

## CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE GENÓTIPOS DE SOJA QUANTO À RESISTÊNCIA AO NEMATOIDE RENIFORME

PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF SOYBEAN GENOTYPES FOR RESISTANCE TO RENIFORM NEMATODE

MELO, C.L.P.<sup>1</sup>; MARTINS, B.<sup>2</sup>; ASMUS, G.L.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Pesquisador, *Embrapa Agropecuária Oeste*, Dourados, MS; e-mail: lasaro@cpao.embrapa.br; asmus@cpao.embrapa.br

<sup>2</sup>Bolsista PIBIC/CNPq da *Embrapa Agropecuária Oeste*, Centro Universitário da Grande Dourados/UNIGRAN, Dourados, MS.

### Resumo

O desenvolvimento de genótipos de soja resistente ao nematoide reniforme (*Rothylemchulus reniformis*) é uma das estratégias mais econômicas e eficazes, no contexto do controle integrado deste nematoide. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a reação de genótipos de soja quanto à resistência ao *R. reniformis*. Foram avaliados 35 genótipos de soja, em condições controladas de casa de vegetação, na *Embrapa Agropecuária Oeste*, em Dourados, MS, no período de outubro de 2011 a fevereiro de 2012. Utilizaram-se as cultivares M-SOY 8001 e Custer, como padrões de resistência, e BRS 318RR, como padrão de suscetibilidade. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com seis repetições. Cada plântula foi inoculada com 1000 ovos e formas larvais do nematoide. Após 60 dias da inoculação, foram extraídos os nematoides das raízes e estimados o número de ovos e formas larvais por grama de raiz (NGR) e o fator de reprodução (FR). Oito genótipos obtiveram FR abaixo de um, bem como os padrões de resistência. Cinco genótipos apresentaram FR e NGR baixos, estatisticamente iguais a, pelo menos, um dos padrões de resistência, evidenciando a presença de variabilidade fenotípica e sucesso na seleção de genótipos resistentes ao nematoide reniforme.

### Introdução

O nematoide reniforme (*Rothylemchulus reniformis*) foi encontrado, pela primeira vez, em raízes de caupi no Haváí, em seguida foi descrito parasitando algodoeiro na Geórgia, e tomateiro na Flórida. Esta espécie apresenta ampla distribuição geográfica, podendo causar danos em cerca de 140 espécies vegetais, sendo que 57 são de importância econômica (SOARES et al., 2003). Este nematoide tem uma considerável disseminação no Brasil, parasitando raízes de abacaxizeiro, bananeira, cafeeiro, mamoneira, maracujazeiro, tomateiro e, de forma expressiva, o algodoeiro e a soja (ASMUS; ISHIMI, 2009). Em Mato Grosso do Sul (MS), populações de *R. reniformis* acima de 500 nematoides, por centímetro cúbico de solo, tem ocasionado perdas de até 32% no rendimento médio de soja (ASMUS; RODRIGUES, 2003).

Dentre os métodos de controle do nematoide reniforme o desenvolvimento e disponibilidade de cultivares resistentes é um dos mais eficazes e econômicos. A partir de 2002, com o aumento do número de áreas infestadas pelo nematoide, principalmente em MS, a busca por genótipos promissores, com resistência a esse nematoide, passou a ter relevância para o programa de melhoramento da Embrapa (ASMUS; SCHIRMANN, 2004; SANTOS, 2011; LODI et al., 2011).

A literatura indica que há genes ligados e/ou genes comuns responsáveis pela resistência tanto ao *Heterodera glycines* quanto ao *R. reniformis* (HA et al., 2007). Dessa forma, alguns autores recomendam a avaliação de genótipos oriundos das principais fontes de resistência ao *H. glycines*, como estratégia de maior eficiência e sucesso no desenvolvimento de cultivares resistentes ao *R. reniformis* (HA et al., 2007; ASMUS, 2008). Diante do exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar genótipos de soja quanto, oriundos de fontes de resistência a *H. glycines*, à resistência ao nematoide reniforme em condições controladas.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação e no Laboratório de Nematologia da *Embrapa Agropecuária Oeste*, em Dourados, MS, (22° 17' de latitude Sul, 54° 48' de longitude Oeste e 445 m de altitude), no período de 03/10/2011 a 12/02/2012. Foram testados 35 genótipos, dentre linhagens e cultivares indicadas, sendo 22 transgênicos (RR) e 13 convencionais (CONV). Foram utilizados como padrões de resistência as cultivares Custer e M-SOY 8001, e como padrão de suscetibilidade a cultivar BRS 318RR.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com seis repetições. A semeadura da soja foi realizada em recipientes de polietileno com capacidade de 500 mL, contendo mistura 1:1 (v/v) de solo e areia lavada e desinfetada pelo método de solarização (GHINI et al., 2002). Em cada recipiente foram semeadas quatro sementes em orifícios de 2 cm de profundidade, sobre as quais foram aplicados 2mL do inoculante NitraginCell Tech HC Merck (concentração de  $3 \times 10^9$  células viáveis por mL de *Bradyrhizobium* sp.) Após seis dias da semeadura, foi realizado o desbaste, deixando-se somente uma planta por recipiente. A inoculação do nematoide foi realizada dez dias após o desbaste, com uma suspensão aquosa contendo 1.000 ovos e formas larvais de uma população de nematoide oriunda do Município de Maracaju, MS, e multiplicada por, pelo menos, 120 dias em maracujazeiro azedo em condições de casa de vegetação.

Decorridos 60 dias da inoculação, os recipientes foram transportados para o laboratório e procedeu-se a separação das raízes do substrato, que após serem lavadas cuidadosamente em água corrente, foram identificadas, transferidas para sacos plásticos e armazenadas na geladeira para a sua conservação. As raízes foram pesadas em uma balança eletrônica de precisão, para obtenção do peso fresco; logo depois, iniciou-se a extração dos nematoides seguindo a metodologia de Coolen and D'Herde (1972). Para a contagem, foi usada uma alíquota de 1 ml da suspensão de nematoides obtida na extração, em câmara de Peters sob microscópio óptico.

Após a extração e contagem foram estimados o número de ovos e formas larvais por grama de raiz (NGR) e o fator de reprodução (FR). Genótipos que apresentam FR menor que um (1,0) são considerados resistentes, onde o FR (Pf/Pi) é definido pela razão entre a população final na raiz (Pf) e a população inicialmente inoculada (Pi). O NGR é definido pela razão entre o número total de nematoides nas raízes e a massa das raízes em gramas. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de agrupamento de Scott e Knott a 5% de probabilidade, com o auxílio do pacote estatístico R (Development Core Team, 2011).

## Resultados e Discussão

De acordo com os resultados obtidos na análise de variância verificou-se diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre os genótipos testados, tanto para o caráter fator de reprodução (FR), quanto para o número de nematoides por grama de raiz (NGR). Este resultado indica existência de variação fenotípica entre os genótipos testados, quanto à reação ao nematoide reniforme (Tabela 1).

Na avaliação da variável FR obtiveram-se cinco grupos de médias. Doze genótipos foram estatisticamente iguais a cultivar BRS 318RR, padrão de suscetibilidade, os quais apresentaram FR acima de um (1,0). Outros doze genótipos formaram um grupo significativamente diferente da cv. BRS 318RR, apesar de apresentarem FR estatisticamente igual ou acima de 1,0. Dez genótipos apresentaram FR abaixo de 1,0, caracterizando reação de resistência, dentre eles os padrões de resistência M-SOY-8001 e Custer (Tabela 1). Dentre os genótipos que apresentaram reação de resistência, a cultivar BRS 360RR apresentou o menor FR em magnitude, sendo a única que não diferiu da Custer.

Quanto à variável NGR, os genótipos de soja testados foram alocados em quatro grupos distintos. Doze genótipos apresentaram médias superiores e estatisticamente diferentes da cv. BRS 318RR. Esta apresentou NGR médio de 170,67, estatisticamente igual a outros 15 genótipos. Adicionalmente, as cultivares M-SOY 8001 e Custer diferiram entre si, formando

dois grupos distintos. Os genótipos BR10-5348 MS e BRS 359RR obtiveram NGR estatisticamente igual a cv. M-SOY 8001; por outro lado, os genótipos BRS 360RR, BR10-6951 MS e BR08-01935 não diferiram da cv. Custer (Tabela 1).

No Brasil já foi caracterizado a resistência ao nematoide reniforme nas cultivares de soja BRS Invernada, BRS Jiripoca, BRS ValiosaRR, BRSMG 68 (Vencedora), BRSMG 250 (Nobreza), CD 201, M-SOY 8001, TMG 113RR, TMG 115RR, TMG 121RR e BRS 295RR (ASMUS; SCHIRMANN, 2004; ASMUS, 2008; LODI et al., 2011). Todavia, a BRS 295RR ainda é a única cultivar transgênica indicada para o MS com resistência ao *R. reniformis*.

**Tabela 1.** Fatores de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raiz (NGR) de *Rotylenchulus reniformis*, em 35 genótipos de soja avaliados em casa de vegetação.

Genótipo	Evento*	FR <sup>1/</sup>	NGR <sup>1/</sup>	Genótipo	Evento*	FR <sup>1/</sup>	NGR <sup>1/</sup>
BRMS08-10409	RR	1,20 b	113,23 b	BRMS 10-10184	RR	1,41 b	169,38 b
BRMS08-10949	RR	1,33 b	120,68 b	BR10-6964 MS	CONV	2,79 a	291,02 a
BRMS08-10957	RR	2,08 a	204,83 a	BR10-6951 MS	CONV	0,24 d	25,82 d
BRMS08-10974	RR	2,33 a	196,29 a	BR10-6950 MS	CONV	0,63 c	110,00 b
BRMS08-11781	RR	2,78 a	345,96 a	BR10-7056 MS	CONV	1,22 b	114,97 b
BRMS08-11784	RR	3,08 a	342,04 a	BR10-7071 MS	CONV	0,70 c	86,75 b
BRMS08-11793	RR	1,82 a	180,16 a	BR10-7123 MS	CONV	2,44 a	351,65 a
BRMS08-11913	RR	1,47 b	88,90 b	BR10-7007 MS	CONV	1,07 b	112,63 b
BRMS08-12031	RR	1,15 b	93,71 b	BRS 359RR	RR	0,54 c	64,46 c
BRMS08-5504	CONV	2,73 a	178,62 a	BRS 360RR	RR	0,09 e	13,08 d
BR08-18234	CONV	1,35 b	101,84 b	BR09-50225	RR	1,61 a	204,15 a
BR 10-5270 MS	RR	2,63 a	321,36 a	BR08-63811	RR	0,64 c	94,12 b
BR 10-5271 MS	RR	0,98 b	86,31 b	BRQ07-00316	CONV	2,23 a	227,76 a
BR 10-5338 MS	RR	1,52 b	94,01 b	BR08-01935	CONV	0,26 d	25,33 d
BR 10-5344 MS	RR	1,79 a	205,53 a	<b>CUSTER</b>	<b>CONV</b>	<b>0,11 e</b>	<b>9,18 d</b>
BR 10-5348 MS	RR	0,70 c	60,80 c	<b>M-SOY 8001</b>	<b>CONV</b>	<b>0,24 d</b>	<b>33,50 c</b>
BR 10-5405 MS	RR	1,61 b	134,63 b	<b>BRS 318RR</b>	<b>RR</b>	<b>2,55 a</b>	<b>170,67 b</b>
BRMS09-11294	RR	1,08 b	129,23 b				
QM de genótipo		0,49**	0,52**				
Média		1,46	144,40				
Erro Padrão		±0,15	±16,16				

\*RR: genótipos transgênicos (tolerantes ao glifosato); CONV: genótipos convencionais (não transgênicos). <sup>1/</sup>Para análise estatística, utilizou-se a transformação boxcox, sendo os dados de FR transformados para  $\log(x+0,01)$  e de NGR para  $\log(x+1)$ . <sup>2/</sup>Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, pertencem ao mesmo grupo de médias pelo teste de Scott-Knott ( $p < 0,05$ ). \*\*Significativo pelo teste F ( $p < 0,01$ ).

A análise de correlação de Pearson indicou que as variáveis FR e NGR foram significativamente associadas ( $r=0,956$ ,  $p<0,01$ ), ou seja, quanto menor o valor de FR, menor foi o valor de NGR correspondente e vice-versa. Conforme Oostenbrink (1966), dez genótipos seriam classificados como resistentes ao nematoide reniforme, apresentando FR menor que um. Entretanto, se considerarmos a combinação das duas variáveis em análise (FR e NGR), somente os genótipos BR 10-5348 MS, BRS 359RR, BRS 360RR (transgênicas), BR10-6951 MS e BR08-01935 (convencionais) obtiveram FR menor que um (1,0) e NGR estatisticamente iguais a cv. M-SOY 8001 ou a Custer.

Vale ressaltar que a maioria desses genótipos está em fase de avaliação agrônômica em condições de campo infestado por populações de *R. reniformis*, o que permitirá a mensuração do potencial produtivo.

## Conclusões

- A existência de variabilidade fenotípica permitiu a seleção de genótipos de soja resistentes ao *R. reniformis*, com FR abaixo de 1,0 e baixo NGR.
- A forte associação entre as variáveis FR e NGR indica a possibilidade de avaliação de somente uma para se obter sucesso na seleção de genótipos resistentes ao nematoide reniforme.

## Referências

ASMUS, G. L. Reação de genótipos de soja ao nematoide reniforme. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 33, n. 1, p. 69-71, jan. 2008.

ASMUS, G. L.; ISHIMI, C. M. Flutuação populacional de *Rotylenchulus reniformis* em solo cultivado com algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 44, n. 1, p. 51-57, jan. 2009.

ASMUS, G. L.; SCHIRMANN M. R. Reação de cultivares de soja recomendadas no Mato Grosso do Sul ao nematoide reniforme. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 2, p. 239-240, jul. 2004.

ASMUS, G. L.; RODRIGUES, E. Danos em soja associados ao nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) em Mato Grosso do Sul. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 25, 2003, Uberaba. **Resumos**. Londrina: Embrapa Soja; Belo Horizonte: EPAMIG: Fundação Triângulo, 2003. p. 210. (Embrapa Soja. Documentos, 209).

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A. **Method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77 p.

HA, B. K.; ROBBINS, R.; HAN, F.; HUSSEY, R. S.; SOPER, J. F.; BOERMA, H. R. SSR mapping and confirmation of soybean QTL from PI 437654 conditioning resistance to reniform nematode. **Crop Science**, Madison, v. 47, n. 4, p. 1336-1343, July 2007.

GHINI, R.; SCHOENMAKER, I. A. S.; BETTIOL, W. Solarização do solo e incorporação de fontes de matéria orgânica no controle de *Pythium spp.* **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 9, p. 1253-1261, set. 2002.

LODI, K. C.; MELO, C. L. P.; ASMUS, G. L. Fenotipagem de genótipos de soja quanto à resistência ao nematoide reniforme em casa de vegetação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 6., 2011, Búzios. **Panorama atual e perspectivas do melhoramento de plantas no Brasil**. [Búzios]: SBMP, 2011. 1 CD-ROM

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededelingen Landbouwhogeschool**, Wageningen, v. 66, n. 4, p.1-46, Oct. 1966.

R: A LANGUAGE and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing 2011. 409 p. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 29 de fevereiro de 2012.

SANTOS, W. R. **Prospecção fenotípica de genótipos de soja resistentes ao nematoide reniforme**. 2011. 94 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Aquidauana, 2011.

SOARES, P. L. M.; SANTOS, J. M. LEHMAN, P. S. Estudo morfométrico comparativo de populações de *Rotylenchulus reniformis* (Nemata: Rotylenchulinae) do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 28, n. 3, p. 292-297, maio 2003.