

## DISTRIBUIÇÃO DE RAÇAS DE *HETERODERA GLYCINES* NO BRASIL

Waldir Pereira Dias; João Flávio Veloso Silva;

Adriana Luisa Wain & José Erivaldo Pereira

Centro Nacional de Pesquisa de Soja-Embrapa Soja

CP 231, 86 001-970, Londrina, PR

O nematóide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines*, apresenta grande variabilidade genética (Ross, 1962; Miller, 1969<sup>ab</sup>; Riggs et al., 1968, 1981). Isto ficou muito bem documentado com o uso de variedades resistentes nos E.U.A. A raça 3 era predominante quando a primeira variedade com resistência - 'Pickett' - foi liberada. Depois de poucos anos, a raça 4, atualmente classificada como 14 (Riggs & Schmitt, 1988), foi detetada em algumas áreas. Novamente outra cultivar resistente - 'Bedford' - foi utilizada nas áreas com problema e a raça do nematóide mudou, tornando-se agora raça 5 (Young, 1992). Desta forma, o acompanhamento e a classificação da capacidade parasitária de uma determinada população é fundamental para a utilização racional das variedades resistentes.

Pesquisadores verificaram que populações do NCS, geograficamente distintas, exibiam capacidades idênticas de reprodução em cultivares/introduções de plantas (PI) de soja resistentes, sendo assim possível a classificação desses isolados. Golden et al. (1970) propuseram o termo raça para separar isolados, com base num teste de hospedeiros diferenciadores. As linhas de soja escolhidas foram duas cultivares, Peking e sua derivada Pickett, e duas PI's, 88788 e 90763. A cultivar Lee foi recomendada como um padrão de suscetibilidade.

A designação da raça é dada pelo número de fêmeas que se desenvolve sobre cada genótipo diferenciador, em relação ao número encontrado em 'Lee'. Desse modo, para cada diferenciadora, é calculado um índice de fêmeas (IF). IF(%) = (número médio de fêmeas encontrado na diferenciadora/número médio de fêmeas encontrado em 'Lee') X 100. Se a diferenciadora apresenta um IF menor que 10%, ela é classificada como resistente (-). Ao contrário, se apresenta IF maior ou igual a 10%, é tida como suscetível (+). Pelo esquema de Golden et al. (1970), somente é

possível a identificação das raças 1, 2, 3 e 4.

Com o incremento do uso de variedades de soja resistentes ao NCS, foram surgindo populações do nematóide que não se encaixavam no modelo proposto por Golden et al. (1970). Na ausência de uma melhor alternativa, Riggs & Schmitt (1988) expundiram o esquema original de Golden et al. (1970). Pelo esquema expandido, que é o adotado atualmente, tornou-se possível a identificação de até 16 raças (Quadro 1). Entretanto, as raças 11, 12, 13 e 16 são apenas hipotéticas, visto que a cultivar Pickett não herdou todos os genes para resistência de 'Peking' (Riggs et al., 1977).

Essa categorização de raças é bastante artificial, pois a diferenciação entre resistência e suscetibilidade é definida através de uma estimativa pontual (10%), arbitrada por Golden et al. (1970). Populações do NCS com IF muito próximos de 10%, dependendo do ambiente, podem comportar-se no campo como uma outra raça. Para essas situações, uma abordagem que utiliza a estimativa do intervalo de confiança para os 10% e que incorpora um grau de probabilidade associado à raça identificada, foi proposta por Pereira et al. (1998), facilitando o entendimento da capacidade parasitária das populações do NCS.

Quadro 2. Reação das cultivares diferenciadoras de raças do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* (Riggs & Schmitt, 1988).

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

+ Suscetível; - Resistente.

No final da década de 80, foi identificada como uma nova fonte de resistência ao NCS, a PI 437654. Esse genótipo apresenta resistência a todas as raças conhecidas (Anand et al., 1988; Anand, 1991, 1992) e é largamente utilizado como fonte de resistência nos programas de melhoramento genético de soja. 'Hartwig' é o resultado do cruzamento da PI 437654 com 'Forrest', resultou. Essa cultivar, igualmente resistente a todas as raças, tem sido amplamente empregada para o desenvolvimento de cultivares de soja com resistência ao NCS no Brasil. A pressão de seleção dessa nova fonte de resistência (PI 437654 e sua descendência), possivelmente, resultará em alterações na capacidade genética do nematóide em parasitar, de modo a surgirem populações capazes de se multiplicarem nesses materiais. Para tentar detectar essas mudanças, Schmitt & Shannon (1992) e Rao-Arelli et al. (1992) propuseram a inclusão de PI 437654 como genótipo adicional nos testes para a identificação de raças do NCS. Na Embrapa Soja, além da PI 437654, também é rotina a inclusão da cultivar Hartwig, o que possibilitou a detecção, no País, da raça 4\* (Dias et al., 1998). Trata-se de populações encontradas no município de Sorriso (MT) que tem o comportamento das raças 4 e 14 tradicionais, mas que, também, são capazes de quebrar a resistência de 'Hartwig'. Esses foram os primeiros relatos de quebra da resistência da cv. Hartwig por uma população de campo do NCS. Curiosamente, essa população apareceram no País antes mesmo do nematóide ter sofrido pressão de seleção, pelo cultivo de variedades de soja com esse tipo de resistência. Provavelmente, aparecerão no País outras populações parasitando 'Hartwig'. Portanto, no Brasil, essa cultivar deverá estar sempre presente nos testes para a identificação de raças do NCS.

Riggs et al. (1988) alertam que as diferenças nas condições em que são conduzidos os testes, podem influenciar na identificação da raça. A origem das sementes das diferenciadoras, o nível e o modo de preparo do inóculo, a idade da muda, o tamanho e o material do vaso, a temperatura do solo e a época da avaliação são alguns dos fatores que podem contribuir para aumentar a variabilidade destes testes (Riggs & Schmitt, 1988; Young, 1982; Brito et al., 1995). Uma padronização dos procedimentos a serem adotados foi proposta por Riggs & Schmitt (1991). Em observância a essa recomendação, nos testes realizados na Embrapa Soja, procura-se sempre empregar a seguinte metodologia:

O inóculo das diferentes populações de *H. glycines* é obtido de solo naturalmente infestado, coletado em diferentes locais do País e mantido em

vasos de argila com capacidade para 5 litros, em casa-de-vegetação, com temperatura de 25-30°C. A cultivar de soja Embrapa-20 é semeada e deixada crescer por, no máximo, 60 dias, para que as populações do nematóide atinjam níveis suficientes para a instalação dos ensaios. Neste ponto, as plantas são recolhidas e os sistemas radiculares submetidos à extração das fêmeas, utilizando-se de peneiras com malha 20 e 100. As fêmeas são rompidas com tubo de ensaio, sobre a peneira com malha 100, acoplada a uma de 500. Os ovos recolhidos da peneira com malha 500 são centrifugados em solução de sacarose (454 g de açúcar/L de água) a 2400 r.p.m. durante 1 minuto. Em seguida, são coletados em bêquer e quantificados, utilizando-se de câmara de Peters, sob microscópio óptico. Sementes de soja da série diferenciadora ('Pickett', 'Pecking', PI 88788, PI 90763) e das testemunhas 'Lee-68' (suscetível), 'Hartwig' e PI 437654 (resistentes) são germinadas em areia. Quando as plântulas atingem 2-3 dias de idade, são transplantadas para vasos de argila com capacidade para 0,5 litro (uma plântula por vaso), contendo uma mistura de solo e areia, na proporção 1:2. Simultaneamente ao transplantio, cada plântula é inoculada com 4 mL de uma suspensão contendo 1000 ovos/mL. Os vasos são mantidos em casa-de-vegetação (25 a 30°C), num delineamento inteiramente casualizado com sete repetições por diferenciadora, por 28-30 dias, quando se dá a avaliação. Para a avaliação, o sistema radicular de cada planta é cuidadosamente retirado do vaso e lavado sob jato forte de água em peneira com malha 20, acoplada sobre uma de 60. As fêmeas do nematóide, retidas na peneira com malha 60, são coletadas em um bêquer. Em seguida, são transferidas para placas quadriculadas e contadas, sob microscópio estereoscópico. Para cada diferenciadora, é calculado um índice de fêmeas (IF) e a raça é identificada utilizando-se do esquema de Riggs & Schmitt (1988).

O primeiro levantamento de raças de *H. glycines*, no Brasil, foi realizado por Noel et al. (1994), que detectaram as raças 2, 3, 4, 5, 10 e 14 (Quadro 2). Nas safras 1995/96, 1996/97 e 1997/1998, cerca de 70 populações do NCS foram coletadas em diferentes localidades do País e levadas para a Embrapa Soja para a determinação das raças. Foram encontradas as raças 3, 6, 9 e 14 na safra 1995/96, as raças 1, 2, 3, 4<sup>+</sup>, 5, 6 e 9 na safra 1996/97 as raças 3, 4, 6, 9, 10 e 14 na safra 1997/98 e as raças 1, 3, 4, 5, 6, 14<sup>+</sup> na safra 1998/99 (Quadro 2). Os resultados mostram que, apesar de a constatação do NCS no Brasil ser recente e de o nematóide praticamente ainda não ter sofrido pressão de seleção pelo uso de cultivares

de soja resistentes, 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; Wain & Silva, 1997; Dias et al., 1997, 1998).

Nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná, ocorre somente a raça 3. No Rio Grande do Sul, onde o nematóide só foi encontrado uma única vez, a raça presente é a 6. Em Goiás, já se registrou a ocorrência das raças 3, 4, 6, 9 e 14. No Mato Grosso do Sul, além das raças relatadas em Goiás, também ocorre a raça 10. No Estado do Mato Grosso, já foram encontradas as raças 1, 2, 3, 4<sup>+</sup>, 5, 6, 9, 10-14 e 14<sup>+</sup> (Quadro 2).

Parece haver tendência da ocorrência de um maior número de raças à medida que se caminha para o norte do País. O acompanhamento da evolução dessas raças deve ser atividade constante para dar suporte aos programas de melhoramento genético, visando a criar cultivares de soja resistentes e orientar os sojicultores na escolha de variedades adequadas para as áreas infestadas. Esse grande número de raças demonstra uma elevada variabilidade genética do NCS no País, exigindo um constante desenvolvimento de novas variedades resistentes.

Com o surgimento, no país, das primeiras variedades de soja resistentes ao NCS, os agricultores devem ser orientados no sentido de evitarem o uso contínuo de uma mesma variedade resistente, ou de variedades com a mesma fonte de resistência, numa determinada área. Isso contribuirá para que a pressão de seleção não seja suficiente para provocar a mudança da raça, aumentando, assim, a vida útil das cultivares.

Quadro 2. Distribuição de raças de *Heterodera glycines* no Brasil.

Estado/Município	Noel et al (1994)	Embrapa Soja Safra 1995/96	Embrapa Soja Safra 1996/97	Embrapa Soja Safra 1997/98	Embrapa Soja Safra 1998/99*
Goiás	3 e 14	1, 9 e 14	4 e 6	3, 4, 6, 9 e 14	6 e 14
Chapadão do Córrego	3 e 14	9 e 14	4 e 6	4, 9 e 14	6
Jataí	-	14	-	6 e 14	-
Mineiros	-	3	-	-	-
Rio Verde	-	-	-	-	-
Rio Verde	-	-	-	-	14
Mato Grosso do Sul	4, 10 e 14	3, 6 e 9	4 e 6	-	4, 6 e 14
Chapadão do Sul	4 e 14	-	4 e 6	-	4 e 6
Costa Rica	10	6	-	-	-
Águia Clara	-	3 e 9	-	-	-
Camapuã	-	6	-	-	-
Alcinópolis	-	-	-	-	14
Mato Grosso	2, 3 e 5	-	1, 2, 3, 4, 5 e 9	10 e 14	1, 3, 5 e 14
Campo Verde	3 e 5	-	2 e 5	-	-
Jaciara	2	-	-	-	2
Diamantino	1	-	3	-	-
Tangará da Serra	1	-	1	-	-
Campo N. do Parecis	3	-	3	-	-
Campos de Júlio	-	-	9	-	-
Primavera do Leste	-	-	1	-	1 e 3
Sorriso	-	-	4	-	14
Altô Taquari	-	-	-	10 e 14	3
Deciobândia	-	-	-	-	3
Minas Gerais	3	1	-	3	3
Nova Ponte	3	-	-	-	3
Iraí de Minas	3	-	-	3	-
Indianópolis	-	1	-	-	-
Pedrinópolis	-	1	-	3	-
Paloté de Minas	-	1	-	-	-
Perdizes	-	-	-	3	-
Presidente Olegário	-	-	-	3	-
Monte Carmelo	-	-	-	3	-
Araguari	-	-	-	3	-
Uberaba	-	-	-	3	-
Uberlândia	-	-	-	3	-
Romaria	-	-	-	3	-
Santa Juliana	-	-	-	3	-
Coromandel	-	-	-	3	-
São Paulo	-	-	1	-	-
Florínea	-	-	-	-	-
Tarumã	3	-	3	-	-
Paraná	-	-	-	-	-
Serrana	-	-	-	-	-
Rio Grande do Sul	6	-	-	-	-
Crucero do Sul	6	-	-	-	-

\*Dados ainda não publicados

## LITERATURA CITADA

- ANAND, S.C. Registration of soybean germplasm line S88-2036 having multiple-race soybean cyst nematode resistance. *Crop Science*, 31:856, 1991.
- Registration of Hartwig soybean. *Crop Protection*, 36: 1069-1070, 1992.
- ANAND, S.C.; K.M. GALLO; I.A. BAKER & E.E. HARTWIG. Soybean plant introductions with resistance to races 4 or 5 of soybean cyst nematode. *Crop Science*, 28: 563-564, 1988.
- BRITO, C.H.; T. SEDIYAMA; W.P. DIAS & S. FERRAZ. Influência do tipo de vaso na multiplicação de *Heterodera glycines* Ichinohe. In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, XVII, Goiânia, GO. Ata e Resumos. Eingopa/Embrapa Soja. p. 162, 1995.
- DIAS, W.P.; A.L. WAIN & J.F.V. SILVA. Monitoramento de raças do nematóide de cisto da soja (NCS), *Heterodera glycines*, no Brasil (Safra 1996/97). In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA, DA REGIÃO SUL, XXV, Passo Fundo, RS. Ata e Resumos. Embrapa Trigo. p.168, 1997.
- DIAS, W.P.; J.F.V. SILVA; R.A.S. KIIHL; D.M. HIROMOTO & R.V. ABDELNOOR. Quebra da resistência da cv. Hartwig por população de campo do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). Pesquisa Agropecuária Brasileira, 33: 971-974, 1998.
- GOLDEN, A.M.; J.M. EPPS; R.D. RIGGS; L.A. DUCLOS; J.A. FOX & R.L. BERNARD. Terminology and identity of intraspecific forms of the soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). *Plant Dis. Rptr.*, 54: 544-546, 1970.
- MILLER, L.I.. Physiologic variation of six isolates of the soybean cyst nematode. *Phytopathology*, 59: 1558 (Abstract), 1969.<sub>a</sub>
- Physiologic variation of five isolates of the soybean cyst nematode. *Virginia J. Sci.*, 29: 991969.<sub>b</sub>
- NOEL, G.R.; M.L. MENDES & C.C. MACHADO. Distribution of *Heterodera glycines* races in Brazil. *Nematropica*, 24: 63-68, 1994.

PEREIRA, J.E.; J.F.V. SILVA,; W.P. DIAS, & G.S. SOUZA, Winsorização e simulação via "Bootstrap" como ferramentas para classificar raças do nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe. In: Reunião Anual da Região Brasileira Sociedade Internacional de Biometria, 43, Araçatuba, SP. Resumos, UNESP. p.86, 1998.

RAO-ARELLI, A.P.; J.A. WRATHER & S.C. ANAND, 1992. Genetic diversity among isolates of *Heterodera glycines* and sources of resistance in soybeans. Plant Dis. Rept., 76: 894-896.

RIGGS, R.D. & D.P. SCHMITT. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. J. Nematol., 20: 392-395, 1988.

-----Optimization of the *Heterodera glycines* race test procedure. J. Nematol., 23: 149-154, 1991.

RIGGS, R.D.; D.A. SLACK & M.L. HAMBLEN. New biotype of soybean cyst nematode. Arkansas Farm. Res., 17: 11, 1968.

RIGGS, R.D.; M.L. HAMBLEN & L. RAKES. Development of *Heterodera glycines* pathotypes as affected by soybean cultivars. J. Nematol., 9: 312-318, 1977.

RIGGS, R.D.; M.L. HAMBLEN & L. RAKES. Infra-species variation in reaction to hosts in *Heterodera glycines* populations. J. Nematol., 13: 171-179, 1981.

RIGGS, R.D. & D.P. SCHMITT & G.R. NOEL. Variability in race tests with *Heterodera glycines*. J. Nematol., 20: 565-572, 1988.

ROSS, J.P. Physiological strains of *Heterodera glycines*. Plant Dis. Rept., 46: 766-769, 1962.

SCHMITT, D.P. & G. SHANNON. Differentiating soybean responses to *Heterodera glycines* races. Crop Science, 32: 275-277, 1992.

WAIN, A.J. & J.F.V. SILVA. Levantamento de ocorrência de raças de *Heterodera glycines* no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, XX, Gramado, RS. Resumos. p.58, 1997.

YOUNG, L.D. Reproduction of Tennessee soybean cyst nematode population on cultivars resistant to race 4. Plant Dis. Rptr., 66: 251-252, 1982.

-----Problems and strategies with long-term use of nematode resistant cultivars.

J. Nematology, 24(2): 228-233, 1982.