre os tratamentos quanto ao número de fêmeas nas raízes de soja plantada após as diferentes espécies hospedeiras. Por essa razão, os resultados da análise não foram incluídos no trabalho. Na avaliação do número de cistos após o plantio das diferentes espécies hospedeiras, observou-se diferença significativa entre soja suscetível (cv. FT-Cristalina) e feijoeiro resistente (L2300), feijoeiro suscetível (cv. Ouro) e soja resistente (cv. Liderança), soja suscetível (cv. FT-Cristalina) e soja resistente (cv. Liderança) (Quadro 3).

Quadro 3 - Significância (valor de P) da comparação de médias entre diferentes hospedeiros quanto ao número de cistos. Análise efetuada com dados transformados para logaritmo neperiano

Tratamento	Feijão resistente	Feijão suscetível	Soja resistente	Soja suscetível	Milho	Mucuna-anã
Feijão resistente	-	0,0876	0,2270	0,0077*	0,1221	0,0342*
Feijão suscetível	-	-	0,0030*	0,2263	0,8333	0,6931
Soja resistente	-	-	-	<,0001*	0,0062*	0,0011*
Soja suscetível	-	-	-	-	0,1664	0,4201
Milho	-	-	-	-	-	0,5434
Mucuna-anã	-	-	-	-	-	-

\* - Contraste significativo a 5% de probabilidade, pelo teste de Fisher LSD.

No segundo experimento, após 90 dias, o número de cistos de *H. glycines* no solo dos vasos onde se plantou soja suscetível foi superior ao observado nos demais tratamentos (Figura 12). Apesar de o feijão suscetível

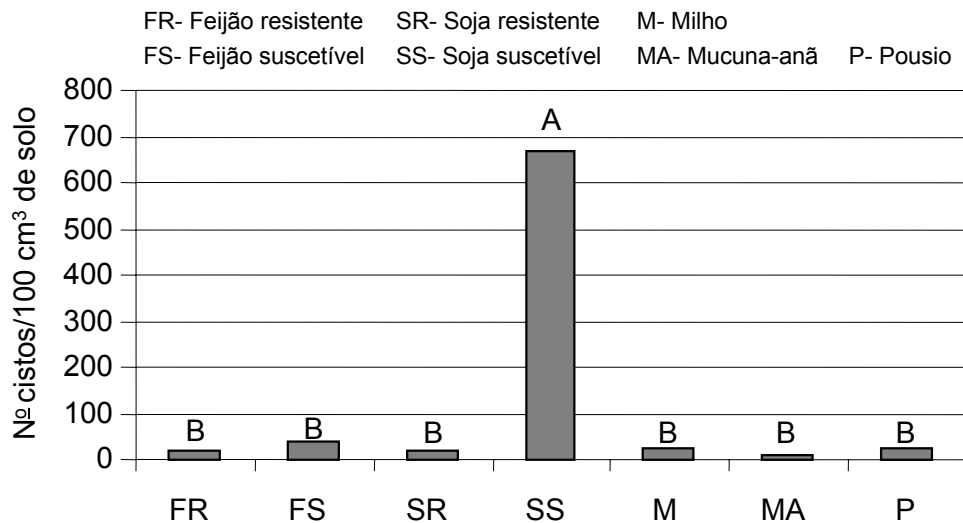


Figura 12 - Número de cistos de *Heterodera glycines*/100 cm<sup>3</sup> de solo quantificado após o plantio das diferentes culturas. Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

ter diferido somente da soja suscetível, este apresentou maior número de cistos que os outros tratamentos. Como conseqüência, o número de fêmeas/sistema radicular da soja FT-Cristalina no próximo plantio também foi significativamente maior na sucessão feijão suscetível (cv. Ouro) - soja suscetível (cv. FT-Cristalina) (Figura 13). Na sucessão soja suscetível-soja suscetível, observou-se menor número de fêmeas/sistema radicular (Figura 13), o que se deve ao fato de a população do nematóide no solo ter sido muito alta e ter afetado de modo acentuado o desenvolvimento do sistema radicular dessas plantas (Figura 14), conforme já observado anteriormente por VALLE (1996).

Não se observou diferença quanto ao número de cistos/100 cm<sup>3</sup> de solo entre L2300 e as outras culturas. Observou-se diferença significativa quanto ao número de cistos/100 cm<sup>3</sup> de solo somente quando se comparou a soja suscetível e os demais tratamentos (Figura 12). A diferença não significativa observada entre os tratamentos feijão suscetível,

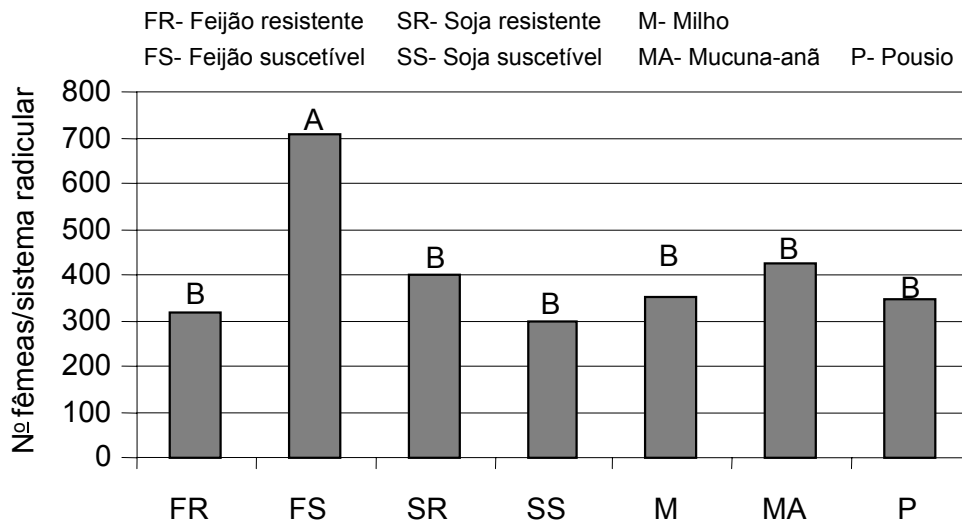


Figura 13 - Número de fêmeas de *Heterodera glycines*/sistema radicular de soja FT-Cristalina quantificado após o plantio das diferentes culturas. Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.



Figura 14 - Aspecto do sistema radicular de soja da cv. FT-Cristalina após a sucessão de culturas: A) feijão resistente-soja suscetível; B) feijão suscetível-soja suscetível; C) soja resistente-soja suscetível; D) soja suscetível-soja suscetível.

feijão resistente, soja resistente, milho, mucuna-anã e pousio deve-se também ao fato de a avaliação do número de cistos no solo ter sido efetuada aos 90 dias. Avaliando o efeito de leguminosas usadas em adubação verde no controle de *H. glycines*, VALLE (1996) observou, aos 60 dias após o plantio, redução na população do nematóide em relação à soja. Entretanto, o efeito das leguminosas foi mais pronunciado aos 120 dias. Sessenta dias é um período curto para se avaliar o controle de um nematóide com mecanismos de sobrevivência tão eficientes como *H. glycines* (SORTLAND e MACDONALD, 1987; VALLE, 1996).

Não se observou redução no número de cistos no solo após o cultivo de milho e mucuna (Figura 12). No entanto, observou-se menor número de fêmeas no sistema radicular da soja FT-Cristalina na sucessão milho-soja suscetível e mucuna-soja suscetível, comparado à sucessão feijão suscetível-soja suscetível. A quantidade de cistos no solo após a sucessão soja suscetível-soja suscetível foi muito superior à dos demais tratamentos. GARCIA et al. (1998) observaram que um ano de cultivo de milho ou mucuna no verão reduziu o número de cistos no solo e um ano de plantio de soja na seqüência aumentou o número de cistos em nível anterior ao cultivo da não-hospedeira.

O efeito da resistência da linhagem L2300 sobre *H. glycines* pode ser comparado ao da soja resistente cv. Liderança, mucuna-anã e milho. Após o cultivo da linhagem L2300, de soja cv. Liderança, milho e mucuna-anã, não se observaram diferenças entre esses tratamentos quanto ao número de cistos/100 cm<sup>3</sup> de solo.

VALLE et al. (1997) observaram que as raízes de mucuna-preta são penetradas por grande número de juvenis de *H. glycines*, superando inclusive a soja FT-Cristalina, e que seus lixiviados radiculares têm pronunciado efeito estimulatório sobre a eclosão de juvenis. Como o nematóide não se desenvolve em mucuna, ela apresenta as características desejáveis de uma boa planta-armadilha. Da mesma forma, as raízes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) liberam glicinoeclepina, substância que estimula a eclosão de juvenis desse nematóide (MASAMUNE et al., 1982). As taxas de penetração dos juvenis de *H. glycines* nas raízes do feijoeiro resistente e suscetível são semelhantes (BECKER et al., 1999). A multiplicação de *H. glycines* é afetada pela linhagem L2300,

ocasionando redução do número de fêmeas por sistema radicular. Semelhante à mucuna, o feijoeiro L2300 pode ser utilizado como uma planta-armadilha para o controle de *H. glycines*, em áreas de soja ou feijoeiro infestadas por esse nematóide.

Os cistos produzidos na linhagem L2300 possuem baixa sobrevivência no solo, como observado no item 3.2. Aliado a esse fato, no Brasil, *H. glycines* tem longevidade no solo menor que a observada no Japão, de até 9 anos no solo (INAGAKI e TSUTSUMI, 1971). Em regiões tropicais há maior atividade biológica no solo, influenciada pela temperatura e umidade favoráveis. Conseqüentemente, o efeito que esses organismos exercem sobre a população de nematóides tende a ser mais intenso (SILVA et al., 1994). Durante a entressafra da soja, a redução da população do nematóide no solo pode chegar a mais de 50%, em determinados anos e locais (GARCIA et al., 1998).

#### **3.4. Reação do feijoeiro da linhagem L2300 e da cultivar Ouro a *H. glycines* raças 2, 4 e 14**

No primeiro experimento, todas as diferenciadoras de raças (Pickett, Peking, PI88788, PI90763) apresentaram índices de fêmeas (IF) superiores a 10%, com reação positiva (+), caracterizando reação de suscetibilidade (Quadro 4). Pelo esquema de RIGGS e SCHMITT (1988), a população pertence à raça 4. O IF na linhagem L2300 foi de 26,8% e, com base na escala de avaliação de genótipos de feijoeiro resistentes a *H. glycines* (BECKER e FERRAZ, 2000), esta foi classificada como moderadamente suscetível à raça 4. Semelhante à raça 3, observado no item 3.1, as fêmeas da raça 4 formadas no sistema radicular das plantas também eram menores, contendo poucos ovos. Entretanto, o número de ovos/fêmea dessa população da raça 4 não foi quantificado nesse teste. Na cv. Ouro, o IF foi de 100% e, portanto, classificado como suscetível de acordo com a escala de BECKER e FERRAZ (2000) (IF > 50% são classificadas como suscetíveis).

Quadro 4 - Média do número e índice de fêmeas das diferenciadoras de raças de *H. glycines* (Pickett, Peking, PI-88788, PI-90763 e Lee) e da linhagem L2300 e cv. Ouro de feijoeiro e a reação dessas plantas a *H. glycines* raça 4

Tratamento	Média*			Reação
	Nº fêmeas	IF	Desvio-Padrão (IF)	
Pickett	51,2	140,7	31,6	+
Peking	9,7	26,6	14,6	+
PI-88788	5,3	14,5	1,6	+
PI-90763	7,8	21,4	9,4	+
Lee	36,4	-	48,6	+
L2300	11,5	26,8	11,6	+
Ouro	42,9	-	37,7	+

\*Média de dez repetições.

Soja-  $IF = \frac{\text{(número de fêmeas na raiz da planta em teste)}}{\text{(média observada na Lee)}} \times 100$ ; IF < 10% "-"; IF > 10% "+".

Feijão-  $IF = \frac{\text{(número de fêmeas na raiz da planta em teste)}}{\text{(média observada na cv. Ouro)}} \times 100$ ; IF < 10% "-"; IF > 10% "+".

No segundo experimento, o IF menor que 10% observado na cultivar PI90763 confirmou a raça 2 (Quadro 5). A reação positiva de todas as plantas diferenciadoras confirmou a raça 4 (Quadro 5). A raça 14 foi confirmada pela reação negativa na cultivar diferenciadora PI88788 (Quadro 5). Os IFs observados na linhagem L2300 para as raças 2 e 14 foram de 63,0 e 38,0, respectivamente (Quadro 5). Portanto, pela escala de BECKER e FERRAZ (2000), o feijoeiro da linhagem L2300 é classificado como suscetível à raça 2 e moderadamente suscetível à raça 14. O IF obtido nesse segundo experimento para a raça 4 foi de 29,0%. Semelhante ao ensaio anterior, a linhagem L2300 foi classificada como moderadamente suscetível à raça 4. Novamente, observou-se que as fêmeas formadas em raízes de L2300 eram menores que as formadas nas raízes da cultivar Ouro. Os IFs obtidos na cv. Ouro para as

Quadro 5 - Média do número e índice de fêmeas (IF) das diferenciadoras de raças de *H. glycines* (Pickett, Peking, PI-88788, PI-90763 e Lee) e da linhagem L2300 e cv. Ouro de feijoeiro e a reação dessas plantas a *H. glycines* raças 2, 4 e 14

Tratamentos	Raças								
	2			4			14		
	Nº fêmeas	IF	Reação	Nº fêmeas	IF	Reação	Nº fêmeas	IF	Reação
Pickett	30,2	45,2	+	65,7	80,6	+	74,2	92,3	+
Peking	10,8	16,2	+	26,4	32,6	+	30,2	33,7	+
PI-88788	31,9	47,8	+	19,8	24,4	+	4,7	5,2	-
PI90763	0,5	0,7	-	21,6	26,6	+	16,5	18,4	+
Lee	66,8	-	+	81,1	-	+	89,6	-	+
L2300	40,7	63,0	+	13,7	29,0	+	15,9	38,0	+
Ouro	64,7	-	+	47,0	-	+	42,0	-	+

Soja IF=[(número de fêmeas na raiz da planta em teste)/(média observada na Lee)]x100; IF<10% "-"; IF>10% "+".

Feijão IF=[(número de fêmeas na raiz da planta em teste)/(média observada na cv. Ouro)]x100; IF<10% "-"; IF>10% "+".

raças 2, 4 e 14 foram superiores a 50%, sendo, portanto, classificada como suscetível a essas populações de *H. glycines* (Quadro 5).

Estudos sobre a gama de hospedeiros de *H. glycines* indicam que as espécies de *Phaseolus* apresentam suscetibilidade variável (RIGGS e HAMBLEM, 1962), sendo poucas aquelas consideradas como resistentes. No entanto, mesmo as espécies resistentes podem se tornar suscetíveis quando submetidas a diferentes populações do nematóide (ABAWI e JACOBSEN, 1981).

A variação na resistência da linhagem L2300 de feijoeiro a raças de *H. glycines* obtida no presente trabalho assemelha-se à observada em soja por vários autores (ANAND e SHARMA, 1996; KIM et al., 1998; ARELLI et al., 2000). Vários estudos genéticos indicam que, em soja, cultivares resistentes a uma determinada raça de *H. glycines* podem ser suscetíveis a outras raças

(HANCOCK et al., 1987; ANAND e RAO-ARELLI, 1989; CAVINES, 1992; MANSUR et al., 1993).

O controle de *H. glycines* em feijoeiro com a utilização de material com nível de resistência intermediária pode reduzir as perdas e evitar mudança de raça na população do nematóide. Esse tipo de estratégia assemelha-se ao uso de linhagens tolerantes, recomendadas por REESE et al. (1988). Para o desenvolvimento de cultivares de soja com resistência a várias raças, considera-se o nível de resistência intermediária, bem como o alto nível de resistência (KIM et al., 1998). Apesar de a linhagem L2300 de feijoeiro ter proporcionado alto IF, esse material proporciona redução no tamanho e número de ovos por fêmea, como observado no item 3.1. Por essa razão, sugere-se a continuidade do trabalho, avaliando-se a reação desse material utilizando, além do IF, o número de ovos por sistema radicular.

### **3.5. Efeito da temperatura na resistência da linhagem L2300 de feijão a *H. glycines* raça 3**

A elevada temperatura do solo mantida constante afetou a resistência do feijoeiro da linhagem L2300. Maior número de fêmeas por sistema radicular foi registrado em plantas mantidas a 30°C (Quadro 6). A 30°C o IF calculado na linhagem L2300 foi de 67%. Já nas temperaturas de 22, 24 e 26°C os IFs foram inferiores ou iguais a 10%. Na cv. Ouro, independentemente da temperatura, os IFs foram de, no mínimo, 100% (Quadro 6).

A diminuição da resistência da planta aos nematóides com o aumento da temperatura já foi observada por vários autores (DROPKIN, 1969a; FASSULIOTIS et al., 1970; CARTER, 1982; AMMANTI et al., 1986; OMWEGA et al., 1990; MULLIN et al., 1991; SYDENHAN et al., 1997). O aumento no número de fêmeas por sistema radicular da linhagem L2300 quando a temperatura do solo passou de 26°C para 30°C assemelha-se ao observado por IRIZARRY et al. (1971) para a linhagem de feijoeiro Alabama N<sup>o</sup>1. A reação dessa cultivar a *M. incognita* passou de resistência à suscetibilidade quando a temperatura do solo aumentou de 25°C para 30°C. OMWEGA et al. (1990)

Quadro 6 - Número e índice de fêmeas de *H. glycines* em raízes de feijoeiros da linhagem L2300 e da cv. Ouro, mantidas em câmara de crescimento a temperaturas constantes de 22, 26 e 30°C e na casa de vegetação a 24°C, e a reação dessas plantas à raça 3 desse nematóide<sup>1</sup>.

Temperaturas	Hospedeiro	Nº fêmeas	IF*	Desvio	Reação
22	L2300	1,6	10,0	10,7	-
	Ouro	16	-	117,6	+
24 (C.V.)	L2300	9,4	7,9	4,9	-
	Ouro	118,8	-	22,0	+
26	L2300	7,8	6,4	4,8	-
	Ouro	122,3	-	78,2	+
30	L2300	49	67,0	31,2	+
	Ouro	73,1	-	20,2	+

\*IF= Índice de fêmeas.

<sup>1</sup> Média de dez repetições.

c.v. = casa de vegetação.

também observaram que a resistência de Alabama N<sup>o</sup>1 a *M. incognita* raça 2 não foi efetiva a 30°C. A resistência a *M. incognita* raça 1 e *M. javanica* foi estável em outras linhagens testadas a temperaturas constantes de 24°C a 30°C, porém a população de *M. javanica* aumentou quando a temperatura passou de 26°C para 30°C. A linhagem de feijoeiro Norte Americana A211 foi resistente a *M. incognita* quando submetida a temperaturas entre 16°C e 22°C, entretanto foi suscetível quando submetida a temperatura de 24°C ou superior (MULLIN et al., 1991).

O processo de incompatibilidade entre a planta hospedeira e o nematóide geralmente é expresso após a infecção, e o mecanismo ativo envolve a produção de vários compostos (GIEBEL, 1974). O efeito da temperatura na expressão da resistência ocorre principalmente durante o processo de infecção. DROPKIN (1969a) observou que somente uma curta

exposição de plantas de tomate resistentes ao nematóide das galhas à alta temperatura foi suficiente para a perda da resistência. A provável causa é a inibição dos radicais livres em altas temperaturas, e esses compostos químicos são responsáveis pela reação de hipersensibilidade (HR). Aumento na produção desses compostos foi observado em plantas de tomate após a infecção pelo nematóide das galhas (ZACHEO et al., 1982).

A média da temperatura do solo nos vasos que foram mantidos em casa de vegetação foi de 24°C. Embora essa temperatura tenha oscilado entre 22°C e 29°C durante a condução do experimento, a resistência da linhagem L2300 foi estável e o desenvolvimento do nematóide não foi afetado. Por outro lado, na cv. Ouro observou-se número alto de fêmeas/sistema radicular (Quadro 6). Fato semelhante foi observado por SANTOSO (1973), em que a resistência do feijoeiro da cultivar Manoa Wonder a *M. incognita* foi efetiva quando a temperatura oscilou diariamente entre 21°C e 33°C, mas declinou quando a temperatura do solo foi mantida constante a 29°C.

As temperaturas de 22°C e 30°C afetaram o desenvolvimento do nematóide, pois na cv. Ouro observou-se número reduzido de fêmeas/sistema radicular em relação à temperatura de 24°C e 26°C. A temperatura de 30°C afetou também o desenvolvimento das plantas, pois estas apresentaram porte reduzido. As temperaturas mais favoráveis ao desenvolvimento do nematóide foram as de 24°C e 26°C, sendo estas também ideais para o desenvolvimento das plantas. Os resultados observados corroboram as informações geradas em outros experimentos, nos quais as temperaturas entre 24°C e 26°C foram consideradas ótimas para o melhor desenvolvimento e a maior formação de fêmeas de *H. glycines* em raízes de feijoeiro e de soja (MELTON et al., 1986; ANAND et al., 1995).

A temperatura é um dos fatores físicos que mais afetam o desenvolvimento de *H. glycines*. Juvenis de segundo estágio não se desenvolvem em raízes de soja quando as plantas são mantidas a uma temperatura constante de 10°C (ROSS, 1964). A esta temperatura o desenvolvimento dentro do ovo é interrompido na fase de juvenil de primeiro estágio (YOUNG, 1992). Com o aumento da temperatura para 15°C a 30°C o desenvolvimento é retomado, ocorre formação de J2 e a maior eclosão dos juvenis ocorre entre 20 e 30°C (YOUNG, 1992).

A temperatura ótima para o desenvolvimento do feijoeiro está em torno de 28°C (SYDENHAM et al., 1997). Em muitas áreas produtoras de feijão a temperatura varia de 16°C a 24°C (OMWEGA et al., 1990). Nessa faixa de temperatura, a resistência da linhagem L2300 a *H. glycines* raça 3 deverá ser estável. No Brasil, em algumas regiões onde se cultiva o feijoeiro a temperatura do solo é superior a 30°C em determinada época do ano. Pelo fato de a temperatura do solo ter efeito sobre a efetividade da resistência, é aconselhável trabalhar com material resistente que não seja afetado ou seja pouco afetado pela alta temperatura do solo.

### **3.6. Análise genética da resistência do feijoeiro da linhagem L-2300 a *H. glycines* raça 3**

#### **3.6.1. Seleção de linhas puras de feijoeiro da linhagem L-2300 e da cultivar Ouro**

De acordo com o critério de IF < 10% (GOLDEN et al., 1970), nenhuma das 20 linhas da linhagem L2300 inoculadas com 4.000 ovos de *H. glycines* foi resistente (Quadro 7). O IF variou de 35% a 72%, variando de moderadamente suscetível a suscetível de acordo com a escala de BECKER e FERRAZ (2000). Nas linhas da cultivar Ouro o IF foi superior a 77%, sendo o valor máximo de 110% (Quadro 8). Este resultado pode ser explicado pela utilização de uma concentração alta de ovos (4.000 ovos/planta), que não permitiu identificar plantas de feijoeiro da linhagem L2300 resistentes. Entretanto, com base no menor e maior número de fêmeas por sistema radicular, selecionaram-se plantas da linha L2300 (L3, L4 e L12) e da cv. Ouro (O4, O6 e O7) para uma nova inoculação (Quadros 7 e 8).

Segundo KINLOCH (1990), de acordo com a espécie do nematóide e o hospedeiro, há variação quanto à concentração de inóculo apropriada a ser utilizada em experimento de avaliação da resistência. Para caracterização de raças de *H. glycines*, a inoculação de 4.000 ovos e juvenis por vaso proporciona resultados consistentes (WANG et al., 1998). No patossistema *H. glycines*-feijoeiro, a concentração de 2.000 ovos por planta foi adequada,

Quadro 7 - Número de fêmeas, índice de fêmeas (IF) e a reação de 20 linhas da linhagem L2300 submetidas a três gerações de autofecundação e posteriormente inoculadas com 4.000 ovos de *Heterodera glycines* raça 3

Famílias	Média <sup>1</sup>		Desvio Padrão (IF)	Reação
	Nº fêmeas <sup>2</sup>	I.F.		
L-01	164,4 a	68,58	12,77	S
L-02	143,6 ab	59,94	10,77	S
L-03	84,7 b	35,35	21,80	S
L-04	101,5 ab	42,35	21,80	S
L-05	139,7 ab	58,31	12,84	S
L-06	138,2 ab	48,26	57,68	S
L-07	139,2 ab	58,10	14,82	S
L-08	152,4 ab	63,54	17,86	S
L-09	142,1 ab	59,31	13,85	S
L-10	139,1 ab	58,06	13,92	S
L-11	132,4 ab	55,26	17,79	S
L-12	98,9 ab	41,28	11,11	S
L-13	140,5 ab	58,64	18,99	S
L-14	117,7 ab	49,08	24,27	S
L-15	150,3 ab	62,61	21,83	S
L-16	133,4 ab	55,68	18,26	S
L-17	130,4 ab	54,43	20,08	S
L-18	142,9 ab	59,64	28,80	S
L-19	173,1 a	72,21	20,54	S
L-20	109,2 ab	45,58	20,48	S

IF=[(número de fêmeas na raiz da planta em teste)/(média observada na cv. Ouro)]x100; R=IF<10% ; S= IF>10%.

<sup>1</sup> Média de dez repetições.

<sup>2</sup> Médias do número de fêmeas seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Quadro 8 - Número de fêmeas, índice de fêmeas (IF) e reação de 20 linhas da cultivar Ouro submetidas a três gerações de autofecundação e posteriormente inoculadas com 4.000 ovos de *Heterodera glycines* raça 3

Famílias	Média <sup>1</sup>		Desvio Padrão (IF)	Reação
	Nº fêmeas <sup>2</sup>	I.F.		
O-01	208,9 a	77,24	30,83	S
O-02	232,5 a	97,05	32,60	S
O-03	250,7 a	104,65	41,58	S
O-04	260,0 a	108,53	38,13	S
O-05	218,2 a	91,08	18,94	S
O-06	264,9 a	110,57	36,66	S
O-07	264,5 a	110,40	25,76	S
O-08	258,8 a	108,03	19,01	S
O-09	241,9 a	90,97	34,81	S
O-10	209,3 a	87,36	30,25	S
O-11	258,9 a	108,07	19,88	S
O-12	259,4 a	108,28	33,93	S
O-13	207,8 a	86,73	19,64	S
O-14	259,0 a	99,55	54,30	S
O-15	202,4 a	84,48	24,62	S
O-16	214,3 a	89,45	27,90	S
O-17	245,9 a	102,65	29,00	S
O-18	249,8 a	104,27	26,55	S
O-19	225,3 a	94,01	34,25	S
O-20	258,5 a	107,90	17,80	S

IF=[(número de fêmeas na raiz da planta em teste)/(média observada na cv. Ouro)]x100; R=IF<10%; S= IF>10%.

<sup>1</sup> Média de dez repetições.

<sup>2</sup> Médias do número de fêmeas seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

permitindo encontrar diferentes tipos de reação ao nematóide. Concentrações maiores de inóculo tendem a uma estabilização, com posterior decréscimo no número de fêmeas nas raízes, provavelmente devido à competição por sítios de alimentação (BECKER, 1997).

Além do efeito da concentração de inóculo, é necessário considerar que a única variável analisada para definir a reação como resistente ou suscetível foi o IF, e esse critério pode ser falho. Conforme discutido anteriormente no item 3.1, a avaliação da resistência de L2300 não deve ser baseada apenas no IF. Assim, apesar de não ter sido possível encontrar uma família resistente com base no IF, acredita-se que alguns materiais seriam considerados resistentes se outras características fossem avaliadas.

As três linhas da linhagem L2300 (L3, L4 e L12) apresentaram médias do índice de fêmeas inferiores às observadas nas três linhas da cultivar Ouro (O4, O6 e O7) (Quadro 9). Para as variáveis número de fêmeas/sistema radicular, número de ovos/sistema radicular e número de ovos/fêmeas, as linhas derivadas de L2300 apresentaram as menores médias (Quadro 10). A linha L12 derivada de L2300 apresentou a menor média do índice de fêmeas (IF=6,2%), e a linha O6, derivada da cv. Ouro, apresentou a maior média do índice de fêmeas (IF=116,5%) (Quadro 9). Essas linhas foram selecionadas como genitores resistente e suscetível, respectivamente. As variáveis número de ovos por sistema radicular e número de ovos por fêmeas foram adequadas para a seleção de plantas resistentes (Quadro 10), como observado no item 3.1. Os IFs da linhagem L2300 e da cultivar Ouro estavam entre 6 e 11% e 90 e 116%, respectivamente (Quadro 9).

Esses resultados estão de acordo com a indicação de que a concentração de inóculo afeta a resistência da linhagem L2300. Quando inoculadas com 4.000 ovos por planta, as linhas L3, L4 e L12 apresentaram IF igual a 35,4, 42,4 e 41,3%, respectivamente, e foram classificadas como suscetíveis. No entanto, na inoculação com 2.000 ovos por planta, os valores de IF foram de 8,8, 11,3 e 62%, para L3, L4 e L12, respectivamente, e as linhas L3 e L12 foram classificadas como resistentes (IF < 10%) e L4 como medianamente resistente, segundo a escala de BECKER e FERRAZ (2000). A concentração de 2.000 ovos/planta foi mais adequada para evidenciar a

Quadro 9 - Médias do índice de fêmeas das três famílias da linhagem L2300 e três famílias da cultivar Ouro inoculadas com 2.000 ovos de *Heterodera glycines* raça 3 e a reação dessas plantas a esse nematóide<sup>1</sup>

Família	Média IF	Desvio	Reação
L-03	8,80	5,37	R
L-04	11,29	7,14	R
L-12	6,19	5,16	R
O-04	90,89	26,54	S
O-06	116,48	38,57	S
O-07	92,61	30,72	S

<sup>1</sup> Média de dez repetições.

IF=[(número de fêmeas na raiz da planta em teste)/(média observada na cv. Ouro)]x100; R= IF<10%; S= IF>10%.

Quadro 10 - Médias do número de fêmeas por sistema radicular, número de ovos por sistema radicular e número de ovos por fêmea de *Heterodera glycines* em três famílias de feijoeiros da linhagem L2300 e da cultivar Ouro<sup>1</sup>

Família	Média*		
	Nº Fêmeas/sistema radicular	Nº ovos/ sistema radicular	Nº ovos/fêmeas radicular
L-03	13,9 a	462,9 c	24,1 a
L-04	17,8 a	62,3 c	24,1 a
L-12	9,3 a	73,0 c	27,2 a
O-04	143,2 b	4134,0 b	104,0 b
O-06	183,5 b	5822,5 a	99,7 b
O-07	145,9 b	3763,5 b	96,3 b

<sup>1</sup> Média de dez repetições.

\* Médias dos tratamentos seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

resistência de L2300, bem como para maximizar o contraste entre os parentais, quando comparada às inoculações com 4.000 ovos por planta. De modo semelhante, HARE (1957) observou que a eficácia da resistência do pimentão cv. Santaka a *Meloidogyne* spp. variou com a quantidade de inóculo utilizado.

Além do menor número de fêmeas por sistema radicular, observou-se também menor número de ovos por sistema radicular e de ovos por fêmeas nas linhas derivadas de L2300 (Quadro 10). O menor número de ovos por sistema radicular poderia ser reflexo do menor número de fêmeas apenas, mas o menor número de ovos por fêmeas indica que houve também redução na fertilidade das fêmeas formadas em L2300. Dessa forma, a avaliação apenas do número de fêmeas subestima o efeito de L2300 sobre a multiplicação do nematóide, pois não considera a redução na fertilidade das fêmeas.

### **3.6.2. Teste da hipótese de herança monogênica**

Testou-se a hipótese de herança monogênica sob diferentes graus médios de dominância (GDM) de acordo com o método proposto por GOMES et al. (2000). A variação dos valores de  $\chi^2$  para os diferentes GMD testados foi ampla (Figura 15). As distribuições de freqüência para as diferentes gerações são apresentadas na Figura 16.

Valores de qui-quadrado não-significativos a 5% ( $< 5,99$ , ou seja, que não permitem rejeitar a hipótese de herança monogênica em nível de significância de 5%), foram obtidos para GMD de  $-0,7$  a  $-0,3$  (Figura 15), com mínimo em  $-0,5$ . A dominância nesse sistema foi no sentido da resistência, isto é, menor número de fêmeas/sistema radicular, como indica o sinal negativo. Para GMD =  $-0,5$ , o valor de qui-quadrado é  $0,75$ , que corresponde a um valor de probabilidade  $p = 0,69$ . Com base nessa análise, a hipótese de herança monogênica com dominância parcial (GMD =  $-0,5$ ) no sentido do menor número de fêmeas, ou seja, da resistência, é a mais adequada para explicar os resultados observados, com  $p=0,69$  pelo teste de qui-quadrado.

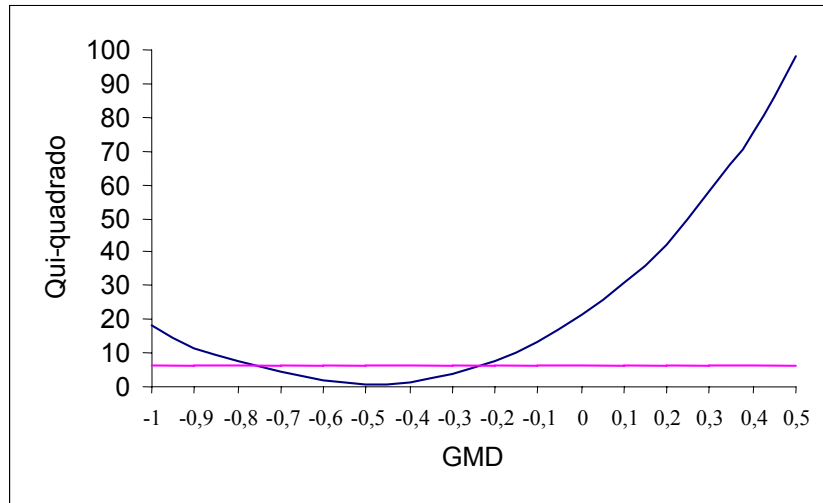


Figura 15 - Valores de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para diferentes graus médios de dominância (GMD), calculados com base na variável número de fêmeas/raiz. A linha reta marca o valor de qui-quadrado com dois graus de liberdade para  $P=0,05$  ( $\chi^2 = 5,99$ ). Os valores de qui-quadrado para  $GMD > 0,5$  excederam 100 e não foram incluídos no gráfico.

Utilizando  $IF < 20\%$  para separar plantas resistentes de suscetíveis, BECKER (1997) sugeriu a hipótese de herança monogênica recessiva para a resistência da linhagem L2300. Com esse método de análise, uma herança monogênica com  $GMD=0,5$  no sentido da resistência passaria por recessiva.

A metodologia empregada neste trabalho é mais abrangente e utiliza os valores numéricos gerados nos experimentos. Entretanto, para uma análise mais confiável seria interessante aumentar as populações P1, P2 e F1 (>50 plantas) e incluir as populações de retrocruzamentos com os dois genitores (>150 plantas de cada). BECKER (1997), além de utilizar uma metodologia menos apropriada para dados quantitativos, também realizou seus experimentos com número reduzido de plantas. Dessa forma, sugere-se a realização de experimentos completos (P1, P2, F1, F2 e retrocruzamentos) e com populações maiores para confirmar os resultados obtidos neste trabalho, que apontam para herança monogênica de resistência.

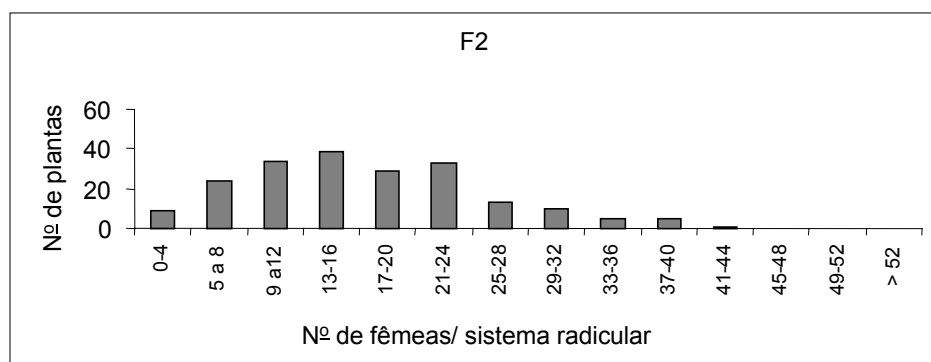
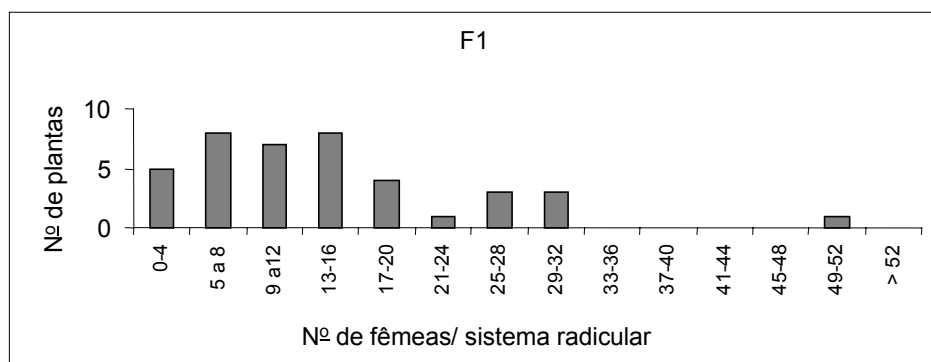
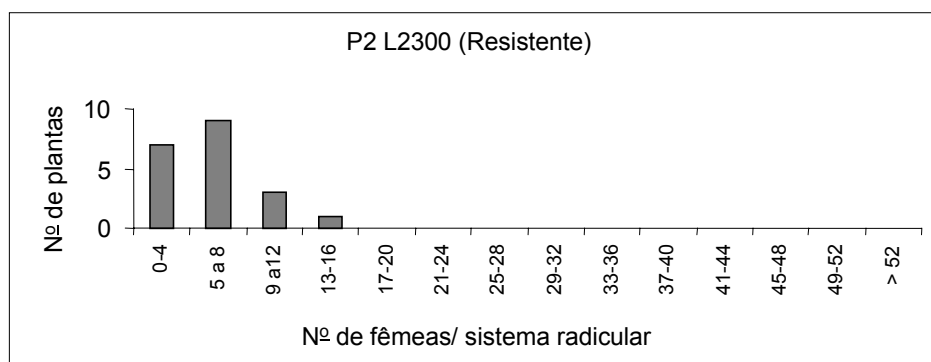
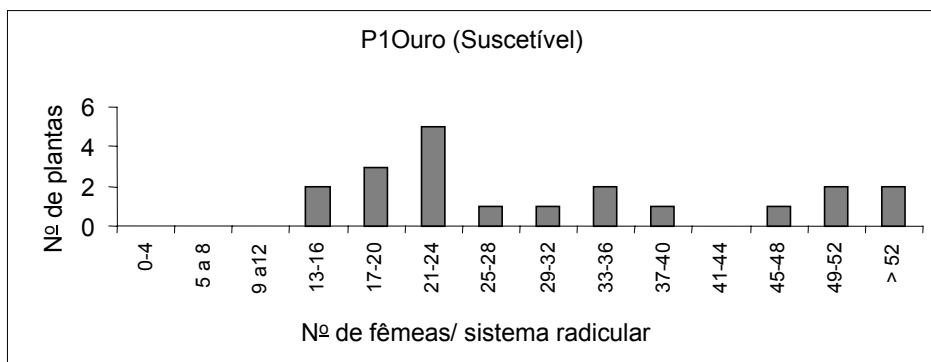


Figura 16 - Distribuição de frequência do número de fêmeas de *Heterodera glycines*/sistema radicular e das gerações obtidas do cruzamento entre cv. Ouro (O6) e a linhagem L2300 (L12).

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

Componentes de resistência do feijoeiro a *Heterodera glycines* foram quantificadas em casa de vegetação. Plantas de feijoeiro da linhagem L2300, cv. Ouro e de soja FT-Cristalina foram inoculadas com 2.000 ovos de *H. glycines* raça 3. Aos 30, 40 e 50 dias após a inoculação foram avaliados o número de fêmeas e ovos por sistema radicular e o número de ovos por fêmea. Para quantificar o número de cistos e o número de ovos por cisto, 30 vasos contendo as plantas foram mantidos até o final do ciclo da cultura. A linhagem L2300 apresentou o menor número de fêmeas e ovos por sistema radicular e número de ovos por fêmea, nas três datas avaliadas. Também foram menores os números de cistos e de ovos por cisto. A cultivar Ouro, em relação à soja, apresentou menor número de ovos por fêmea e menor número de cistos e ovos por cisto.

A fim de avaliar o efeito da planta hospedeira na viabilidade do inóculo de *H. glycines* raça 3, esse nematóide foi multiplicado em feijoeiro resistente (L2300), feijoeiro suscetível (cv. Ouro) e soja suscetível (FT-Cristalina). No teste “in vitro”, não houve efeito das diferentes plantas hospedeiras do nematóide sobre a eclosão de juvenis de *H. glycines* nas avaliações realizadas aos dois e quatro dias após a montagem do ensaio. Avaliaram-se também a penetração e o desenvolvimento desse nematóide nas raízes de soja FT-Cristalina. O menor número de juvenis e fêmeas nas raízes dessa cultivar foi obtido quando se utilizou inóculo produzido na linhagem L2300.

Para avaliar a sobrevivência do inóculo no solo, cistos de *H. glycines* foram produzidos no feijoeiro da linhagem L2300, no cv. Ouro e na soja FT-Cristalina. Após permanecer no solo, sem plantas, por dezoito meses, menor sobrevivência foi obtida quando se utilizaram cistos produzidos em feijoeiro da linhagem L2300 e na cv. Ouro.

Plantas de feijoeiro da linhagem L2300 e cv. Ouro, soja cv. FT-Cristalina e cv. Liderança, mucuna-anã e milho foram testadas em casa de vegetação quanto à eficiência na diminuição da população de *H. glycines*, quando usadas em rotação. Incluiu-se também um tratamento sem plantas (pousio). Maior número de cistos no solo foi obtido em vasos onde se plantou a soja FT-Cristalina e o feijão cv. Ouro, ambos suscetíveis ao nematóide. O número de fêmeas por sistema radicular da soja FT-Cristalina foi maior quando inicialmente foi plantado o feijão suscetível da cv. Ouro. Na sucessão soja suscetível-soja suscetível, o sistema radicular foi praticamente destruído devido à alta população do nematóide, resultando em baixo número de fêmeas por sistema radicular.

A reação do feijoeiro L2300 a *H. glycines* raças 2, 4 e 14 foi avaliada em casa de vegetação. Plantas de feijão da linhagem L2300 e da cv. Ouro foram inoculadas com 2.000 ovos de *H. glycines*. Após 30 dias da inoculação avaliou-se o número de fêmeas por sistema radicular. Os dados obtidos foram transformados para índice de fêmeas (IF). Pelos IFs obtidos, a linhagem L2300 foi moderadamente suscetível (IF=29, IF=38) às raças 4 e 14 e suscetível (IF=63) à raça 2.

O efeito da temperatura na resistência da linhagem L2300 foi avaliado em câmara de crescimento com temperaturas constantes de 22, 26 e 30°C e a 24°C em casa de vegetação. A elevada temperatura do solo mantida constante afetou a resistência do feijoeiro da linhagem L2300. Nas temperaturas de 22, 24 e 26°C a resistência foi estável. Maior número de fêmeas por sistema radicular da linhagem L2300 foi observada na temperatura de 30°C.

Na análise genética da linhagem L2300, testou-se a hipótese de herança monogênica sob diferentes graus médios de dominância (GMD). Com base nessa análise, a hipótese de herança monogênica com dominância parcial (GMD= -0,5) no sentido do menor número de fêmeas é a mais

adequada para explicar os resultados observados ( $P=0,69$  pelo teste de qui-quadrado).

Os resultados deste trabalho mostram que as avaliações da resistência de linhagens e cultivares de feijoeiro a *H. glycines* deverão ser realizadas em temperaturas inferiores a 30 °C, concentração de inóculo de 2.000 ovos/planta, num período de 30 dias após a inoculação e usando-se como variáveis o número de fêmeas e de ovos por sistema radicular.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAWI, G.S., JACOBSEN, B.J. Effect of initial inoculum densities of *Heterodera glycines* on growth of soybean and kidney bean and their efficiency as host under greenhouse conditions. **Phytopathology**, v.74, p.1470-1474, 1984.
- ABAWI, G.S., JACOBSEN, B.J. Host efficiency and effect of initial densities of *Heterodera glycines* on growth of soybeans and dry beans under greenhouse conditions. **Phytopathology**, v.71, p.198, 1981. (Abstr.)
- ACEDO, J.R., DROPKIN, V.H., LUEDDERS, V.D. Nematode population attrition and histopatology of *Heterodera glycines* – soybean associations. **Journal of Nematology**, v.16, p. 48-57, 1984.
- ALVES, J.H., SANTOS, M.A. Levantamento de nematóides na cultura do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, p.323, 1997. (suplemento)
- AMMANTI, M., THOMASON, I.J., MCKINNEY, H.E. Retention of resistance to *Meloidogyne incognita* in *Lycopersicon* genotypes at high soil temperatures. **Journal of Nematology**, v.18, p.491-495, 1986.
- ANAND, S.C., RAO-ARELLI, A.P. Genetics analysis of soybean cyst nematode. **Crop Science**, v.29, p.1181-1184, 1989.
- ANAND, S.C., MATSON, K.W., SHARMA, B. Effect of soil temperature and pH on resistance of soybean to *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.27, p.478-482, 1995.
- ANAND, S.C., SHARMA, S.B. Genetic relationships for resistance to *Heterodera glycines* races 3 and 5 in soybean. **Journal of Nematology**, v.28, p.233-237, 1996.

- ANTUNES, I.F., TEIXEIRA, M.G., ZIMMERMANN, M.J.O. Relative performance among crossing techniques under field and greenhouse conditions on bean. **Bean Improvement Cooperative Annual Reporter**. v.23, n.1, p.117-119, 1980.
- ARELLI, P.R., DAVID, A.S., YUE, P., WILCOX, J.A. Soybean reaction to races 1 and 2 of *Heterodera glycines*. **Crop Science**, v.40, p.824-826, 2000.
- BARRET, J. **Biochemistry of parasitic helminths**. London, Macmillan Publishers. 1981. 308p.
- 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 microrganismos**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 203p. Dissertação (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, p.34-46, 1999.
- BECKER, W.F., FERRAZ, S. Reação de genótipos de feijoeiro comum ao nematóide de cisto da soja. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.559-563, 2000.
- BRASIL, Indicadores da Agropecuária, **CONAB**, Maio/2001, Brasília/DF, 50p.
- BYRD Jr., D.W., KIRPATRICK, J., BARKER, K.R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, v.15, p.142-143, 1983.
- CARTER, W.W. Influence of soil temperature on *Meloidogyne incognita* resistant and susceptible cotton, *Gossypium hirsutum*. **Journal of Nematology**, v.14, p. 343-346, 1982.
- CARVALHO, J.C. O nematóide das galhas no algodoeiro e em outros hospedeiros. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.15, p. 173-179, 1955.
- CAVINESS, C.E. Breeding for resistance to soybean cyst nematode. In: RIGGS, R.D. , WRATHER, J.A. (Eds.) **Biology and management of the soybean cyst nematode**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1992. p.143-156.
- CHITWOOD, D.J. **Biosynthesis**. In: PERRY, R.N., WRIGHT, D.J. The physiology and biochemistry of free-living and plant-parasitic nematodes. New York, CABI Publishing. 1998. p.303-330.
- CHITWOOD, D.J., KRUSBERG, L.R. Diacyl, alkylacyl, and alkenylacyl phospholipids of *Meloidogyne javanica* females. **Journal of Nematology**, v.13, p.105-111. 1981.

- COOK, R. THOMAS, B.J., MIZEN, K.A. X-ray microanalysis of feeding syncytia induced in plants by cyst nematodes. **Nematologica**, v.38, p.36-49, 1992.
- COSTA, H. **Controle da murcha de *Fusarium* em feijoeiro**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2000. 67p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.
- DIAS, W.P., SILVA, J.F.V., KIIHL, R.A.S., HIROMOTO, D.M., ABDELNOOR, R.V. Quebra de resistência da cv. Hartwig por população de campo do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p. 971-974, 1998.
- DROPKIN, V.H. The necrotic reaction of tomato and others hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. **Phytopathology**, v.59, p.1632-1637, 1969a.
- DROPKIN, V.H. Cellular response of plants to nematode infections. **Annual Review of Phytopathology**, v.7, p.101-122, 1969b.
- DUNN, R. A. Extraction of cysts of *Heterodera glycines* from soils by centrifugation in high density solutions. **Journal of Nematology**, v.1, p.7, 1969.
- EPPS, J.M., CHAMBERS, A.Y. Populations dynamics of *Heterodera glycines* under various cropping sequences in field bins. **Phytopathology**, v.55, p.100-103, 1965.
- EPPS, J.M., YOUNG, L.D., HARTWIG, E.E. Evaluation of nematicides and resistant cultivar for control of soybean cyst nematode race 4. **Plant Disease**, v.65, p.665-666, 1981.
- FASSULIOTIS, G. Species of *Cucumis* resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita acrita*. **Plant Disease Reporter**, v.51, p.720-723, 1967.
- FASSULIOTIS, G., DEAKIN, J.R., HOFFMAN, J.C. Root-knot nematode resistance in snap beans: breeding and nature of resistance. **Journal of American Society for Horticultural Science**, v.95, p. 640-645, 1970.
- FREIRE, F.C.O., FERRAZ, S. Nematóides associados ao feijoeiro na Zona da Mata, Minas Gerais, e efeito do parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* sobre o cultivar 'Rico 23'. **Revista Ceres**, v.24, p.141-149, 1977.
- GARCIA, A., SILVA, J.F.V., PEREIRA, J.E., DIAS, W.P. Manejo de *Heterodera glycines* através da rotação com milho e com mucuna-preta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 21, Maringá, 1998. (Resumos) p.46.

- GARCIA, A., SILVA, J.F.V., PEREIRA, J.E., DIAS, W.P. Rotação de culturas e manejo do solo para o controle do nematóide de cisto da soja. In: **O nematóide de cisto da soja: a experiência Brasileira/SBN-Sociedade Brasileira de Nematologia**, Jaboticabal: Artsigner Editores, 1999. p.55-70
- GIEBEL, J. Biochemical mechanisms of plant resistance to nematode: A review. **Journal of Nematology**, v.6, p.175-184, 1974
- GIBSON, D.M., MOREAU, R.A., MACNEIL, G.P., BRODIE, B.B. Lipid composition of cyst stages of *Globodera rostochiensis*. **Journal of Nematology**, v.27, p.304-311, 1995.
- GOLDEN, A.M., EPPS, J.M., RIGGS, R.D., DUCLOS, L.A., FOX, J.A., BERNARD, R.L. Terminology and identity of intraspecific forms of soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Plant Disease Reporter**, v.54, p.544-546, 1970.
- GOMEZ-TOVAR, J., MEDINA, C. *Heterodera glycines* en soya y frijol en el Valle del Cauca, Colombia. **Nematropica**, v.13, p.229-237, 1983.
- GOMES, L.A.A., MALUF, W.R., CAMPOS, V.P. Inheritance of the resistant reaction of the lettuce cultivar 'Grand Rapids' to the Southern root-knot nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Euphytica**, v.114, p. 37-46, 2000.
- HALL, R. **Compendium of bean diseases**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1991. 73p.
- HALBRENDT, J.M., LEWIS, S.A., SHIPE, E.R. A technique for evaluating *Heterodera glycines* development in susceptible and resistant soybean. **Journal of Nematology**, v.24, n.1, p.84-91, 1992.
- HANCOCK, J.A., HANCOCK, F.G., CAVINESS, C.E., RIGGS, R.D. Genetics of resistance in soybean to race X of soybean cyst nematode. **Crop Science**, v.27, p. 704-707, 1987.
- HARE, W.W. Inheritance of resistance to root knot nematode in pepper. **Phytopathology**, v.47, p.455-459, 1957.
- HARTWIG, E.E. Breeding productive soybean cultivars resistant to soybean cyst nematode for southern United States. **Plant Disease**, v.65, n.1, p.303-307, 1981.
- HOLZ, R.A., WRIGHT, D.J., PERRY, R.N. The lipid content and fatty acid composition of hatched second stage juveniles of *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. **Fundamental Applied Nematology**, v.20, p.291-298, 1997.
- HOLTZ, R.A., TROTH, K., ATKINSON, H.J. The influence of potato cultivar on lipid content and fecundity of Bolivian and British populations of *Globodera rostochiensis*. **Journal of Nematology**, v. 31, p. 357-366, 1999.

- INAGAKI, H., TSUTSUMI, M. Survival of soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* Ichinohe (Tylenchida:Heteroderidae) under certain storing conditions. **Applied Entomology and Zoology**, v.6, p.156-162, 1971.
- IRIZARRY, H., JENKINS, W.R., CHILDERS, N.F. Interaction of soil temperature and *Meloidogyne* spp. on resistance of common bean, *Phaseolus vulgaris* L., to root-knot disease. **Nematropica**, v.1,p.41-42, 1971.
- ISHIBASHI, N., KONDO, E., MURAOKA, M., YOKOO, T. Ecological significance of dormancy in plant parasitic nematode. I. Ecological difference between eggs in gelatinous matrix and cysts of *Heterodera glycines* Ichinohe. **Applied Entomology and Zoology**, v.8, p. 53-63, 1973.
- JONES, F.G.W. Soil populations of beet eelworm (*Heterodera schachtii*, Schm.) in relation to cropping. II. Microplot and field results. **Annual of Applied Biology**, v.44,p. 25-56, 1956.
- KERRY, B.R. Biological control. In: BROWN, R.H., KERRY, B.R. (Eds.) **Principles and practice of nematode control in crop**. Sidney: Academic Press, 1987. P.233-263.
- KIM, D.G, RIGGS, R. D. Biological control. In: RIGGS, R.D., WRATHER, J.A. (Eds.) **Biology and management of the soybean cyst nematode**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1992. p.133-142
- KIM, D.G., RIGGS, R.D., MAUROMOUSTAKOS, A. Variation in resistance of soybean lines to races of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.30, p.184-191, 1998.
- KINLOCH, R.A. Screening for resistance to root-knot nematodes. In: STARR, J.L. (Ed.) **Methods for evaluating plant species for resistance to plant-parasitic nematodes**. Hyattsville, Maryland, Society of Nematology, 1990. p.16-23.
- KRUSBERG, L.R. Analysis of total lipids and fatty acids of plant-parasitic nematodes and host tissues. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.21, p.83-90, 1967.
- KRUSBERG, L.R., HUSSEY, R.S., FLETCHER, C.L. Lipid and fatty acid composition of females and eggs of *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.45B, p.33-342, 1973.
- KRUSBERG, L.R., HIRSCHMANN, H. A survey of plant parasitic nematodes in Peru. **Plant Disease Reporter**, v.42, n.5, p.599-608, 1958.
- LORDELLO, L.G.E., SANTOS, C.F.O. Incidência de nematóides em culturas de feijão. **O Biológico**, v.26, p. 213-217, 1960.
- LUEDDERS, V.D. Inheritance of genes for resistance to soybean cyst nematode populations. **Crop Science**, v.29, p.667-671, 1989.

- MANSUR, L.M., CARRIQUIRY, A.L., RAO-ARELLI, A.P. Generation mean analysis of resistance to race 3 of soybean cyst nematode. **Crop Science**, v.33, p. 1249-1253, 1993.
- MASAMUNE, T., ANETAL, M., TAKASUGI, M., KATSUI, N. Isolation of a natural hatching stimulus, glycinoeclepin A, for the soybean cyst nematode. **Nature**, v. 297, p. 495-496, 1982.
- MELTON, T.A., JACOBSEN, B.J., NOEL, G.R. Effects of temperature on development of *Heterodera glycines* on *Glycines max* and *Phaseolus vulgaris*. **Journal of Nematology**, v.18, n.4, p.468-474, 1986.
- MENDES, M.L. O nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe, 1952). In: ARANTES, N. E., SOUZA, P. J. M. (Eds.). **Cultura da soja nos cerrados**. Piracicaba: Potafós, 1993. P.399-413.
- MENTEN, J.O.M., LORDELLO, L.G.E., TULMANN NETO, A. et al., Nematóides associados ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) no estado de São Paulo: Informações preliminares. In: **Reunião de Nematologia**, 4. 1980, Piracicaba. Piracicaba: Sociedade Brasileira de Nematologia, 1980. p. 205-212.
- MULLIN, B.A., ABAWI, G.S., PASTOR-CORALES, M.A. Modification of resistance expression of *Phaseolus vulgaris* to *Meloidogyne incognita* by elevated soil temperatures. **Journal of Nematology**, v.23, p.182-187, 1991.
- NIBLAKE, T.L. The race concept. In: RIGGS, R.D., WRATHER, J.A. (Eds.) **Biology and management of the soybean cyst nematode**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1992. p.73-86.
- NOEL, G.R., JACOBSEN, B.J., LEEPER, C.D Soybean cyst nematode in commercial snap beans. **Plant Disease**, v.6, p. 520-522, 1982.
- NOEL, G.R., MENDES, M.L., MACHADO, C.C. Distribution of *Heterodera glycines* races in Brazil. **Nematropica**, v.24, p. 63-68, 1994.
- OMWEGA, C.O., THOMASON, I.J., ROBERTS, P.A. Effects of temperature on expression of resistance to *Meloidogyne* spp. in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Nematology**, v.22, p. 446-451, 1990.
- PERRY, R.N. , GAUR, H.S. Host plant influence on the hatching of cyst nematodes. **Fundamental Applied Nematology**, v.19, p.1-6. 1996.
- REESE, P.F., BOERMA, H.R., HUSSEY, R.S. Heritability of tolerance to soybean cyst nematode in soybean. **Crop Science**, v.28, p. 594-598, 1988.
- RIGGS, R.D., HAMBLEN, M.L. Soybean cyst nematode host-studies in the family *Leguminosae*. **Arkansas Agricultural Experiment Station Report Series**, 110, 18p. 1962.

- RIGGS, R.D., HAMBLIN, M.L., RAKES, L. Intra-species variation in reaction to hosts in *Heterodera glycines* populations. **Journal of Nematology**, v.13, p.171-179, 1981.
- RIGGS, R.D., SCHMITT, D.P. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.20, p.392-395, 1988.
- RIGGS, R.D., SCHMITT, D.P. Soybean cyst nematode. In: SINCLAIR, J.B., BACKMAN, P.A. (Eds.) **Compendium of soybean disease**. 3 ed. Minnesota: The American Phytopathological Society, 1989. p.65-67
- ROBINSON, M.P., ATKINSON, H.J., PERRY, R.N. The effect of delayed emergence on infectivity of juveniles of potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. **Nematologica**, v.31, p.171-178, 1985.
- ROGRÍGUEZ-KÁBANA, R., PINOCHET, J., ROBERTSON, D.G., WELLS, L. Crop rotation studies with velvetbean (*Mucuna deeringiana*) for the management of *Meloidogyne* spp. **Journal of Nematology**, v.24, p.662-668, 1992.
- ROSS, J.P. effect of soil temperature on development of *Heterodera glycines* in soybean roots. **Phytopathology**, v.54, p. 1228-1231, 1964.
- SANTOS, M.L., BRAGA, M.J. Aspectos econômicos. In: VIEIRA, C., PAULA JÚNIOR, T.J., BORÉM, A. (Eds.). **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: Editora UFV, 1998. p. 19-53.
- SANTOSO, I. **The effects of various factors on the expression of genetic resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne incognita* [Kofoid and White] Chitwood) in snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.), tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), soybean (*Glycines max* Merr.), and lima bean (*Phaseolus lunatus* L.)** Ph.D. thesis, University of Hawaii, Honolulu, 1973.
- SEN, A.K., JENSEN, H.J. Host-parasite relationships of various plants and the hop cyst nematode, *Heterodera humili*. **Plant Disease Reporter**, v. 53, p.37-40, 1969.
- SILVA, J.F.V., PIZZA, S.M.T., CARNEIRO, R.G. Fungos associados a ovos de *Heterodera glycines* no Brasil. **Nematologia Brasileira**, v.18, p. 73-78, 1994.
- SILVA, J.F.V. Um histórico. In: Sociedade Brasileira de Nematologia. **O nematóide de cisto da soja: a experiência brasileira**. SBN-Sociedade Brasileira de Nematologia, Jaboticabal, Artsigner Editores, 1999. p.55-70.
- SORTLAND, M.E., MACDONALD, D.H. Effect of crop and weed species on development of Minnesota population of *Heterodera glycines* race 5 after one to three growing periods. **Plant Disease**, v. 71, p. 23-27, 1987.

- STIRLING, G.R. **Biological control of plant parasitic nematodes.** Wallingford: C..A.B. International, 1991. 282p.
- STOREY, R.M.J. The relationship between neutral lipid reserves and infectivity for hatched and dormant juveniles of *Globodera* spp. **Annual Applied Biology**, v.104, p.511-520, 1984.
- SYDENHAM, G.M., MCSORLEY, R., DUNN, R.A. Effects of temperature on resistance in *Phaseolus vulgaris* genotypes and on development of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v.29, p.90-103, 1997.
- 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, p.67-83, 1997.
- VAN GUNGY, S.D., BIRD, A.F., WALLACE, H.R. Aging and starvation in larvae of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans*. **Phytopathology**, v.57, p.550-571, 1967.
- VAN GUNDY, S.D. Biological control of nematodes: status and prospects in agricultural IMP systems. In: HOY, M.A., HERZOG, D.C. (Eds.) **Biological control in agricultural IPM systems.** New York: Academic Press, 1985.p.467-478.
- VEECH, J.A. Plant resistance to nematodes. In: ZUCKERMAN, B.M. e ROHDE, R.A. **Plant parasitic nematode.** New York, Academic Press, 1981. p.377-403.
- VENTURA, J.A., COSTA, H. Situação atual do feijoeiro e da antracnose no Estado do Espírito Santo, Brasil. In: PASTOR-CORALES, M. (Ed.). La antracnosis del frijol común, *Phaseolus vulgaris*, en América Latina. Cali:CIAT. 1992. P.69-85.
- WAIN, A.L., SILVA, J.F.V. Levantamento de ocorrência de raças de *Heterodera glycines* no Brasil. In: Congresso Brasileiro de Nematologia, XX, Gramado, RS. Resumos, p.58, 1997.
- WANG, S., RIGGS, R.D., CRIPPEN, D. Soil Infestation density affects the results of *Heterodera glycines* race tests. **Supplement to Journal of Nematology**, v.30, p. 553-562, 1998.
- WILLIAMSON, V.M., CASWELL-CHEN, E.P., WU, F.F., HANSON, D. Nematodes Identification. In: LAMBERTI, F., GIORGI, C.DE, BIRD, D.M. (Eds.) **Advances in molecular plant nematology.** New York, Plenum Press, 1994.
- WRIGHT, D.J., ROBERTS, F.T.J., EVANS, A.A.F. Effects of nematicide oxamyl on lipid utilization and infectivity in *Globodera rostochiensis*. **Parasitology**, v.98, p. 151-154, 1989.

- YORINORI, J.T. Principais doenças da cultura da soja e estratégia de controle. **Fitopatologia Brasileira**, v.20, p.276-277, 1995.
- YOUNG, L.D. Epiphytology and life cycle. In: RIGGS, R.D. , WRATHER, J.A. (Eds.) **Biology and management of the soybean cyst nematode**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1992. p.27-36.
- ZACHEO, G., ZACHEO, B., LAMBERT, F. Role of peroxidase and superoxide dismutase activity in resistant and susceptible tomato cultivars infested by *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Mediterranea**, v.10, p. 75-80, 1982.