



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FITOPATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOPATOLOGIA

**NEMATOIDES ASSOCIADOS À CULTURA DA SOJA
NA REGIÃO INTEGRADA DE DESENVOLVIMENTO DO
DISTRITO FEDERAL E ENTORNO-RIDE**

PEDRO VICTOR VERLAGE ALVES

BRASÍLIA-DF

2015

PEDRO VICTOR VERLAGEALVES

**NEMATOIDES ASSOCIADOS À CULTURA DA SOJA NA REGIÃO INTEGRADA
DE DESENVOLVIMENTO DO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO-RIDE**

**Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Fitopatologia, do Departamento de
Fitopatologia do Instituto de ciências
Biológicas da Universidade de Brasília,
como requisito parcial para obtenção
do grau de Mestre em Fitopatologia.**

Orientador: Prof. Cleber Furlanetto

BRASÍLIA

2015

FICHA CATALOGRÁFICA

Alves, Pedro Victor Verlage.

Nematoides Associados à Cultura da Soja na Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno-RIDE/ Pedro Victor Verlage Alves.

Brasília, 2015.

66 p.: il.

Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, Universidade de Brasília, Brasília.

1. Palavra-chave Doenças – grãos – Centro-Oeste

I. Universidade de Brasília. PPG/FIT.

II. Título de Mestre.

DEDICATÓRIA

**Dedico este trabalho aos meus
avós e toda minha família.**

AGRADECIMENTOS

A princípio gostaria de agradecer a Deus pelos dons a mim oferecidos e a sorte de ter uma família que sempre me apoiou nas minhas decisões.

Mas não poderia de deixar de agradecer a meu orientador Cleber Furlanetto e professores Juvenil Enrique Cares, Adalberto Corrêa Café filho, Carlos Hidemi Uesugi, Helson Mário Martins do Vale, José Carmine Dianese, Luiz Eduardo Bassay Blum, Marisa Álvares da Silva Velloso Ferreira, Renato de Oliveira Resende, Rita de Cássia Pereira Carvalho, e colegas Guilherme Alvares Lapidus, Ícaro de Sousa Ribeiro, Josiane Goulart Batista, Juliana Osse de Souza, Kamila Pereira de Araújo, Leydy Lorena Mendoza Tobar, Marcella Teles dos Reis, Nédio Rodrigo Tormen, Rafaela Cristina Ferreira Borges, Rayane dos Santos Lima, Vanessa da Silva Mattos, Amanda de Melo Gonçalves, Cecília da Silva Rodrigues, Cleia dos Santos Cabral, Fabiane Silva Dorosci Brito, Frederick Mendes Aguiar, Gláucia Garcia Figueiro, Jessica da Mata dos Santos Monteiro, Justino José Dias Neto, Larissa de Brito Caixeta, Nancy Eunice Niño Castañeda, William Rosa de Oliveira Soares, Elenice, Karina, Carine, Carina, Carol, Ricardo, Josefa Neiane Goulart Batista, Alaerson Geraldine, Débora Gutieres e João, por partilharem conhecimento, experiência, companheirismo, e também, pelo incentivo à superação.

Agradeço ao Ribamar pela atenção nos processos burocráticos, ao César, Arlindo e Marivaldo pela condução do transporte às fazendas do levantamento e à boa vontade.

Agradeço também aos alunos de PIBIC Deborah, Ramón e Thiago.

Agradeço também às instituições que me auxiliaram e financiaram, permitindo a viabilidade e desenvolvimento deste levantamento entre elas: Capes, FAPE-DF, UnB, Embrapa Soja, Tchê, Vegetal e SIAP.

Muito obrigado ao Dr. Valdir Pereira Dias por realizar a identificação dos nematoides de cisto.

Obrigado especial a Larissa de Souza Farias.

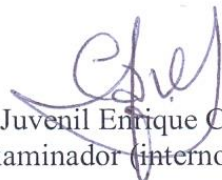
Saibam que sempre levarei todos nas minhas boas recordações.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Fitopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, sob orientação do **Professor Cleber Furlanetto**, com apoio da CAPES e do Decanato de Extensão (DEX-UnB) Edital 03/2013.

**NEMATOIDES ASSOCIADOS À CULTURA DA SOJA NA REGIÃO INTEGRADA
DE DESENVOLVIMENTO DO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO-RIDE**

PEDRO VICTOR VERLAGE ALVES

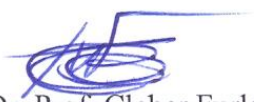
DISSERTAÇÃO APROVADA em 30/09/2015 por:



Prof. Juvenil Enrique Cares
Examinador (interno)



Dra. Regina M. D. Gomes Carneiro
Examinadora (Externa)



Prof. Dr. Prof. Cleber Furlanetto
Orientador (Presidente)

BRASÍLIA – DISTRITO FEDERAL
BRASIL
2015

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	2
2.1 OBJETIVO GERAL.....	2
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
3 REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1 REGIÃO INTEGRADA DE DESENVOLVIMENTO DO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO (RIDE).....	3
3.2 A CULTURA DA SOJA.....	4
3.2.1 Histórico	4
3.2.2 Aspectos botânicos.....	5
3.2.3 Importância econômica	6
3.2.4 A soja no Cerrado.....	7
3.2.5 Valor nutricional	8
3.2.6 Estresses bióticos.....	9
3.2.7 Nematoides parasitas da cultura da soja no Brasil.....	10
3.2.8 Manejo de doenças da soja.....	15
3.3 LEVANTAMENTO DE NEMATOIDES NA CULTURA DA SOJA	17
3.4 IDENTIFICAÇÃO DE NEMATOIDES	18
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 AMOSTRAGEM.....	18
4.2 EXTRAÇÃO DE NEMATOIDES	20
4.3 OBTENÇÃO DE POPULAÇÕES DE <i>MELOIDOGYNE</i> E DETERMINAÇÃO DE RAÇAS DE <i>HETERODERA GLYCINES</i>	21
4.4 EXTRAÇÃO DE OVOS E J2 DE <i>MELOIDOGYNE</i> SPP. EM RAÍZES DE TOMATEIRO....	21
4.5 IDENTIFICAÇÃO DE NEMATOIDES	22
4.5.1 Fenótipo isoenzimático para esterase	22
4.5.2 Extração de DNA genômico e identificação de <i>Meloidogyne</i> por PCR.....	23

4.5.3	Reações de PCR.....	23
4.6	IDENTIFICAÇÃO DE <i>PRATYLENCHUS</i> SP.	24
4.7	QUANTIFICAÇÃO DE <i>PRATYLENCHUS</i> , DETERMINAÇÃO DO NÍVEL DE INFESTAÇÃO E PRESERVAÇÃO EM SOLUÇÃO DE DESS-EDTA.....	25
4.8	FIXAÇÃO DE NEMATOIDOSE PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	25
5	RESULTADOS	26
5.1	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE <i>PRATYLENCHUS</i>	26
5.2	IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE <i>MELOIDOGYNE</i> SPP.....	32
5.3	QUANTIFICAÇÃO DE CISTOS E J2 DE <i>HETERODERA GLYCINES</i> E DETERMINAÇÃO DE RAÇA FISIOLÓGICA	37
5.4	OUTROS NEMATOIDES FITOPARASITAS	38
6	CONCLUSÕES	47
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
	ANEXO 1	64
	ANEXO 2	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Coordenadas geográficas de sítios de coleta de amostras nematológicas em municípios da RIDE.	19
Tabela 2. Características de marcadores SCAR espécie-específicos para <i>Meloidogyne</i> spp... 23	
Tabela 3. Nível populacional em amostras de 300 cc de solo de <i>Pratylenchus brachyurus</i> em municípios da RIDE-DF.....	30
Tabela 4. Nematoides extraídos de raízes de soja coletadas em propriedades rurais da RIDE.	31
Tabela 5. Quantificação e identificação de populações de <i>Meloidogyne</i> spp. coletadas na RIDE.....	36
Tabela 6. Cistos e J2 de <i>Heterodera glycines</i> detectados em amostras de 300 cc de solo em municípios da RIDE.	37
Tabela 7. Determinação de raças de <i>Heterodera glycines</i> em municípios da RIDE.	38
Tabela 8. Ocorrência simultânea de <i>Pratylenchus brachyurus</i> , <i>Heterodera glycines</i> e <i>Meloidogyne</i> spp. em municípios da RIDE a partir de amostras de 300 cc de solo.	40
Tabela 9. Nível populacional de nematoides por amostra em municípios da RIDE-DF (nematoides/300cc de solo).	41
Tabela 10. Raça de <i>Heterodera glycines</i> em Cristalina-GO.	64
Tabela 11. Raça de <i>Heterodera glycines</i> em Luziânia-GO.....	64
Tabela 12. Raça de <i>Heterodera glycines</i> no PAD-DF e Planaltina-GO.	65
Tabela 13. Raça de <i>Heterodera glycines</i> em Cabeceira Grande-MG e Unaí-MG.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa da Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE).....	4
Figura 2. Mapa dos estados brasileiros produtores de soja.	7
Figura 3. Lavoura de soja com enfezamento de plantas em reboleiras causado por <i>Pratylenchus brachyurus</i>	20
Figura 4. Micrografias ao microscópio eletrônico de varredura com vista lateral da região cefálica (A) e da cauda (B) de <i>Pratylenchus brachyurus</i>	27
Figura 5. Micrografias ao microscópio Óptico de <i>Pratylenchus brachyurus</i> . A- região anterior; B- região Posterior mostrando a vulva, ânus e cauda conóide.	28
Figura 6. Fêmea de <i>Pratylenchus brachyurus</i>	29
Figura 7. Gel de agarose da amplificação por PCR de fragmentos de DNA genômico de 267 pb referentes a 8 populações de <i>Pratylenchus brachyurus</i> (P1 a P8) coletadas na RIDE. M = marcador molecular 1 Kb Plus DNA Ladder.	29
Figura 8. Fenótipo de esterase (J3) em populações de <i>Meloidogyne javanica</i> coletadas na RIDE.....	32
Figura 9. Gel de poliacrilamida com fenótipo Esterase A2 detectado a partir de fêmeas individuais extraídas de raiz de tomateiro (amostra A11).....	33
Figura 10. PCR com primers específicos para <i>Meloidogyne incognita</i> e <i>M. javanica</i> . M= 1 Kb Plus DNA Ladder; pb= pares de base; A= amostra.	34
Figura 11. PCR com primers específicos para <i>Meloidogyne arenaria</i> e <i>M. hapla</i> . M= 1 Kb Plus DNA Ladder; pb= pares de base; A= amostra.	34

RESUMO

A Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE) é composta por 22 municípios distribuídos pelos Estados de Goiás (19), Minas Gerais (3) e Distrito Federal. Nessa região a principal commodity é a soja. Um dos principais problemas fitossanitários desta cultura é causado pelo parasitismo de nematoides. Com o objetivo de conhecer os nematoides associados à cultura da soja na RIDE foi realizado um levantamento visando a identificação e quantificação de espécies fitoparasitas relevantes de nematoides associados. Foram coletadas 70 amostras de solo e de plantas de soja em municípios da RIDE para a extração de nematoides de solo e de raízes. Após a extração, os nematoides foram identificados a nível de gênero, espécie e raça e quantificados por grama de raiz e 300 cc de solo. *Pratylenchus brachyurus* foi identificado por marcador molecular e com base em caracteres morfológicos e morfométricos, bem como os demais gêneros identificados. A identificação de nematoides de galha foi realizada com base no fenótipo das esterases e em marcadores moleculares mediante reações de PCR. Cistos de *Heterodera glycines* foram extraídos dos solos visando a inoculação de ovos e J2 em plantas de soja hospedeiro-diferenciadoras para a identificação de raças fisiológicas. Identificou-se *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne arenaria* (EST-A2), *M. javanica* (EST-J3), *M. incognita* e *Heterodera glycines* raça 3 como os principais nematoides causadores de dano econômico à soja na RIDE. Os níveis de infestação para *Meloidogyne* spp., *H. glycines* e *P. brachyurus* variaram entre as amostras analisadas para os diferentes municípios amostrados. *Heterodera glycines*, *Rotylenchulus reniformis* e *Tylenchorhynchus* sp. tiveram o seu primeiro relato no Distrito Federal para a cultura da soja. Foram encontrados também outros nematoides fitoparasitas como *Helicotylenchus* spp., *Criconemoides* spp., *Trichodorus* spp., além de nematoides micófagos (*Aphelenchus* e *Aphelenchoides*), bacteriófagos (*Acrobeles* e *Rhabditis*), predadores (Mononchida) e onívoros (Dorylaimida) e outros Tylenchina não identificados.

ABSTRACT

The Integrated Development Region of the Federal District and surrounding areas (RIDE) is composed of 22 municipalities distributed in the states of Goiás (19), Minas Gerais (3) and the Federal District. In this region the main commodity is soybean. One of the main phytosanitary problems of this crop is caused by parasitic nematodes. In order to know the nematodes associated with soybean in the RIDE was conducted a survey aimed to identifying and quantify relevant phytoparasitic species and associated nematodes. Seventy samples were collected from soil and soybean roots in the RIDE municipalities for the extraction of soil and root nematodes. After extraction, the nematodes were identified to genus, species and race when possible, then quantified by gram of root and 300 cc of soil. *Pratylenchus brachyurus* was identified by molecular markers and based on morphological and morphometric characters, as other nematodes. Identification of root-knot nematodes was based on the phenotype of esterase and molecular markers using PCR reactions. Cysts of *Heterodera glycines* were extracted from the soil aiming to inoculate eggs and J2 in host-differentiating soybean genotypes for the identification of physiological races. It was identified *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne arenaria* (EST-A2), *M. javanica* (EST-J3), *M. incognita* and *Heterodera glycines* race 3 as the main cause of economic damage by nematodes to soybeans in the RIDE. Infestation levels for *Meloidogyne* spp., *H. glycines* and *P. brachyurus* varied among samples analyzed for the different sampled municipalities. This is the first report of *Heterodera glycines*, *Rotylenchulus reniformis* and *Tylenchorhynchus* sp. in the Federal District to soybean crop. Also found other plant parasitic nematodes as *Helicotylenchus* spp., *Criconemoides* spp., *Trichodorus* spp., and mycophagous nematodes (*Aphelenchus* and *Aphelenchoides*), bacteriophages (*Acrobeles* and *Rhabditis*), predators (Mononchida) and omnivores (Dorylaimida) and other unidentified Tylenchina.

1 INTRODUÇÃO

A Região Integrada de Desenvolvimento econômico do Distrito Federal e Entorno (RIDE/DF) foi criada pela Lei Complementar nº 94, de 19 de fevereiro de 1998, e regulamentada pelo Decreto n.º 7.469, de 04 de maio de 2011, para efeitos de articulação da ação administrativa da União, dos Estados de Goiás, Minas Gerais e do Distrito Federal. A RIDE é constituída por 22 municípios e o Distrito Federal (Sudeco, 2015).

Na RIDE a soja é a cultura que ostenta a maior área plantada, contribuindo fortemente para a economia da região (CONAB, 2015).

A soja, *Glycine max* (L.) Merrill, é uma planta oleaginosa pertencente à família Leguminosae e subfamília Faboideae (Papilionoidea), apresentando fruto do tipo legume conhecido como vagem. Os grãos desta oleaginosa são de grande relevância no cenário mundial de alimentos, pois dele se extrai óleo e farelo, uma importante fonte de proteína vegetal (Hymowitz & Newell, 1981; Sediyaama, 2009).

O óleo é usado para alimentação humana e também tem uso industrial como na fabricação de biodiesel (Ferrari, *et al.*, 2005). O farelo é utilizado principalmente como ração para a nutrição de aves e suínos. Cerca de 2% da proteína da soja produzida é destinada exclusivamente para a alimentação humana na forma de diferentes produtos como tofu, carne de soja ou derivados do leite de soja (Rosa *et al.*, 2009).

O Brasil figura como o segundo maior produtor de soja no mundo, produziu 96,2 milhões de toneladas de grãos na safra 2014/2015 em uma área cultivada em torno de 32 milhões de hectares. A maior área plantada figurou-se no Centro-Oeste brasileiro com 13,9 milhões de hectares (CONAB, 2015). O Centro Oeste brasileiro tem se destacado na produção de soja pelo elevado nível tecnológico dos produtores, pelo aumento da área plantada com irrigação (pivô central), cultivares mais produtivas e acesso mais fácil a novas tecnologias (Hogan *et al.*, 2002).

Apesar da elevada produção brasileira de grãos, a produtividade da cultura da soja tem sido afetada por patógenos em geral, com destaque para os nematoides fitoparasitas. Perdas causadas por nematoides em soja no mundo são estimados em 32% (Oerke *et al.*, 1994). A cultura da soja é afetada por mais de 100 espécies de nematoides em todo o mundo, envolvendo cerca de 50 gêneros. No Brasil, os nematoides mais prejudiciais à cultura da soja têm sido os indutores de galhas em raízes (*Meloidogyne* spp.), o de cisto *Heterodera glycines* (Ichinohe, 1915), o das lesões radiculares *Pratylenchus brachyurus* (Goodfrey, 1929) Filipjev & Stekhovem 1941, e o reniforme *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940 (Dias *et al.*, 2010).

Tendo em vista a importância dos nematoides fitoparasitas para a cultura da soja, estudos voltados ao levantamento de espécies de relevância econômica para cada região são fundamentais para o desenvolvimento do agronegócio da soja, servindo como base para estudos posteriores envolvendo a seleção de cultivares resistentes a nematoides, mapeamento de áreas infestadas e viabilização de métodos de controle adequados a cada área.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Identificar as principais espécies de nematoides fitoparasitas da cultura da soja na RIDE.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar nematoides de galhas por fenótipo de esterase e PCR específico (primers já disponibilizados em literatura);

- Identificar nematoides das lesões por morfologia, morfometria e PCR específico (primers já disponibilizados em literatura);
- Identificar e quantificar nematoides fitoparasitas em geral associados a amostras de solo e raízes de plantas de soja;
- Quantificar cistos de *H. glycines* nas amostras coletadas e determinar raças das populações encontradas.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 REGIÃO INTEGRADA DE DESENVOLVIMENTO DO DISTRITO FEDERAL E ENTORNO (RIDE)

A Região Integrada de Desenvolvimento Econômico do Distrito Federal e Entorno (RIDE) foi criada pela Lei Complementar n.º 94, de 19 de fevereiro de 1998, e regulamentada pelo Decreto n.º 7.469, de 04 de maio de 2011, para efeitos de articulação da ação administrativa da União, sendo composta por 22 municípios distribuídos pelos Estados de Goiás (19), Minas Gerais (3) e Distrito Federal (Figura 1) (Sudeco, 2015). Na RIDE, a agricultura contribui com 1% do Produto Interno Bruto (PIB), com destaque para os municípios de Cristalina, Unaí, a Distrito Federal e Luziânia.

Devido à sua reduzida dimensão territorial, o Distrito Federal conta com 125.313 ha destinados à agricultura, sendo 10 mil hectares irrigados. A base agrícola do Distrito Federal se concentra nas Regiões Administrativas do Paranoá (PAD-DF) e Planaltina, esta última com os núcleos rurais de Rio Preto, Tabatinga e Taquara. A cultura da soja ocupa a maior área plantada (59 mil ha), seguida pela cultura do milho com 47,6 mil ha, feijão 14,5 mil ha e sorgo 5,2 mil ha (COOPA-DF, 2015).



Figura 1. Mapa da Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE).

Fonte: <<http://www.circuitomt.com.br/editorias/geral/13083-explosao-demografica-e-uma-das-principais-preocupacoes-do-entorno.html>>

3.2 A CULTURA DA SOJA

3.2.1 Histórico

A soja é originária da China, tendo sido cultivada até o primeiro século A.C. na península da Coreia e China central. Estima-se que a domesticação da soja tenha ocorrido de 1500-1100 A.C. (Schmutz *et al.*, 2010).

A soja doméstica foi introduzida no Sudeste Asiático no século XV, adentrando a Europa em 1713 e América do Norte em 1765 (Cober *et al.*, 2009). No Brasil a soja foi introduzida em 1882, oriunda dos Estados Unidos da América do Norte e teve o seu primeiro

cultivo no Brasil em 1914, no município de Santa Rosa (RS). Na década de 1960 obteve o status de cultura econômica e a partir de 1970 se consolidou como a principal cultura do agronegócio brasileiro (Hymowitz, 1970; Urben Filho & Souza, 1993; Câmara, 1996).

3.2.2 Aspectos botânicos

A soja, *Glycine max* (L.) Merrill, é uma planta oleaginosa pertencente à família Leguminosae, subfamília Faboideae (Papilionoidea), tribo Phaseoleae, gênero *Glycine* L. O gênero *Glycine* é composto por dois subgêneros, *Glycine* (plantas perenes) e *Soja* (plantas anuais), este último contemplando a espécie *G. max* e sua ancestral selvagem *G. soja*.

Glycine max é uma espécie autógama, com flores e órgãos masculinos e femininos protegidos dentro da corola. Insetos, principalmente abelhas, podem transportar o pólen e realizar a polinização de flores de diferentes plantas, mas a taxa de fecundação cruzada, em geral, é menor que 1 %. As flores de soja podem apresentar coloração branca, púrpura diluída ou roxa, apresentando de 3 a 8 mm de diâmetro. O início da floração ocorre quando a planta apresenta de 10 a 12 folhas trifolioladas e botões axilares com racemos de 2 até 35 flores cada um (Carlson & Lersten, 2004).

O sistema radicular é pivotante, constituído de um eixo principal e grande número de raízes secundárias, cujo comprimento pode atingir 1,80 m, sendo o maior volume de raízes encontrado a 15 cm de profundidade. O fruto é do tipo legume e conhecido como vagem, apresenta pêlos e é formado por duas valvas de um carpelo simples que podem atingir de 2 a 7 cm de comprimento e alojar de 1 a 5 sementes. A vagem apresenta cor que varia entre amarelo-palha, cinza ou preta, dependendo do estágio de desenvolvimento da planta. As sementes são lisas, ovais, globosas ou elípticas e apresentam cor amarela, preta ou verde com hilo marrom, preto ou cinza (Gomes, 1990).

A soja apresenta grande diversidade de ciclos de desenvolvimento (100-160 dias), os quais são classificados em grupos de maturação precoce, semiprecoce, médio, semitardio e tardio e, quanto ao tipo de crescimento como indeterminado, semideterminado e determinado. Fotoperíodos mais longos estimulam o desenvolvimento vegetativo, enquanto fotoperíodos mais curtos estimulam o florescimento (Sedyama, 2009; Embrapa, 2013).

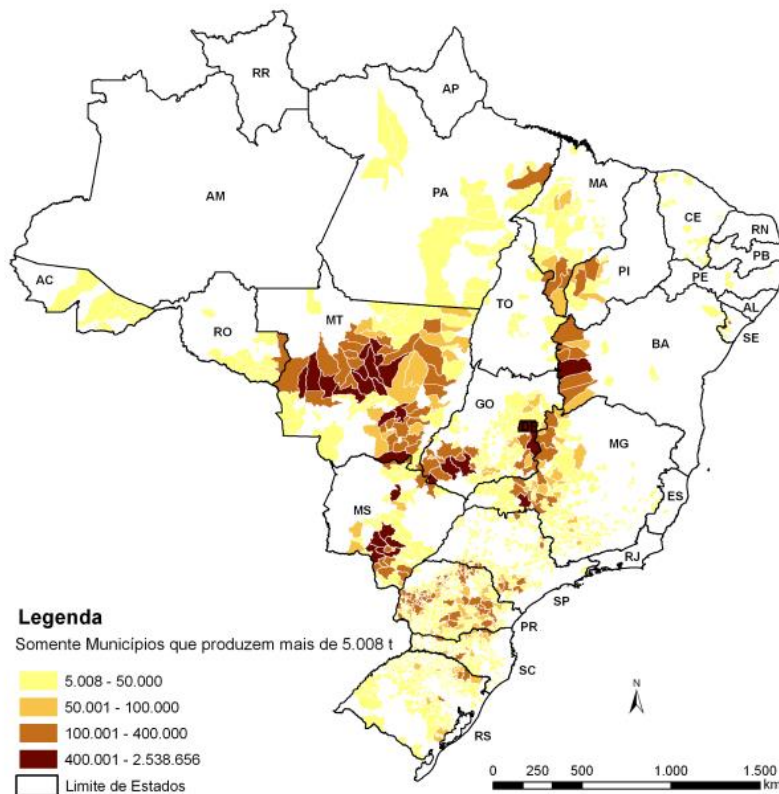
Durante o ciclo vegetativo da soja são produzidos quatro tipos de folhas: cotiledonares, primárias ou simples, trifolioladas ou compostas e prófilos simples, apresentando cor verde pálida ou verde escura dependendo da cultivar. O caule é ramoso, hispido e atinge de 80 a 150 cm. Em variedades de crescimento determinado há racemo terminal e aquelas de crescimento indeterminado o racemo é ausente (Gomes, 1990).

3.2.3 *Importância econômica*

Os grãos de soja são de grande relevância no cenário mundial de alimentos, sendo uma das principais *commodities* negociadas nos mercados internacionais (USDA, 2015). Segundo dados da FAOSTAT (2015), as Américas contribuem com 86% da soja produzida no mundo. Dentre os países produtores de soja, o Brasil ocupa a segunda posição com 27% dos grãos produzidos, sendo superado apenas pelos Estados Unidos da América do Norte com 35% do total. Na safra 2013/2014 a produção brasileira foi superior a 180 milhões de toneladas de grãos (CONAB, 2014).

No Brasil, a soja é cultivada de norte a sul (Figura 2), ocupando 49% da área plantada em grãos do país, sendo a maior parte da produção brasileira de soja oriunda dos estados Mato Grosso (MT), Paraná (PR), Rio Grande do Sul (RS) e Goiás (GO). Na RIDE, o estado de Goiás lidera com oito milhões de toneladas de grãos de soja, seguido por Minas Gerais com 3,5 e Distrito Federal (DF) com 144 mil toneladas. No DF, a principal área produtora de

soja é o PAD-DF, o qual ostenta uma das maiores produtividades de soja do Brasil com uma média de 40 sacos/ha (CONAB, 2015).



Fonte: Conab/IBGE.

Figura 2. Mapa dos estados brasileiros produtores de soja.

3.2.4 A soja no Cerrado

O clima em áreas de Cerrado da região Centro-Oeste é tropical, com uma estação seca e uma estação chuvosa bem definida, com amplitude térmica variando de 20 a 26°C e precipitação anual de 1.000 a 2.000 mm (Garrido *et al.*, 1982; Azevedo & Adámoli, 1988). A topografia dessa região varia entre plana a suavemente ondulada, favorecendo a agricultura mecanizada e a irrigação. O período de plantio é de outubro a dezembro.

3.2.5 Valor nutricional

Os grãos de soja podem ser consumidos *in natura* aumentando a demanda atual por cultivares de soja para consumo humano. No entanto, cultivares de soja para consumo humano apresentam características diferentes das cultivares tradicionais de soja como a produção de sementes maiores e com teores mais elevados de proteína, ausência das enzimas lipoxigenases (AL), conferindo sabor mais suave aos alimentos a base de soja, teor reduzido do inibidor de tripsina, o que permite a redução de tratamento térmico e dos custos de processamento e tamanho, coloração e textura de sementes ideais para produção de "natto" (alimento fermentado japonês) (Carrão-Panizzi *et al.*, 2012).

Os grãos de soja colhidos podem ser destinados à produção de óleo, farelo, extrato e misso (pasta fermentada). Da pasta fermentada se obtém o shoyu, muito utilizado na culinária oriental (Abreu *et al.*, 2012). Já os extratos obtidos são de dois tipos: insolúveis e solúveis. Do extrato insolúvel se obtém farinha para a confecção de pães e do solúvel se obtém leite *in natura* ou leite em pó. O leite *in natura* é utilizado no fabrico do Tofu e o leite em pó no fabrico de mingaus e bebidas aromatizadas (Behrens *et al.*, 2001).

Da extração do óleo se obtém o óleo de cozinha e a gordura hidrogenada, esta última importante componente de sorvetes e margarinas. Do óleo se extrai também duas proteínas importantes como a lecitina (entra na composição do leite em pó) e vitamina E (ração e medicamentos). Os resíduos da extração do óleo são conhecidos como (borra) e utilizados na produção de sabão (Hartman & Esteves, 1989).

O farelo é utilizado na produção de ração, farinha desengordurada e farinha integral. A ração é muito utilizada na nutrição animal. Já as farinhas produzidas podem ser utilizadas na produção de carne de soja, massas, biscoitos, etc. (Morgan & Vieira, 1996).

3.2.6 Estresses bióticos

O melhoramento genético vegetal tem contribuído para o desenvolvimento de cultivares de soja com elevada produtividade, ampla adaptação e boa resistência/tolerância a fatores bióticos ou abióticos adversos. Apesar de certas cultivares apresentarem resistência a estresses bióticos, perdas de produção são constantes devido à incidência de fitopatógenos como fungos, bactérias, vírus, nematoides e insetos-pragas.

Dentre as principais pragas da soja estão: *Anticarsia gemmatilis* Hübner, 1818, *Pseudoplusia includens* Walker, (1858), (sin.: *Chrysodeixis includens*), *Helycoverpa armigera* (Hübner, 1805), *Nezara viridula* (Linnaeus, 1758), *Piezodorus guildini* (Westwood, 1837), *Euschistus heros* (Fabricius, 1798), *Epinotia aporema* (Walsingham, 1914), *Sternechus subsignatus* (Boheman, 1836), *Spodoptera eridania* (Cramer, 1782) (Embrapa, 2013).

As perdas anuais de produção por doenças na cultura da soja são estimadas em cerca de 15% a 20%, entretanto, algumas doenças podem ocasionar perdas de até 100%. Aproximadamente 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematoides e vírus já foram identificadas na cultura da soja no Brasil. Esse número continua aumentando com a expansão da cultura da soja para novas áreas e também como consequência do monocultivo. No entanto, a importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo das condições climáticas de cada safra.

Dentre os fungos que afetam a cultura da soja no Brasil merecem destaque a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd., 1914), o agente da antracnose (*Colletotrichum dematium* var. *truncatum* [Schwein.] Andrus & W.D Moore, 1935), o agente do cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis* F.A. Fernández 1996), o fungo da podridão branca da haste (*Sclerotinia sclerotiorum* [Lib.] de Bary, 1884), o agente da podridão vermelha da raiz (*Fusarium* spp.) e algumas espécies de nematoides fitoparasitas. A

expansão de áreas irrigadas nos cerrados vinha possibilitando o cultivo da soja no outono/inverno para a produção de sementes. No entanto, o cultivo de soja fora de época contribuiu para o aumento da incidência e da severidade de *P. pachyrhizi* (Embrapa, 2013; Almeida *et al.*, 2005).

3.2.7 *Nematoides parasitas da cultura da soja no Brasil*

Dentre os fitopatógenos danosos à cultura da soja no Brasil, os nematoides se destacam pelos danos causados e pela dificuldade de controle. Dentre as espécies de nematoides fitoparasitas associadas à cultura da soja no Brasil, as mais impactantes são as indutoras de galhas radiculares (*Meloidogyne* spp.), *Pratylenchus brachyurus* o nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) e o nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) (Embrapa, 2013).

O sintoma mais comum de ataque de nematoides é o nanismo de plantas que geralmente ocorre em reboleiras circulares a ovais. Os demais sintomas podem variar de acordo com o tipo de parasitismo do nematoide, determinante na relação parasita-hospedeiro, e idade e fisiologia do hospedeiro. Os sintomas em raízes envolvem desde a indução de galhas até a formação de lesões necróticas, podendo afetar raízes superficiais e profundas (Rosa *et al.*, 2004).

3.2.7.1 *Meloidoginoses da soja*

Das espécies de *Meloidogyne* Goeldi, 1987 que afetam a cultura da soja no Brasil merecem destaque *M. incognita* (Kofoid & White, 1919) e *M. javanica* (Treub 1885) Chitwood 1949, havendo relatos também da ocorrência de *M. morocciensis* Rammah & Hirschmann, 1990 (Castro *et al.*, 2003; Carneiro *et al.*, 2005), *M. paranaensis* Carneiro *et al.*, 1996 (Roese *et al.*, 2004) e *M. ethiopica* Whitehead, 1968 (Castro *et al.*, 2003). *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* (Neal, 1889) são as espécies mais importantes para a cultura da soja no Brasil. *M. javanica* tem ocorrência generalizada, enquanto *M. incognita*

predomina em áreas cultivadas anteriormente com café ou algodão (Almeida *et al.*, 2005; Dias, 2010). *Meloidogyne enterolobii* (Yang & Eisenback, 1983), um dos principais patógenos da goiabeira na América Latina e ainda não relatado em soja é um nematoide potencialmente importante já que não tem sido encontrada fonte de resistência em germoplasma de soja contra este patógeno (Dias *et al.*, 2010).

Os sintomas causados por *Meloidogyne* spp. em soja envolvem a indução de galhas terminais e intercalares em raízes, folha “carijó” (folhas com manchas cloróticas ou necroses entre as nervuras) e redução de porte das plantas infectadas (Embrapa, 2004).

O ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. inicia-se com a penetração de formas pré-parasíticas J2 em raízes secundárias de soja. Após penetrarem, as formas J2 se tornam parasíticas e migram intercelularmente até o cilindro vascular aonde induzem a formação de sítios de alimentação conhecidos como células gigantes. Ao atingir o cilindro vascular o nematoide torna-se sedentário e passa por três ecdises (J2-J3, J3-J4 e J4-adulto). Os estádios J3 e J4 têm a forma salsichóide e o estágio adulto pode ser fêmea ou macho. A formação de fêmeas é uma constante durante o desenvolvimento da cultura. Os machos são formados em final de ciclo ou em caso de escassez de alimento. A reprodução em *Meloidogyne* é, em sua maioria, partenogenética mitótica, sendo assim em *M. incognita*, *M. arenaria* e *M. javanica*. Porém, existem espécies de reprodução partenogenética meiótica e anfimítica, como o que ocorre em *M. hapla* (Evans, 1998; Curtis *et al.*, 2009).

A identificação correta das espécies de *Meloidogyne* é uma tarefa importante que objetiva auxiliar na adoção de medidas de controle específicas a cada espécie e adaptadas a cada situação (Randig *et al.*, 2004).

3.2.7.2 *Heterodera glycines*

O nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines*) foi identificado pela primeira vez no Brasil no norte do Paraná, safra 1991/92 (Lima *et al.*, 1992). Na safra 1996/97, o NCS já

havia sido disseminado para mais de 60 municípios brasileiros dos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (Embrapa, 2004). Fatores como o trânsito de máquinas agrícolas de áreas infestadas para áreas isentas do nematoide têm contribuído para a disseminação de cistos viáveis em torrões de solo (Silva, 1998; Freitas *et al.*, 2004).

Plantas de soja parasitadas por *Heterodera glycines* apresentam amarelecimento e nanismo, razão pela qual a doença é denominada nanismo amarelo da soja. Tal quadro sintomatológico é decorrente da deficiência de nitrogênio (Dhingra *et al.*, 2009).

A cada safra, novos municípios são acrescentados à lista de municípios atingidos, representando um grande desafio para a pesquisa, a assistência técnica e o produtor brasileiro de soja (Embrapa, 2004). Atualmente, o NCS está presente em cerca de 150 municípios de dez estados (MG, MS, MT, GO, SP, PR, RS, BA, TO e MA), atingindo mais de 2.500.000 ha de soja (Dias *et al.*, 2004).

O NCS apresenta grande variabilidade genética (Santana *et al.*, 2009), tendo sido detectadas no Brasil as raças 1, 2, 3, 4, 4+, 5, 6, 9, 10, 14 e 14+ (Dias *et al.*, 2009, 2010). Campos e Silva (1997), em levantamento realizado no estado de Goiás, identificaram as raças 4, 6, 9 e 14 em Jataí, raças 3, 6 e 14 em Mineiros, raças 3 e 10 em Rio Verde e raça 14 em Perolândia e Serranópolis.

O nematoide de cisto da soja é um expoente no que diz respeito aos nematoides que causam danos à soja devido a sua facilidade de disseminação e redução da produção desta cultura. Formas J2 penetram nas raízes e migram intracelularmente até o cilindro vascular onde induzem sítios de alimentação denominados de sincícios. Durante a alimentação em células sinciciais o nematoide passa por 3 ecdises até atingir o estágio adulto, totalizando 4 ecdises (Turner & Rowe, 2006).

Nas populações de *H. glycines* há a formação de machos e fêmeas já que a reprodução é anfimítica. As fêmeas produzem até 500 ovos ao final de seu ciclo de vida. As fêmeas liberam parte de seus ovos em substância mucilaginosa e parte é retida em seu corpo. Quando as fêmeas morrem há a formação de cistos que apresentam parede espessa e coloração avermelhada. Os cistos podem permanecer com ovos viáveis no solo por mais de 8 anos (Moore *et al.*, 1984).

O círculo de hospedeiras de *H. glycines* é limitado a plantas da família Leguminosae como soja (*Glycine max*), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), ervilha (*Pisum sativum* L.) e tremoço (*Lupinus albus* L.). A maioria das espécies cultivadas, tais como milho, sorgo, arroz, algodão, girassol, mamona, cana-de-açúcar, trigo, assim como as demais gramíneas, é resistente. O NCS não se reproduz nas plantas daninhas mais comuns nas lavouras de soja no Brasil (Ferraz & Monteiro, 2011).

3.2.7.3 *Pratylenchus* spp.

O nematoide das lesões radiculares, *Pratylenchus* spp. contempla espécies endoparasitas migratórias amplamente disseminadas no Brasil (Dias, 2010). De acordo com Café Filho & Huang (1988), as principais espécies de *Pratylenchus* encontradas na região Centro-Oeste do Brasil são *P. brachyurus*, *P. zaeae* Graham (1951), *P. coffeae* Goodey (1951) e *P. pseudopratensis* Seinhorst (1968). Recentemente, Ribeiro *et al.* (2013) identificaram *P. bolivianus* Corbett, (1983) em soja no Centro-Oeste brasileiro por meio da comparação de sequências da região ribossomal ITS-5.8S.

Pratylenchus brachyurus é a principal espécie causadora de danos à soja no Brasil. Nos Estados Unidos da América do Norte, *P. brachyurus* causava perdas acima de 30% na cultura da soja no estado da Carolina do Norte (Schimitt & Barker, 1981).

Após a eclosão dos juvenis, todos os estádios do ciclo de vida de *Pratylenchus* spp. são infectantes, incluindo o estágio adulto. O hábito migratório leva à formação de lesões

necróticas no parênquima cortical o que possibilita a infecção por fungos e/ou bactérias. O ciclo de vida leva em torno de três semanas para ser completado e a reprodução pode ser partenogenética ou anfimítica, dependendo da espécie (Duncan & Moens, 2006).

Alguns genótipos de soja têm fatores de redução promissores para o manejo de áreas infestadas com *P. brachyurus* (FR entre 1,2 e 3,8) que devem ser preferíveis em programas de seleção de materiais resistentes, caso sejam adaptados a uma determinada região, poderão ser utilizados em áreas infestadas (Ribeiro *et al.*, 2007). No entanto, devido à interação de *P. brachyurus* com a soja ser menos complexa que as interações com nematoides de cisto (*H. glycines*) e de galhas (*Meloidogyne* spp.), não havendo necessidade de formação de nenhuma célula especializada de alimentação, a probabilidade de encontrar fontes de resistência a *Pratylenchus* são menores (Townshend, 1990).

3.2.7.4 *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940

O algodão é a cultura mais acometida pelo nematoide *R. reniformis*. Entretanto, dependendo da cultivar e da população do nematoide no solo, também podem ocorrer danos na cultura da soja. O nematoide vem adquirindo importância na cultura da soja, em especial no Centro-sul de Mato Grosso do Sul, sendo considerado um dos principais problemas da cultura em Maracaju e Aral Moreira estando disseminado em outros dez municípios daquele estado. Na safra 2006/07, também houve relatos de danos em propriedades dos municípios de Bela Vista do Paraíso e Cornélio Procópio, no norte do Paraná (Dias, 2010).

Rotylenchulus reniformis é um nematoide de importância nos Estados Unidos da América na cultura da soja e do algodão, e cuja rotação recomendada para sua supressão juntamente a de *M. incognita* é o plantio intercalado de amendoim (*Arachis hypogaea* Lineu, 1753), principalmente em áreas produtoras do mesmo (Koenning *et al.*, 2004). Em contraste com *M. incognita*, *R. reniformis* tem pouca ou nenhuma reprodução em culturas de grãos como milho ou sorgo (Robinson *et al.*, 1997).

Asmus (2008) relatou algumas cultivares de soja como resistentes ao nematoide reniforme, as quais tiveram performance semelhante à do padrão de resistência Custer, utilizado nos ensaios. Robbins & Rakes (1996) notaram que, à exceção da PI88788, as fontes de resistência ao nematoide de cisto também conferiram resistência a *R. reniformis*. Asmus & Schirmann (2004) avaliaram algumas cultivares de soja para o Estado de Mato Grosso do Sul quanto à resistência ao nematoide e concluíram que ‘M-SOY 8001’ e ‘CD 201’ apresentaram bons resultados.

O ciclo de vida deste nematoide envolve reprodução anfimítica e hábito semiendoparasita obrigatório. Dentro do ciclo de vida de *R. reniformis* apenas fêmeas jovens são infectantes, estas introduzem a parte anterior do corpo no córtex radicular e mantém a parte posterior fora da raiz. O nematoide então induz a formação de células nutridoras, as quais nutrem as fêmeas que passam a ter formato reniforme (Ferraz *et al.*, 2010).

3.2.8 Manejo de doenças da soja

O controle de grande parte das doenças envolve a adoção de medidas profiláticas e o uso de cultivares resistentes. Medidas de exclusão têm sido adotadas no controle de doenças da soja como o vazio sanitário, período de 60 a 90 dias entre as estações outono e inverno sem plantas vivas de soja no campo. Neste caso a medida objetiva a redução de inóculo da ferrugem da soja *Phakopsora pachyrhizi* em campos de produção de soja. Outra medida de exclusão adotada é a certificação de sementes de soja. O tratamento de sementes com fungicidas também é utilizado e visa prevenir e/ou reduzir as perdas causadas por fungos e outros patógenos (Embrapa, 2015).

O controle genético envolve o plantio de cultivares resistentes, que estão disponibilizados a uma série de patógenos incluindo fungos, bactérias, vírus e nematoides. Atualmente são conhecidos vários genes de resistência, os quais agem na defesa contra

fungos, bactérias e nematoides (Boller, 1995). O gene de maior importância atualmente é o gene Mi-1.2 que confere resistência a *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* em tomateiro (Turner e Rowe, 2006).

O controle cultural também é utilizado e envolve o cultivo de plantas de cobertura sendo as mais comuns *Crotalaria spectabilis* Roth, *C. grantiana* Harvey, *C. mucronata* Desv. (1814), *C. paulina* Schrank (1822), mucuna preta, mucuna cinza e nabo forrageiro, as quais são principalmente utilizadas no controle de nematoides ou como adubos verdes (Embrapa, 2015). Essa prática reduz a quantidade de fitonematoides causando pouco impacto ao ambiente (Ferraz e Valle, 1995). Uma pluralidade de trabalhos realizados com plantas antagonistas concentra-se na utilização de *Crotalaria* spp. (crotalárias), *Mucuna* spp. (mucunas) e *Tagetes* spp. (cravos-de-defunto) (Huang & Mota e Silva, 1980; Huang e Charchar, 1981; Weaver *et al.*, 1993; Nogueira *et al.*, 1997). Entretanto, para algumas gramíneas, resultados satisfatórios foram obtidos no controle de *Meloidogyne* spp. De acordo com Brito e Ferraz (1987) *Brachiaria brizantha* (Hochst ex A. Rich.) Stapf, *B. decumbens* Stapf. Prain, *Digitaria decumbens* Stent (1930) cv. Pangola, *Eragrotis curvula* (Schrad.) Nees e *Panicum maximum* Jacq cv. Guiné mostraram-se promissoras para o controle de *M. javanica*. Mais recentemente, confirmou-se a alta resistência de *B. brizantha* e algumas cultivares de *P. maximum* a este nematoide (Asmus e Andrade, 1997). *P. maximum*, *B. brizantha*, *B. brizantha* cv. MG-4 e *B. decumbens* foram as mais eficientes na redução de populações de *M. incognita* e de *M. javanica* (Dias-Arieria *et al.*, 2003).

A rotação de culturas tem conferido ótimos resultados no controle do NCS com redução populacional de 70-90% (Arantes & Souza, 1993). Dentre as principais espécies não hospedeiras de *H. glycines* cultivadas na primavera-verão no Brasil estão o milho, o arroz, o algodão, o sorgo, o girassol e a mamona. A eclosão de juvenis de *H. glycines* é vagarosa e

gradual, o que exige períodos de rotação de no mínimo 2 anos para o seu controle (Moore *et al.*, 1984).

3.3 LEVANTAMENTO DE NEMATOIDES NA CULTURA DA SOJA

Em soja, Franzener *et al.* (2005) demonstraram que 19 de 21 municípios do oeste do Paraná apresentaram o nematoide de cisto (*H. glycines*) e *M. javanica* e *M. incognita*. Já *Tubixaba tuxaua* Monteiro & Lordello, 1980, foi detectado em apenas 2% das áreas amostradas em soja. Segundo Jaehn *et al.* (1998) a região do Vale do Paranapanema-SP evidencia a presença de nematoides na soja como *Meloidogyne* spp., *P. brachyurus* e *R. reniformis*.

Silva (2007), em levantamento no município de Jataí-GO, verificou a presença de *H. glycines*, *P. brachyurus*, com frequência de 96,7% e 71,6% das amostras coletadas, respectivamente, e com níveis populacionais elevados.

Silva *et al.* (2004), em levantamento realizado no estado do Mato Grosso, verificou a presença de *P. brachyurus* em 94% das amostras coletadas em 18 municípios e *M. incognita* em 3,7% das amostras.

De acordo com Sikora *et al.* (2011), em levantamento realizado no Alabama-EUA na cultura da soja em 2008 e 2009, *H. glycines* foi encontrada em 8% e 13% das amostras de cada ano, respectivamente.

O nematoide de cisto da soja é o nematoide que mais causa prejuízos em soja nos EUA (Creech *et al.*, 2007). No Estado de Missouri (EUA), 49% das áreas apresentam nematoide de cisto, tendo sido encontradas as raças 1, 2, 3, 4 e 5 (Mitchum, *et al.*, 2005).

Na China, vale de Huang-Huai, foram relatadas as raças 1,2, 4, 5, 7, 9 e 16 de *H. glycines*, sendo 40% pertence à raça 1 e 16, 32% à raça 4, 10% às raças 2 e 7, 6% à raça 5 e 2% à raça 9 (Wei-guo, 2006). No Brasil, Roese *et al.* (2001) relataram *H. glycines* em 2,38% das amostras coletadas no oeste paranaense.

3.4 IDENTIFICAÇÃO DE NEMATOIDES

Os métodos tipicamente utilizados na identificação de espécies de *Meloidogyne* são baseados em critérios morfológicos (Hirschmann, 1985) e bioquímicos (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; 1990; Blok & Powers, 2009). Graças à técnica de amplificação de DNA por PCR, uma melhor discriminação interespecífica pode ser obtida (Power & Harris, 1993; Petersen *et al.*, 1997).

Abordando-se o critério da diferenciação de espécies pela morfologia, certos caracteres apresentam alta confiabilidade e aplicam-se especificamente a machos e fêmeas, como exemplo os estiletos e o padrão perineal (Hirschmann, 1985).

A técnica de eletroforese de isoenzimas com detecção de fenótipos de esterase e malatodesidrogenase tem sido a mais utilizada na identificação de *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* e *M. javanica* (Moens *et al.*, 2009). Mais recentemente, marcadores moleculares vêm sendo usados na amplificação por PCR de fragmentos específicos de espécies de nematoides como *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Heterodera* spp., etc. (Moens *et al.*, 2009).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 AMOSTRAGEM

Amostras de solo e raízes de soja foram coletadas em áreas produtoras de soja de municípios do DF e Entorno (Figura 3). Em cada município foram realizadas amostragens em propriedades rurais com suspeita de infestação por nematoides fitoparasitas (Tabela 1). O número de propriedades visitadas por município variou de uma a seis, de acordo com as indicações fornecidas por empresas da área agrícola. Cada amostra coletada por propriedade foi composta de dez subamostras coletadas em talhão com presença de reboleiras de plantas sintomáticas. Foram coletados por talhão 4 kg de solo e dez sistemas radiculares de soja.

Tabela 1. Coordenadas geográficas de sítios de coleta de amostras nematológicas em municípios da RIDE.

Município	Amostra	Ponto GPS
Abadiânia-GO	82	S16°13' 16,18658" ----- W48°44' 44,33754"
Abadiânia-GO	83	S16°15' 38,60192" ----- W48°45' 43,89636"
Abadiânia-GO	84	S16°16' 30,89554" ----- W48°42' 52,38100"
Água Fria de Goiás	17	S14°47' 40,87919" ----- W47°29' 07,95237"
Água Fria de Goiás	35	S14°50' 18,28207" ----- W47°44' 24,79924"
Água Fria de Goiás	36	S14°49' 42,38818" ----- W47°48' 49,87324"
Água Fria de Goiás	37	S14°39' 58,09081" ----- W47°52' 55,39846"
Águas Lindas de Goiás-GO	59	S15°42' 26,23674" ----- W48°15' 12,98777"
Águas Lindas de Goiás-GO	60	S15°40' 43,67180" ----- W48°15' 27,57568"
Águas Lindas de Goiás-GO	61	S15°40' 21,81738" ----- W48°14' 51,06362"
Alexânia-GO	66	S15°57' 02,51624" ----- W48°33' 59,17991"
Alexânia-GO	68	S15°59' 55,89852" ----- W48°31' 44,88824"
Alexânia-GO	69	S15°59' 18,44187" ----- W48°34' 02,94452"
Buritís-GO	44	S15°28' 09,36458" ----- W46°54' 43,40328"
Buritís-GO	45	S15°25' 01,59744" ----- W46°52' 26,43562"
Buritís-GO	46	S15°27' 30,12738" ----- W46°55' 22,00023"
Cabeceiras-Goiás	10	S15°41' 19,43573" ----- W47°05' 04,36249"
Cabeceiras-Goiás	11	S15°40' 04,74053" ----- W47°05' 04,61258"
Cabeceiras-Goiás	12	S15°43' 00,62249" ----- W47°04' 40,42835"
Cabeceiras-Goiás	85	S15°45' 13,77411" ----- W47°03' 08,48419"
Cabeceiras-Goiás	13	S15°48' 32,88865" ----- W47°02' 24,88140"
Cidade Ocidental-GO	57	S16°02' 40,58652" ----- W47°45' 29,52701"
Cidade Ocidental-GO	58	S16°08' 15,69816" ----- W47°54' 06,64792"
Ocidental-GO	70	S16°02' 21,99248" ----- W47°46' 36,00824"
Cocalzinho-GO	42	S15°35' 53,66223" ----- W48°35' 40,41714"
Cocalzinho-GO	43	S15°39' 57,82958" ----- W48°35' 21,98060"
Cocalzinho-GO	81	S15°25' 28,35542" ----- W48°41' 51,98422"
Corumbá de Goiás-GO	50	S15°57' 13,72477" ----- W48°51' 40,93456"
Corumbá de Goiás-GO	67	S15°55' 03,71590" ----- W48°35' 23,61603"
Cristalina-GO	27	S16°06' 47,53234" ----- W47°34' 06,38678"
Cristalina-GO	28	S16°12' 21,16772" ----- W47°32' 20,00480"
Cristalina-GO	38	S16°04' 05,27003" ----- W47°34' 49,05663"
Cristalina-GO	39	S16°05' 21,62397" ----- W47°29' 29,09468"
Cristalina-GO	41	S16°03' 01,97898" ----- W47°32' 21,64293"
Formosa-GO	1	S15°42' 05,40191" ----- W47°23' 23,41984"
Formosa-GO	2	S15°44' 09,68911" ----- W47°26' 00,20264"
Formosa-GO	3	S15°40' 30,70003" ----- W47°23' 03,66554"
Formosa-GO	4	S15°38' 12,58348" ----- W47°21' 52,56799"
Luziânia-GO	51	S16°30' 24,52409" ----- W48°13' 34,82294"
Luziânia-GO	52	S16°28' 34,77785" ----- W48°11' 58,88954"
Luziânia-GO	53	S16°24' 18,91925" ----- W48°22' 15,75162"
Mimoso de Goiás-GO	62	S15°05' 32,27802" ----- W48°20' 30,85599"
Vila Boa-Goiás	14	S15°46' 10,53064" ----- W46°59' 33,86875"
Vila Boa-Goiás	15	S14°51' 03,87778" ----- W46°42' 27,59218"
Vila Boa-Goiás	16	S15°06' 15,78895" ----- W47°06' 47,26049"
N. R. Jardim. Paranoá-DF	24	S16°00' 46,74234" ----- W47°18' 27,54666"
PAD-DF-Paranoá	25	S15°59' 26,03417" ----- W47°34' 34,75537"
PAD-DF-Paranoá	40	S16°01' 05,93495" ----- W47°36' 42,52142"
Padre Bernardo-GO	47	S15°16' 17,38822" ----- W48°15' 59,14654"
Padre Bernardo-GO	48	S15°17' 30,21237" ----- W48°18' 53,86544"
Padre Bernardo-GO	49	S15°17' 56,89473" ----- W48°20' 51,24433"
Planaltina de Goiás	22	S15°14' 57,77857" ----- W47°43' 11,92245"
Planaltina de Goiás	23	S15°21' 42,76008" ----- W47°35' 49,35575"
Planaltina-DF Rio Preto	20	S15°45' 51,98578" ----- W47°25' 18,99676"
Planaltina-DF Rio Preto	21	S15°45' 17,96454" ----- W47°26' 52,74429"
Planaltina-DF Rio Preto	32	S15°46' 35,93364" ----- W47°29' 50,15039"
Planaltina-DF Rio Preto	33	S15°45' 09,16615" ----- W47°29' 29,52166"
Planaltina-DF Tabatinga	18	S15°48' 50,26936" ----- W47°33' 40,99223"
Planaltina-DF Tabatinga	19	S15°47' 53,55935" ----- W47°31' 52,86186"
Planaltina-DF Tabatinga	29	S15°52' 14,58453" ----- W47°33' 30,87674"
Planaltina-DF Tabatinga	30	S15°50' 37,82565" ----- W47°35' 23,99766"
Planaltina-DF Tabatinga	31	S15°49' 04,93534" ----- W47°34' 47,07887"
Planaltina-DF Tabatinga	34	S15°45' 09,18486" ----- W47°29' 29,55515"
Planaltina-DF Taquara.	26	S15°40' 39,69839" ----- W47°30' 15,98188"
Cabeceira Grande-MG	63	S16°04' 57,35434" ----- W47°21' 05,89222"
Cabeceira Grande-MG	64	S15°59' 29,42280" ----- W47°04' 17,86540"
Cabeceira Grande-MG	65	S16°04' 44,99955" ----- W47°15' 40,12392"
Unaí-MG	54	S16°32' 33,06413" ----- W47°06' 32,85351"
Unaí-MG	55	S16°39' 23,20553" ----- W47°03' 35,00565"
Unaí-MG	56	S16°31' 00,70766" ----- W47°05' 36,86105"



Figura 3. Lavoura de soja com enfezamento de plantas em reboleiras causado por *Pratylenchus brachyurus*.

A amostragem de solo compreendeu o perfil de 0-20 cm de profundidade. As amostras coletadas foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e mantidas a 4° C em câmara fria até serem processadas. As áreas amostradas tiveram as coordenadas geográficas anotadas através de um GPS marca Garmin Modelo GPSMAP 76CS.

4.2 EXTRAÇÃO DE NEMATOIDES

Amostras de solo foram processadas no Laboratório de Nematologia da UnB, tendo-se trabalhado com alíquotas de 300 cm³ de solo. A suspensão (solo + água) foi vertida em peneiras de 45, 65 e 400 mesh. O conteúdo da peneira de 45 mesh foi descartado, o da peneira de 65 mesh foi recolhido em béquer e analisado em lupa quanto à presença de cistos de *H. glycines*, e o da peneira de 400 mesh foi submetida à metodologia de Jenkins (1964).

Os nematoides extraídos do solo foram quantificados com o auxílio de Lâmina de Peters, tendo-se realizado três leituras distintas. Após terem sido quantificados, os nematoides foram mantidos em solução de Golden (Hooper, 1986) e posteriormente infiltrados com glicerina para confecção de lâminas permanentes objetivando a identificação morfológica das

espécies encontradas ao microscópio de luz. *Pratylenchus* spp. e *Meloidogyne* spp. foram também mantidos em solução de DESS-EDTA (Dawson *et al.*, 1998) para posterior identificação por PCR.

4.3 OBTENÇÃO DE POPULAÇÕES DE MELOIDOGYNE E DETERMINAÇÃO DE RAÇAS DE HETERODERA GLYCINES

Amostras de solo oriundas de áreas infestadas com nematoides foram utilizadas como substrato para a multiplicação de populações de *Meloidogyne* spp. em tomateiro Santa Clara. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação com controle de umidade, tendo sido avaliados após 60 dias de cultivo. Foi obtido um total de 10 populações de *Meloidogyne* spp. das doze amostras que foram inoculadas.

Seis amostras com 5 Kg de solo contendo cistos de *H. glycines* foram enviadas a Embrapa-Soja (CNPso) em Londrina/PR, para a determinação de raças fisiológicas segundo Riggs & Schmitt (1988) sob a supervisão do Dr. Waldir Dias. Foram utilizadas as seguintes cultivares de soja diferenciadoras: Pickett, Peking, PI 88788, PI 90763, HARTWIG, PI 437654 e Lee 74.

4.4 EXTRAÇÃO DE OVOS E J2 DE MELOIDOGYNE SPP. EM RAÍZES DE TOMATEIRO

A extração de ovos e J2 de raízes de tomateiros foi realizada de acordo com Coolen e D'Herde (1972), onde as raízes foram trituradas em liquidificador por 15 segundos em solução de hipoclorito de sódio 1,25% e o produto passado em peneiras de 45 e 500 mesh. O material retido na peneira de 500 mesh foi recolhido em béquer e centrifugado inicialmente a 2500 rotações por minuto com 1cm³ de caulim e logo após adição de sacarose a 1500 rotações

por minuto. Ovos e J2 extraídos foram utilizados para extração de DNA genômico visando a identificação por PCR.

4.5 IDENTIFICAÇÃO DE NEMATOIDES

Nematoides pertencentes aos gêneros *Pratylenchus*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchulus* e *Meloidogyne* foram identificados a nível de espécie, enquanto que *Heterodera glycines* foi identificada a nível de raça fisiológica. Os demais nematoides foram identificados a nível de gênero, tendo como referência caracteres morfológicos e morfométricos.

Para *Pratylenchus* spp. utilizou-se a chave de Castillo & Vovlas (2007). Para *Meloidogyne* spp. utilizou-se a técnica da configuração da região perineal de fêmeas (Hartman & Sasser, 1985), eletroforese de isoenzimas (Alonso & Alfenas, 1998) e PCR usando-se primers específicos disponibilizados na literatura (Randing *et al.*, 2002; Zilstra *et al.*, 2000; Machado *et al.*, 2007) (Tabela 2).

4.5.1 Fenótipo isoenzimático para esterase

As populações de *Meloidogyne* spp. foram multiplicadas em tomateiro e mantidas em casa de vegetação da Estação Experimental de Biologia da UnB. Fêmeas individuais foram extraídas de raízes de tomateiro e maceradas para a extração de proteínas. A maceração foi realizada em tubos de 10 µl com solução extratora (2 g de sacarose, 0,2 g de Triton X-100, 1 mg de azul de bromofenol e 7,8 ml de água destilada) e auxílio de um bastão de vidro. Foram realizadas três repetições. O extrato obtido foi aplicado em gel de poliacrilamida 7,5% e submetido a uma corrente elétrica de 300 mA por 1 hora em um Sistema de Eletroforese Vertical LCV 10X10 Loccus-Biotecnologia.

4.5.2 Extração de DNA genômico e identificação de *Meloidogyne* por PCR

DNA genômico foi obtido a partir de 200 a 300µl de ovos, de acordo com o método descrito por Randig *et al.* (2002). Os ovos foram macerados dentro de tubos de 0,5 ml com adição de nitrogênio líquido. Utilizou-se o kit Quick-gDNA Miniprep (50 preps) w/ZymoResearch IIN Columns, de acordo com as recomendações do fabricante.

4.5.3 Reações de PCR

Foram utilizados marcadores SCAR espécie-específicos desenvolvidos por, Zijlstra *et al.* (2000) e Randig *et al.* (2002) em quantidades equimolares na identificação de *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. hapla* em reações individuais, duplex e multiplex (Tabela 2). As reações foram realizadas em volume final de 25 µl contendo: 2µl de DNA, 0,25 µl de tampão 10X MgCL₂; 4 µl dNTPs [1,25mM] (Invitrogen) e 0,5 µl de cada primer SCAR. Em cada tubo foi adicionada uma gota de óleo mineral para prevenção de evaporação. As amplificações foram realizadas em termociclador MJ25+ (Biocycler) na seguinte condição (Silva *et al.* 2014): 5min. a 94°C; 35 ciclos de 30s a 94°C, 45s a 61 °C, e 1min. a 70°C e extensão final de 8 min. a 70 °C. Os produtos de amplificação foram separados em gel de agarose 1,2 % e visualizados em luz ultravioleta, após a coloração com brometo de etídio.

Tabela 2. Características de marcadores SCAR espécie-específicos para *Meloidogyne* spp.

Espécie	Primer SCAR	Sequência (5'→3')	Fragmento	Referência
<i>M. incognita</i>	Inc-K14-F	GGGATGTGTAAATGCTCCTG	399pb	Randig <i>et al.</i> (2002)
	Inc-K14-R	CCCGCTACACCCTCAACTTC		
<i>M. arenaria</i>	Far	TCGGCGATAGAGGTAAATGAC	420pb	Zijlstra <i>et al.</i> (2000)
	Rar	TCGGCGATAGACTACAAC		
<i>M. javanica</i>	Fjav	GGTGC GCGATTGAACTGAGC	670pb	Zijlstra <i>et al.</i> (2000)
	Rjav	CAGGCCCTTCAGTGGA ACTATAC		
<i>M. hapla</i>	hF	TGACGGCGGTGAGTGCGA	610pb	Zijlstra <i>et al.</i> (2000)
	hR	TGACGGCGGTACCTCATAG		

*pb: pares de base.

4.6 IDENTIFICAÇÃO DE *PRATYLENCHUS* SP.

Pratylenchus sp. foi identificado por caracteres morfológicos, morfométricos, biológicos e por PCR. Os caracteres morfométricos avaliados (De Man, 1880) foram V (% de distância entre a vulva e a região anterior em relação ao comprimento total do corpo) e S (comprimento do estilete/largura do corpo na base do estilete). Os morfológicos incluíram o número de anéis labiais (1 a 3) e formato da espermateca, além da presença ou ausência de machos nas populações encontradas (biológico). Esses caracteres foram utilizados na identificação da espécie com base na análise de 30 espécimes e identificação por chave dicotômica (Castillo & Vovlas, 2007).

A identificação por PCR foi realizada de acordo com Machado *et al.* (2007). Para a extração de DNA genômico utilizou-se o kit Quick-gDNA Miniprep (50 preps) w/ZymoResearch IIN Columns, de acordo com as recomendações do fabricante, a partir de 80 nematoides (adultos e juvenis) macerados com auxílio de um pistilo em almofariz com nitrogênio líquido.

O DNA obtido foi utilizado (3 µl) em reações de PCR com o primer universal direto 18S 5'-TTGATTACGTCCCTGCCCTTT-3' e o primer reverso ACM7R 5'-GCWCCATCCAAACAAYGAG-3'. As reações seguiram a seguinte relação temperatura/tempo: 94°C por 2 min. e 45 segundos e 40 ciclos a 94°C por 1 min., 57°C por 45 segundos e 72°C por 2 min.. A fase de extensão final foi realizada a 72°C por 10 min.. As amplificações foram realizadas em termociclador MJ25+ (Biocycler).

Os produtos da amplificação por PCR foram separados em gel de agarose 1,2%, corados com brometo de etídeo (0,5 µg/ml) e visualizados sob luz ultravioleta em transiluminador. Vinte e quatro populações de *Pratylenchus* foram transformadas em 8 para a extração de DNA genômico e análise por PCR. População 1 Cristalina–GO (27,28,) e Planaltina–DF (29, 30); população 2 Núcleo Rural Tabatinga (31, 34) e Núcleo Rural Rio Preto (32, 33);

população 3 Água Fria–GO (35, 36, 37) e Cristalina–GO (38); população 4 Cristalina–GO (39,41) e Cocalzinho–GO (42); população 5 Cocalzinho–GO (43) e Buritis–MG (44, 45, 46); população 6 Padre Bernardo–GO (47, 48, 49) e Corumbá–GO (50); população 7 (Luziânia–GO (51, 52, 53) e Unaí–MG (54); e população 8 Unaí–MG (55, 56) e Cidade Ocidental–GO (58).

4.7 QUANTIFICAÇÃO DE *PRATYLENCHUS*, DETERMINAÇÃO DO NÍVEL DE INFESTAÇÃO E PRESERVAÇÃO EM SOLUÇÃO DE DESS-EDTA

Pratylenchus sp. foi extraído de amostras de 300 cc de solo como no item 4.2. Os nematoides encontrados foram quantificados em microscópio óptico com auxílio de lâmina de Peters. O nível de infestação para cada área foi estimado com base na seguinte classificação: Baixo, quando detectados até 100 nematoides por 300 cc de solo; Médio, com 101-400 nematoides/300 cc de solo; Alto, com mais 400 nematoides/300 cc de solo (Koenning *et al.*, 2015). Os nematoides encontrados foram mortos a 53 °C/1 min. e transferidos para tubos de 0,5 ml contendo solução DESS-EDTA com auxílio de um estilete e para recipientes com solução de Golden.

4.8 FIXAÇÃO DE NEMATOIDESE PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Para a identificação de *Pratylenchus brachyurus*, também foi utilizada a técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). As amostras foram fixadas em uma solução aquosa de glutaraldeído a 2% e paraformaldeído a 2%. Após a fixação, o material foi preservado em uma solução tampão de cacodilato de sódio a 0,1M, aguardando o processo de pós-fixação, onde o material foi submerso em uma solução de tetróxido de ósmio a 1%. Em seguida, o material passou por um processo de desidratação gradativa com banhos de soluções

aquosas de acetona de 30, 50, 70 e 90% e três banhos de acetona pura, de 15 minutos cada, antes de sofrer a secagem ao ponto crítico com CO₂ e metalização de sua superfície em um sputter coater. O material foi fotografado no microscópio Jeol (JSM-70001F).

5 RESULTADOS

5.1 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE *PRATYLENCHUS*

Na RIDE, *P. brachyurus* foi encontrado parasitando raízes de soja e causando necroses e redução na altura das plantas. Foram detectadas 68 populações de *P. brachyurus* em municípios da RIDE. Dessas populações, 48 foram coletadas em 16 municípios do Estado de Goiás, 6 populações nos municípios de Unai e Cabeceira Grande e 14 populações no Distrito Federal envolvendo as regiões administrativas de Planaltina, Paranoá e Núcleo Rural do Rio Preto (Tabela 3).

Nas amostras de solo coletadas na RIDE, 70,5% apresentaram níveis populacionais baixos para *P. brachyurus*, enquanto 28% apresentaram níveis médios e apenas uma localidade (1,5%) no município de Água Fria de Goiás apresentou nível alto.

Os valores de *P. brachyurus* por grama de raiz variaram entre as amostras coletadas. Para 11,7% variou de 33 a 72 e média de 48,7 nematoides/g de raiz, permanecendo o restante das amostras (88,23%) com variação de 1 a 29 e média de 6,86 nematoides/g de raiz (Tabela 4).

Das populações encontradas, espécimes representativos de 24 populações foram mantidos em solução de DESS-EDTA para análise por PCR e espécimes das 68 populações foram mantidas em solução Golden, infiltração com glicerina e montagem de lâminas permanentes para análise morfológica e morfométrica.

Nas populações encontradas apenas fêmeas foram detectadas com valores de V variando de 83,6 a 87,05%, comprimento do estilete variando de 18,75-22,5 e valores médios de S variando de 1,15 (1,05 a 1,28), saco pós uterino curto, além da presença de 2 anéis labiais, região cefálica destacada do corpo e ausência de espermateca funcional, cauda conóide de ponta lisa (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**, Figura 5 e Figura 6).

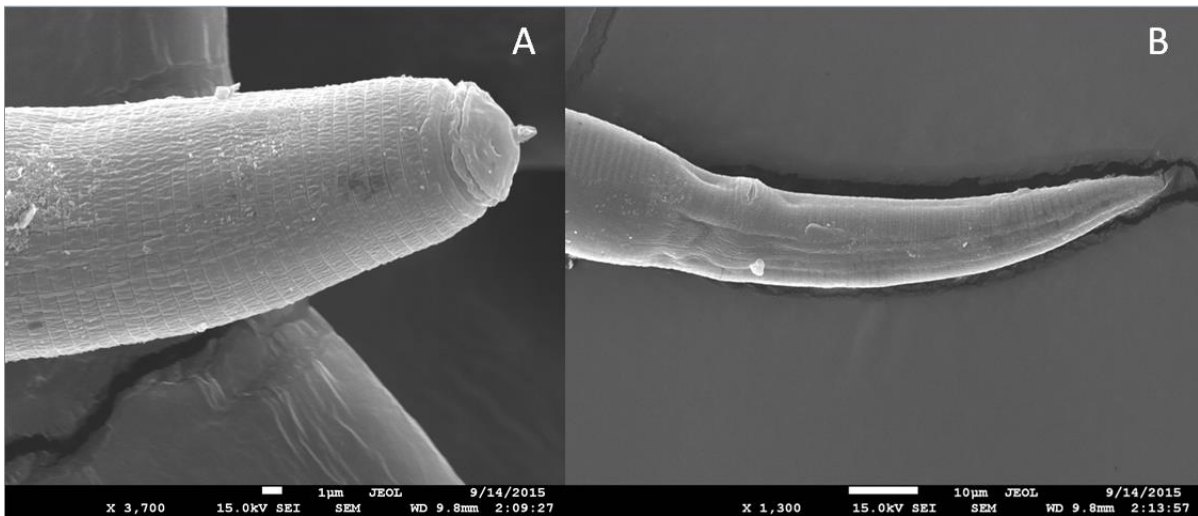


Figura 4. Micrografias ao microscópio eletrônico de varredura com vista lateral da região cefálica (A) e da cauda (B) de *Pratylenchus brachyurus*.

A identificação morfológica seguiu a chave dicotômica proposta por Castillo & Vovlas (2007) assim como a proposta por Café Filho & Huang (1988) e sugere *P. brachyurus* como a espécie presente nas 68 populações encontradas. O marcador molecular desenvolvido por Machado *et al.* (2007) foi utilizado em reações de PCR e amplificou um único fragmento de DNA genômico de 267 pb com base no DNA genômico de amostras oriundas do DF e dos estados de Goiás e MG.

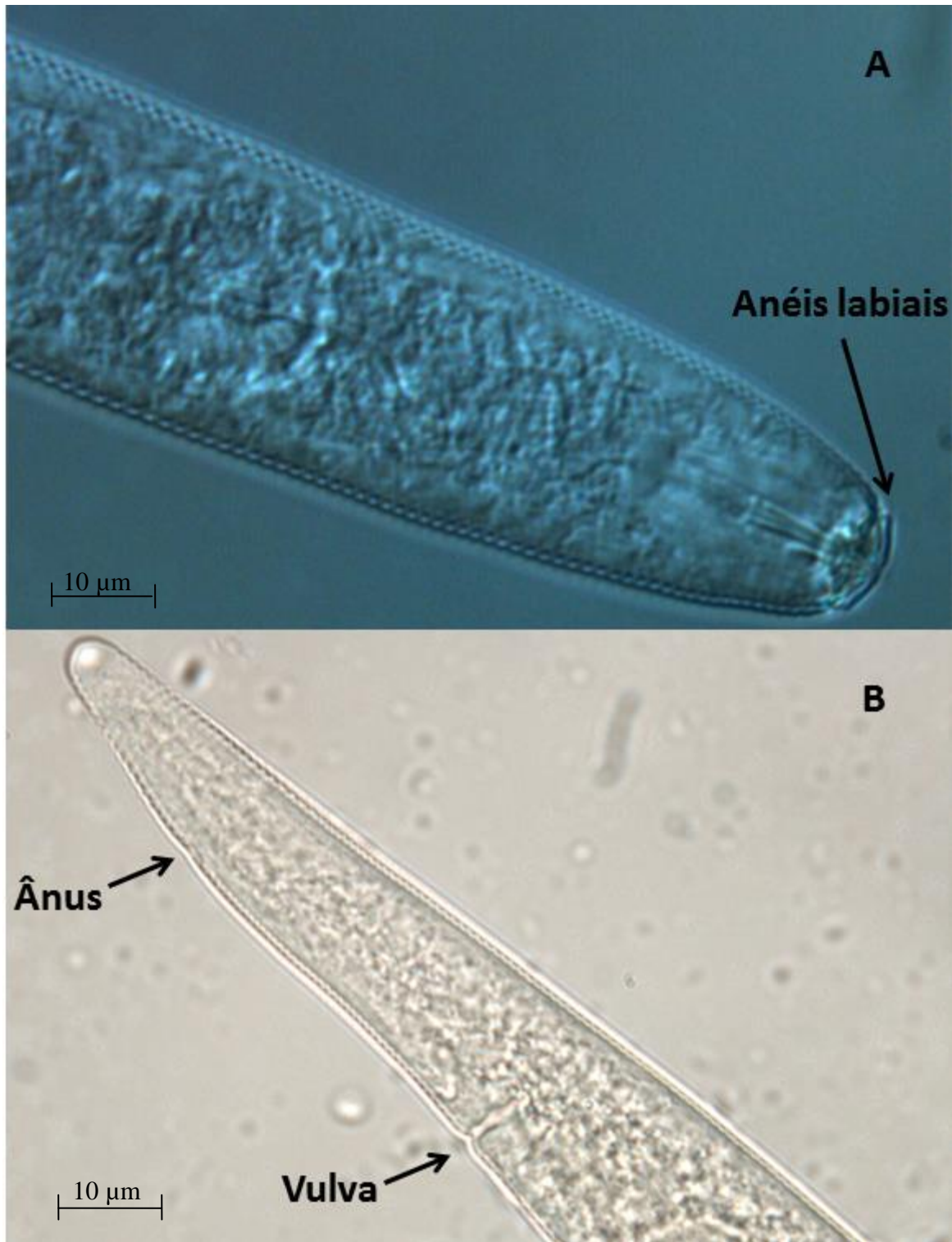


Figura 5. Micrografias ao microscópio Óptico de *Pratylenchus brachyurus*. A- região anterior; B- região Posterior mostrando a vulva, ânus e cauda conóide.



Figura 6. Fêmea de *Pratylenchus brachyurus*.

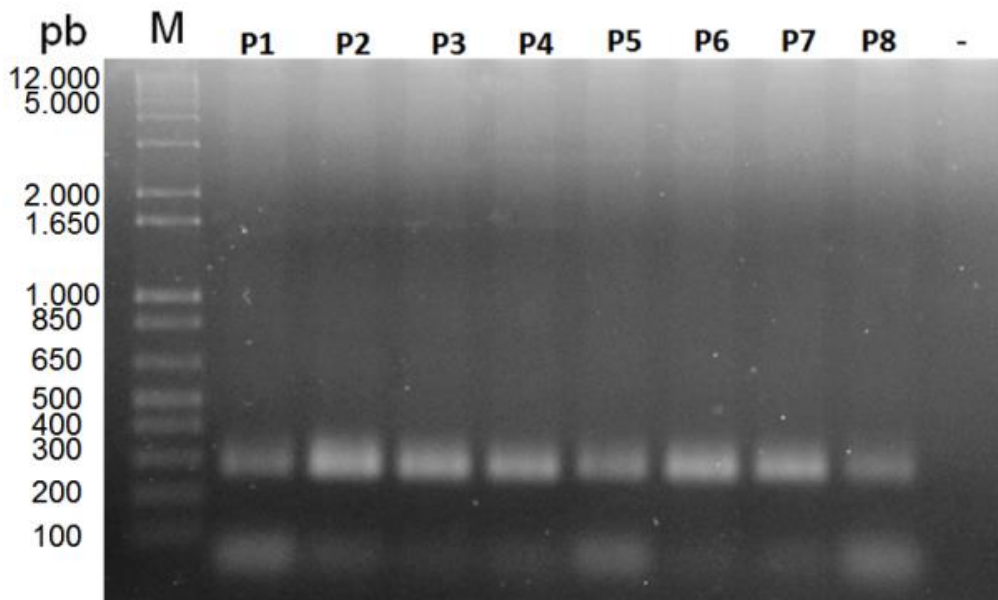


Figura 7. Gel de agarose da amplificação por PCR de fragmentos de DNA genômico de 267 pb referentes a 8 populações de *Pratylenchus brachyurus* (P1 a P8) coletadas na RIDE. M = marcador molecular 1 Kb Plus DNA Ladder.

Tabela 3. Nível populacional em amostras de 300 cc de solo de *Pratylenchus brachyurus* em municípios da RIDE-DF.

Municípios/Estado	Amostra	Nematoides	Nível de Infestação	Municípios/Estado	Amostra	Nematoides	Nível de Infestação
Abadiânia-GO	82	14	Baixo	Formosa-GO	1	13	Baixo
	83	0	Baixo		2	0	Baixo
	84	0	Baixo		3	372	Médio
17	525	Alto	4		0	Baixo	
Água Fria de Goiás-GO	35	388	Médio	Luziânia-GO	51	44	Baixo
	36	75	Baixo		52	90	Baixo
	37	168	Médio		53	60	Baixo
Águas Lindas de Goiás-GO	59	85	Baixo	Mimoso-GO	62	0	Baixo
	60	14	Baixo	47	182	Médio	
	61	28	Baixo	Padre Bernardo-GO	48	50	Baixo
66	140	Médio	49		46	Baixo	
Alexânia-GO	68	336	Médio	Vila Boa-GO	14	0	Baixo
	69	50	Baixo		15	21	Baixo
Buritis-GO	44	231	Médio		16	0	Baixo
	45	225	Médio		Planaltina de Goiás-GO	22	90
	46	52	Baixo	23		104	Médio
Cabeceiras-GO	10	0	Baixo	PAD-DF Paranoá	25	83	Baixo
	11	20	Baixo	40	88	Baixo	
	12	0	Baixo	N. R. Jardim Paranoá-DF	24	147	Médio
	85	0	Baixo		18	16	Baixo
	13	0	Baixo		19	0	Baixo
Cidade Ocidental	57	60	Baixo	N.R. Tabatinga Planaltina-DF	29	39	Baixo
	58	304	Médio		30	120	Médio
	70	85	Baixo		31	72	Baixo
42	32	Baixo	34		50	Baixo	
Cocalzinho-GO	43	180	Médio	N.R. Taquara-DF	26	126	Médio
	81	42	Baixo		20	44	Baixo
Corumbá de Goiás-GO	50	0	Baixo	N.R Rio Preto-DF	21	0	Baixo
	67	13	Baixo		32	11	Baixo
	27	51	Baixo		33	38	Baixo
Cristalina-GO	28	90	Baixo		Cabeceira Grande-MG	63	105
	38	0	Baixo	64		42	Baixo
	39	0	Baixo	65		360	Médio
	41	105	Médio	54		136	Médio
Unai-MG				55	176	Médio	
				56	340	Médio	

Nível de infestação baixo= até 100 nematoides; médio=101-400 nematoides; e alto: acima de 400 nematoides.

Tabela 4. Nematoides extraídos de raízes de soja coletadas em propriedades rurais da RIDE.

Amostra	Het.	Helicot.	Prat.	Mel.	Amostra	Het.	Helicot.	Prat.	Mel.
1	-	6	1	-	40	-	-	6	-
2	-	2	29	-	41	-	2	10	-
3	-	15	2	0	42	-	1	0	-
4	-	24	22	-	43	-	5	4	-
10	-	7	4	3	44	-	6	42	-
11	-	0	5	0	45	-	15	72	25
12	-	-	2	0	46	-	10	6	-
85	-	-	4	-	47	-	-	12	-
13	-	13	6	1	48	-	5	7	-
14	-	6	4	1	49	-	-	1	-
15	-	-	1	1	50	-	1	4	-
16	-	-	-	-	51	-	1	7	-
17	-	-	18	34	52	-	1	12	-
18	-	4	3	-	53	1	1	4	-
19	-	2	1	143	54	-	4	13	-
20	-	3	2	3	55	-	7	35	-
21	-	2	4	-	56	-	1	18	-
22	-	4	12	96	57	-	1	2	-
23	-	1	2	0	58	-	6	17	-
24	-	2	25	-	59	-	1	6	-
25	-	5	25	-	60	-	16	36	-
26	-	6	66	-	61	-	7	33	-
27	1	3	3	-	62	-	-	0	-
28	-	13	4	-	63	-	3	34	4
29	1	1	2	-	64	-	1	1	-
30	-	1	19	-	65	-	1	3	-
31	-	9	13	-	66	-	1	2	-
32	-	5	1	-	67	-	-	1	-
33	-	10	4	-	68	-	-	2	-
34	-	11	16	-	69	-	-	1	-
35	-	10	8	-	70	-	1	72	-
36	-	8	2	-	81	-	1	1	-
37	-	2	1	-	82	-	2	11	-
38	-	-	10	-	83	-	-	2	-
39	-	-	5	-	84	-	5	3	-

Legenda: Het.=*Heterodera*; Helicot= *Helicotylenchus*; Prat.=*Pratylenchus*; Mel.=*Meloidogyne*.

Obs.: os resultados foram baseados no peso de raízes inteiras e dados em nematoides/grama de raiz.

5.2 IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE *MELOIDOGYNE* SPP.

Meloidogyne arenaria, *M. incognita* e *M. javanica* foram detectados parasitando soja em municípios da RIDE. A identificação de *M. javanica* e *M. arenaria* foi realizada com base em fenótipos de esterase e/ou amplificação por PCR conforme as Figura 8, Figura 9 e Figura 10 e descrito na Tabela 5.

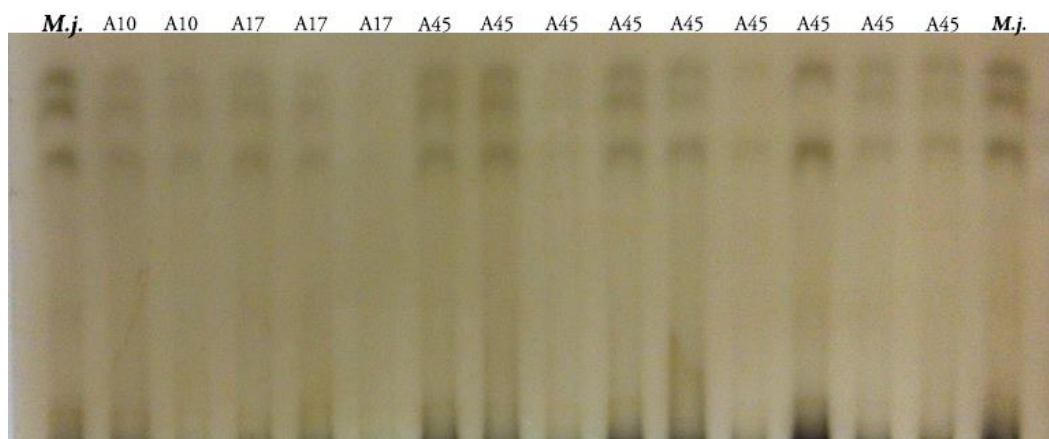


Figura 8. Fenótipo de esterase (J3) em populações de *Meloidogyne javanica* coletadas na RIDE.

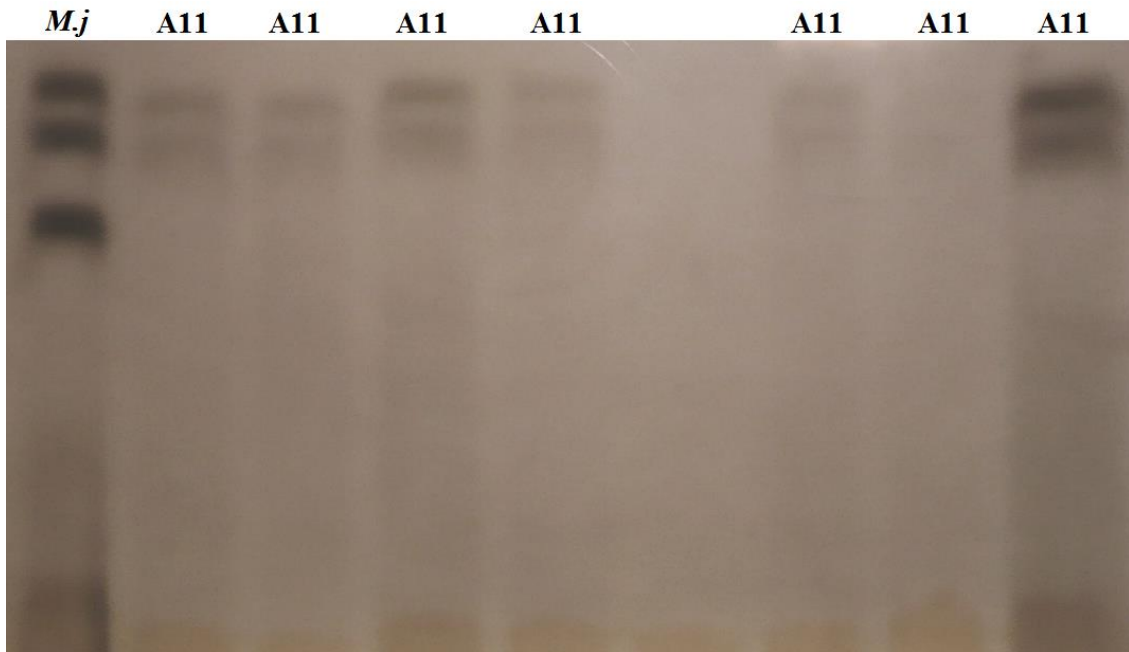


Figura 9. Gel de poliacrilamida com fenótipo Esterase A2 detectado a partir de fêmeas individuais extraídas de raiz de tomateiro (amostra A11).

Populações de *M. javanica* e *M. arenaria* foram identificadas mediante a detecção de fragmentos de 670 e 420 pb, respectivamente, de acordo com Zijlstra *et al.*, (2000) (Figura 10 e Figura 11). As populações 10, 19 e 45 de *M. arenaria* não tiveram o fenótipo de esterase revelado, tendo sido identificadas apenas por PCR (420 pb) (Tabela 5). No entanto, estas três populações necessitam de confirmação uma vez que o marcador molecular para *M. arenaria* amplifica um fragmento de DNA de mesmo tamanho para *M. morocciensis*.

Os fenótipos de esterase identificados foram J3 para *M. javanica* e A2 para *M. arenaria*. Não foi detectado fenótipo de esterase para *M. incognita* nas amostras 13 e 22. No entanto, esta espécie foi confirmada por PCR, fragmento de 399 pb, mediante o uso de marcador molecular específico.

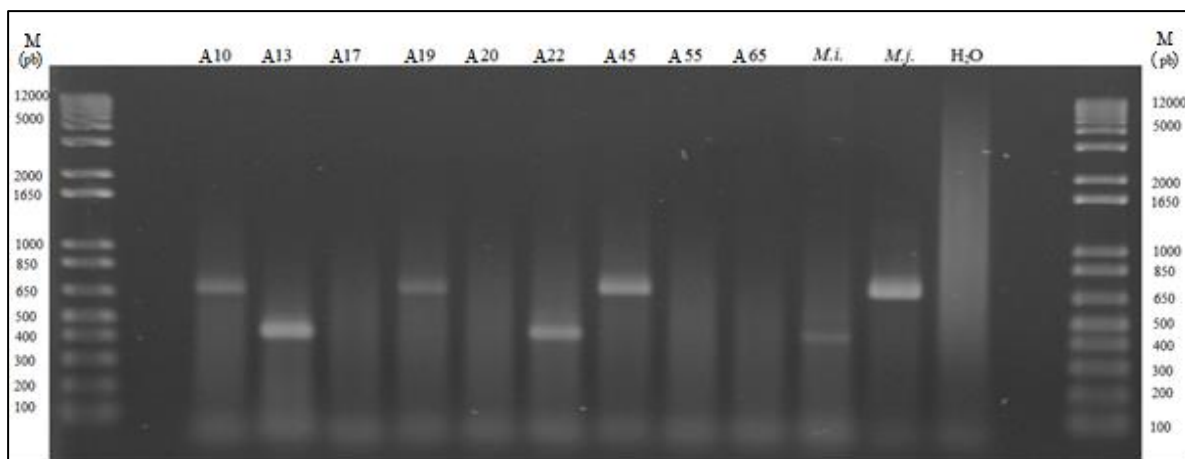


Figura 10. PCR com primers específicos para *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*. M= 1 Kb Plus DNA Ladder; pb= pares de base; A= amostra.

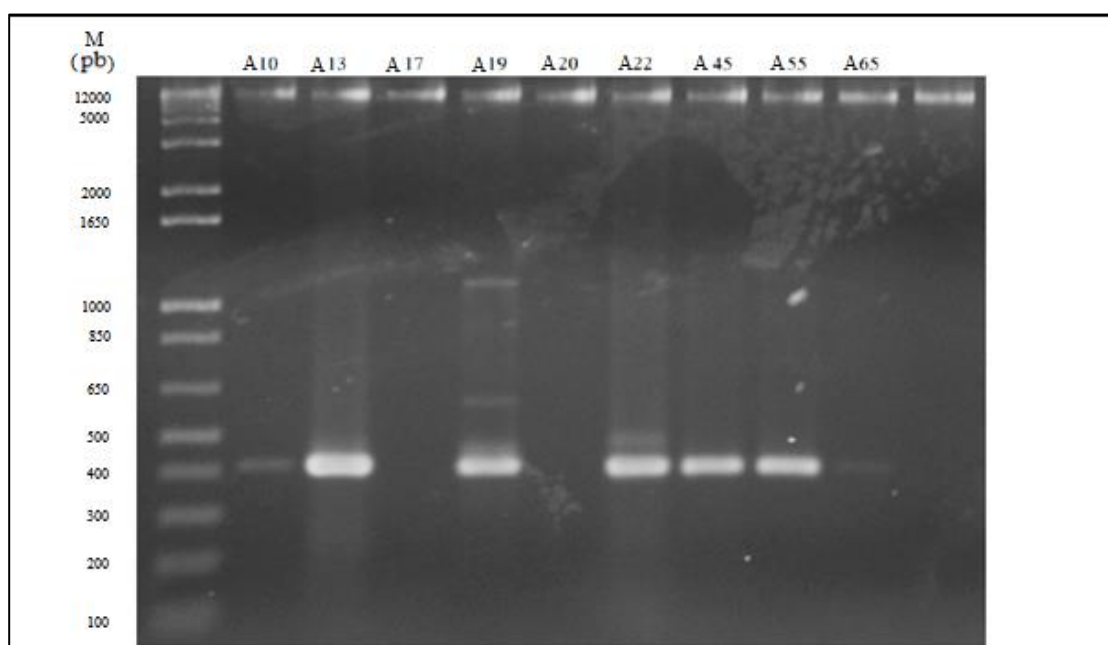


Figura 11. PCR com primers específicos para *Meloidogyne arenaria* e *M. hapla*.

M= 1 Kb Plus DNA Ladder; pb= pares de base; A= amostra.

A presença de formas J2 de *Meloidogyne* variou nas amostras de solo coletadas. Foi detectado um máximo de 3.180 J2/300 cc de solo, havendo amostras com 20 nematoides e também com galhas em raízes e ausência de J2 na amostra de solo. O número de J2/g de raiz também variou, tendo sido encontrado um máximo de 143 nematoides/g de raiz e ausência de nematoides em amostras de raízes (

Tabela 5).

Tabela 5. Quantificação e identificação de populações de *Meloidogyne* spp. coletadas na RIDE.

Município/Estado	Amostra	Espécie(s)	Esterase	Fragmento (pb)	J2/300 cc de solo	J2/g raiz
Água Fria de Goiás (GO)	17	<i>M. javanica</i>	J3	---	555	34
		<i>M. arenaria</i>	A2	---		
Águas Lindas de Goiás/GO	60	---	---	---	28	0
Buritis/GO	45	<i>M. javanica</i>	J3	670	1300	25
		<i>M. arenaria</i>	---	420		
Cabeceira Grande/MG	65	<i>M. arenaria</i>	A2	420	3180	0
		<i>M. javanica</i>	J3	---		
Cabeceiras/GO	10	<i>M. javanica</i>	J3	670	119	3
		<i>M. arenaria</i>	---	420		
	11	<i>M. arenaria</i>	A2	----	20	
		13	<i>M. incognita</i>	---	399	0
Planaltina de Goiás/GO	22	<i>M. arenaria</i>	A2	420	120	96
		<i>M. incognita</i>	---	399		
Planaltina-Tabatinga/DF	19	<i>M. javanica</i>	J3	670	840	143
		<i>M. arenaria</i>	---	420		
Planaltina-Rio Preto/DF	20	<i>M. arenaria</i>	A2	---	0	3
	32	<i>M. javanica</i>	J3	---	0	0
Unaí/MG	55	<i>M. arenaria</i>	A2	420	60	0

pb=Pares de base

5.3 QUANTIFICAÇÃO DE CISTOS E J2 DE *HETERODERA GLYCINES* E DETERMINAÇÃO DE RAÇA FISIOLÓGICA

Em amostras de solo, o nematoide *H. glycines* foi detectado em nove áreas produtoras de soja da RIDE referentes aos municípios de Cabeceira Grande – MG (1), Cabeceiras – GO (1), Cristalina – GO (4), Planaltina - Tabatinga – DF (1), PAD-DF (1) e Luziânia – GO (1) (Tabela 6). O número de cistos viáveis variou de 3 a 1060 por 300cc de solo e o de cistos totais de 5 a 1620. Nas amostras de solo, houve grande variação no número de J2, com um máximo de 1400 em Cabeceira Grande (MG) e ausência de J2 na amostra de Cabeceiras (GO).

Tabela 6. Cistos e J2 de *Heterodera glycines* detectados em amostras de 300 cc de solo em municípios da RIDE.

Município/Estado	Amostra(s) Nº	Cistos inviáveis	Cistos viáveis	Cistos totais	J2
Cabeceiras (GO)	12	5	3	8	0
	27	24	96	120	170
Cristalina (GO)	38	108	103	211	216
	39	10	3	13	26
	41	3	2	5	21
Planaltina (DF)	29	11	30	41	78
PAD-DF	40	122	124	246	292
Luziânia (GO)	51	196	274	470	1166
Cab. Grande (MG)	64	560	1.060	1.620	1400
Unai (MG)	56	0	0	0	20

A reação em plantas hospedeiro-diferenciadoras detectou a presença da raça 3 nas amostras analisadas com infecção apenas da cultivar Lee 74, segundo o esquema de diferenciação de raças de *H. glycines* proposto por Riggs & Schmitt (1988) (Tabela 7).

Tabela 7. Determinação de raças de *Heterodera glycines* em municípios da RIDE.

Amostra(s)	Nº de ovos	Lee 74	IF (%)	Raça
Cristalina	3000	55,5	100	3
PAD-DF e Planaltina	4000	129,3	100	3
Luziânia	1500	46,8	100	3
Cabeceira Grande e Unai	1500	33,0	100	3

Legenda: IF= índice de fêmeas

5.4 OUTROS NEMATOIDES FITOPARASITAS

Outros nematoides fitoparasitas associados à soja na RIDE foram identificados a nível de gênero. Foram encontrados *Helicotylenchus*, *Criconemoides*, *Trichodorus* e *Tylenchorhynchus*. Em amostras de solo (300 cc), *Helicotylenchus* spp. foi encontrado em todas as áreas produtoras de soja da RIDE com um mínimo de 18 e um máximo de 3420 nematoides/300cc de solo, este último na amostra 31 coletada em Planaltina-Tabatinga (DF), ocorrendo em população mista com *P. brachyurus*. Em raízes de soja, *Helicotylenchus* sp. variou de 1 a 72 nematoides/g de raiz (Tabela 8).

Criconemoides spp. foi encontrado na amostra 3 (Formosa – GO) e amostra 11 (Cabeceiras – GO), com 12 e 20 nematoides/300 cc de solo, respectivamente. Na amostra 3 esse nematoide foi detectado com *P. brachyurus* e *Helicotylenchus* spp. e na amostra 11 juntamente com *P. brachyurus*, *M. arenaria* e *Helicotylenchus* spp. (Tabela 8).

O nematoide *R. reniformis* foi detectado em uma amostra de solo do núcleo rural Tabatinga, localizado na região administrativa de Planaltina-DF. Foram detectados 133

espécimes/300 cc de solo. Fêmeas do nematoide foram encontradas no solo, mas não quantificadas (Tabela 9).

Trichodorus sp. foi encontrado nas amostras anteriores (3 e 11), 29 e 30 (Planaltina-Tabatinga), 36 e 37 (Água Fria de Goiás) e 66 (Alexânia – GO). O nível populacional em campo variou de 12 a 108 nematoides/300 cc de solo, sendo que o maior nível populacional ocorreu na amostra 37 coletada em Água Fria de Goiás. Na amostra 29, *Trichodorus* spp. foi encontrado juntamente com *H. glycines* e *P. brachyurus* e nas amostras 30, 36, 37 e 66 juntamente com *Helicotylenchus* e *P. brachyurus*.

Foram encontrados também nematoides micófagos (*Aphelenchus* e *Aphelenchoides*), bacteriófagos (*Acrobeles* e *Rhabditis*), predadores (Ordem Mononchida) e onívoros (Dorylaimidae).

Tabela 8. Ocorrência simultânea de *Pratylenchus brachyurus*, *Heterodera glycines* e *Meloidogyne* spp. em municípios da RIDE a partir de amostras de 300 cc de solo.

Município/Estado	Amostra(s)	<i>H. glycines</i>		<i>P. brachyurus</i>		<i>Meloidogyne</i> spp.	
		<i>Solo</i>	<i>Raiz</i>	<i>Solo</i>	<i>Raiz</i>	<i>Solo</i>	<i>Raiz</i>
Água Fria de Goiás (GO)	17	----	----	525	18	555	34
Águas Lindas de Goiás (GO)	60	----	----	14	36	28	----
Buritis (GO)	45	----	----	225	72	1300	25
Cabeceira Grande (Goiás)	64	1400	----	42	1	----	----
	65	----	----	360	3	3180	----
	10	----	----	----	4	119	3
Cabeceiras (GO)	11	----	----	20	5	20	----
	12	8c	----	----	2	----	----
	13	----	----	----	6	----	1
	27	170	1	51	3	----	----
Cristalina (GO)	38	216	----	10	10	----	----
	39	26	----	126	5	----	----
	41	21	----	5	10	----	----
	19	----	----	----	1	840	143
Planaltina (DF)	20	----	----	44	42	----	3
	32	----	----	11	1	----	96
	29	78	1	39	2	----	----
PAD-DF	40	292	----	88	6	----	----
Luziânia (GO)	51	1166	----	44	7	----	----
	55	----	----	176	35	60	----
Unai (MG)	56	20	----	340	18	60	----

c=cistos totais/300cc de solo.

Tabela 9. Nível populacional de nematoides por amostra em municípios da RIDE-DF (nematoides/300cc de solo).

Municípios	Amostra	A1	A2	Ba	Cr	He	On	Pr	Rr	Tr	Ty	Tn	Municípios	Amostra	A1	A2	Ba	Cr	He	On	Pr	Rr	Tr	Ty	Tn
Abadiânia	82												Luziânia	51			2156		550						
	83			14								14		52	36		1476		162	18				18	
	84			176				16						53		120	1560		1380	20					
	17			45			60						Mimoso	62	23	23	161		46	69	23				46
Água Fria de Goiás	35	63	38	438		1550	600							47	52		1950		156	3432				26	
	36	90	68	353		570	855			30		83	Padre Bernardo	48	125		625		2225	25				100	
	37	24	36	468		1512	1800	24		108		36		49	46		460		46					46	
	59	34		306		646	510						Vila Boa	14	26				26						
Águas Lindas de Goiás	60	84		406		420						42		15	42	42	147							126	
	61	238	14	420		742	14					10		16					18						
	66	20	40	330		770	190			20		240	Planaltina de Goiás	22	30		120		960	150				120	
Alexânia-	68	16		176		3696	976	96						23	364		4602		2340	1560	52			104	
	69	30		330		580	330						PAD-DF Paranoá	25	15	38	593		1065	128				45	
	44			2961		1323	21							40		154	374		88	1100				66	
Buritis	45			1525		1950							N. R. Jardim Paranoá	24	102	62	170		918	476	17			79	
	46	416		2210		1924	2470					52		18	16	16	32		203					16	
	10	34	34	136		340	272	34				34		19	56	35	483		910	952	42	133		112	
	11	40	20	160	20	1850	120	20		20		40	Tabatinga Planaltina	29	260		273			130			13	78	
Cabeceiras	12	125	25	75		25	50							30	24	36	360		384	60			24	24	
	85													31	90		630		3420	702					
	13	56	16	160		560	64	24						34	20	40	210		300	80				40	
	57		160	220	60	1520		60				220	N.R. Taquara	26	14	14	741		707	154	21			14	
Cidade Ocidental	58	16	32	208		1840						64		20		22	176		337					22	
	70			90		1140		375	45			75	N.R Rio Preto	21		20	160		220	80				20	
	42	64		96		704	272	32				128		32	11		176		418	66	11			11	
Cocalzinho	43	100	40	280		840	740					80		33	19	57	456		2223	38				57	
	81	14	42	686		2282	56					14		63	45	15	180		375	45				45	
	50	20		1060		1140							Cabeceira Grande	64	98		98		1400	2506					
	67	52				221	104							65	660		500		3180	103000					
	27	17	17	544		170	153					17		54	34	17	1139		799		34			34	
	28	60	15	435		1755	90					30	Unai	55	44	110	1870		1364						
	38			240			336					24		56	60		1760		2320					100	
	39		26	130		156	234				520	52													
	41			137		462	158				42	74													
	1		52	65		351	247	13				169													
Formosa	2					168																			
	3	48		348		1440	396	12				264													
	4																								

A1= *Aphelenchus*; A2= *Aphelenchoides*; Ba= *Bacteriófagos*; Cr= *Criconemoides*; He= *Helicotylenchus*; On= *Onívoro*; Pr= *Predadores*; Rr; *Rotylenchulus reniformis* Tr= *Trichodorus*; Ty= *Tylenchorhynchus*; Tn= *Tylenchinae*;

Discussão

Espécies do gênero *Pratylenchus* encontram-se amplamente disseminadas em áreas produtoras de alimento nas Américas (Mai *et al.*, 1960; Huettel *et al.*, 1991; Mitkowschi, 2002; Bao & Neher, 2011), sendo *P. brachyurus* a espécie de maior importância econômica e amplamente disseminada em áreas produtoras de soja do Brasil (Dias *et al.*, 2010). Na RIDE, esse nematoide foi encontrado em todos os municípios amostrados e em 97,1% das 70 amostras analisadas. O nível populacional de *P. brachyurus* detectado em amostras de solo coletadas na RIDE variou, em sua maioria, de baixo a médio. Koenning *et al.* (1985) relataram o nível de dano econômico para *P. brachyurus* na cultura da soja nos Estados Unidos da América do Norte (Carolina do Norte) como sendo de 275 nematoides/500gramas de solo equivalente a 165 nematoides/300 cc de solo.

O nível de infestação causado por *P. brachyurus* em soja é geralmente avaliado pelo nível populacional encontrado em raízes. Gilfi *et al.* (2003), em levantamento de nematoides realizado na cultura do algodão em 10 municípios do estado de Goiás, detectaram valores inferiores a 30 *P. brachyurus*/g de raiz em 79% das amostras coletadas, os quais foram considerados baixos pelos autores. Das amostras de raízes analisadas nesse estudo, 85,7% (60 amostras) apresentaram de 1 a 29 nematoides/g de raiz e média de 6,86 nematoides; 11,42% apresentaram acima de 30 nematoides/g de raiz e média de 48,75 nematoides; Apenas 2,9% das amostras (2 amostras) não continham *P. brachyurus*.

Na RIDE, *P. brachyurus* também foi encontrado em áreas infestadas com outros nematoides fitoparasitas de importância econômica como *H. glycines* e *Meloidogyne* spp.. A ocorrência simultânea de *P. brachyurus* e *Meloidogyne* spp. apresentou variações populacionais diversas para ambos os nematoides.

O aumento da área plantada com milho “safrinha” (período compreendido entre janeiro e março) provavelmente tem contribuído para o aumento do nível populacional de *P.*

brachyurus na RIDE. Dependendo do cultivar de milho plantada e do inóculo inicial do nematoide, a população de *P. brachyurus* pode se tornar ainda maior em uma mesma safra de milho.

Como o círculo de hospedeiras de *P. brachyurus* é amplo (soja, feijão, algodão, milho e pastagens), as opções para rotação de verão com soja se tornam restritas. Espécies vegetais não hospedeiras como *Crotalaria spectabilis* e *C. breviflora* são opção, assim como espécies pouco favoráveis como *Brachiaria humidicola*, feijão Guandu Anão cv. IAPAR 43 e aveia preta (Inomoto *et al.*, 2006). Outras espécies vegetais são consideradas moderadamente resistentes por permitir uma pequena evolução populacional de *P. brachyurus* por ciclo vegetativo. São elas milheto BRS 1501, girassol cv. IAC Uruguai e nabo forrageiro comum podem ser utilizadas em áreas infestadas com este nematoide, bem como plantas de cobertura como Quinoa BRS Pirabiru e amaranto BRS Alegria (Inomoto *et al.*, 2006).

Asmus (2004), em levantamento realizado em Mato Grosso do Sul na cultura do algodão, constatou a presença de *P. brachyurus* em 82% das amostras coletadas em Chapadão do Sul, 79% das amostras de Costa Rica e 87% das amostras de São Gabriel do Oeste. Com nível populacional em 300cc variando de 15 a 345 nematoides.

Meloidogyne spp.

Sikora *et al.* (2011), em levantamento realizado no Alabama-EUA relataram a presença de *Meloidogyne* spp. em 10% e 15% das amostras, respectivamente. Roese *et al.* (2001), no oeste paranaense, relataram a ocorrência de *M. javanica* e *M. incognita* em 22% e 27% das amostras analisadas e Silva *et al.* (2004) detectaram apenas *M. incognita* em 3,7% das amostras analisadas em levantamento realizado no estado do Mato Grosso (MT). A ocorrência de *M. incognita* nesse levantamento foi de 2,85%, enquanto *M. arenaria* foi a espécie mais freqüente seguida de *M. javanica*. Franzener *et al.* (2005) também identificaram *M. javanica* e *M. incognita* em cultivos de soja do oeste do Paraná sendo *M. javanica* a

espécie mais frequente. Castro *et al.* (2003), relataram *M. javanica* (EST-J3) como a espécie mais freqüente em 78 amostras coletadas, seguida por *M. incognita* (EST-I1) e *M. arenaria* (EST-A2), além de dois fenótipos de esterase atípicos (S1 e G3) e detecção de *M. paranaensis* em soja no Rio Grande do Sul e do fenótipo A3 relativo a *M. morocciensis*.

Das espécies de *Meloidogyne* citadas anteriormente, *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita* são as mais comumente relatadas e disseminadas em áreas produtoras de soja no Brasil. No entanto, em temperaturas mais amenas *M. hapla* pode ser encontrada parasitando soja, como relatado por Viaene & Abawi (1998) e Mitkowski (2002).

Neste estudo foram identificadas, em sua maioria, populações mistas de *Meloidogyne* spp. Em Planaltina-DF detectou-se *M. javanica* (EST-J3) e *M. arenaria* (EST-A2) em mistura de populações. O fenótipo EST-J3 de *M. javanica* já havia sido relatado anteriormente por Castro *et al.* (2003) neste mesmo município. Eisenback & Triantaphyllou (1991) relataram a ocorrência comum de *M. javanica* associado a *M. incognita* ou a *M. arenaria* e, às vezes, a ocorrência concomitante das três espécies em áreas cultivadas com grandes culturas. No entanto, Castro *et al.* (2003) detectaram, em sua maioria, espécies isoladas de *Meloidogyne* em diferentes municípios brasileiros produtores de soja. Segundo Dias *et al.* (2010) a ocorrência generalizada de *M. javanica* no Brasil, enquanto *M. incognita* predomina em áreas cultivadas anteriormente com café ou algodão. Na RIDE, a cultura do algodão e do café não são comumente encontradas. Provavelmente, a este fato se deve à baixa porcentagem de *M. incognita* em lavouras de soja.

Populações simultâneas de *Meloidogyne* spp. e de *P. brachyurus* também foram encontradas neste levantamento, além de uma população de *M. arenaria*, *P. brachyurus* e *H. glycines* no município de Unaí (MG), além de populações mistas de *Meloidogyne*, *M. incognita* foi encontrada em mistura com *M. arenaria* nos municípios de Cabeceiras de Goiás

(Amostra 13) e Planaltina de Goiás (Amostra 22). Franzener *et al.* (2005) detectaram populações de *Meloidogyne* spp. e *H. glycines*, mas em pequena percentagem de ocorrência.

Com relação ao nível de dano estimado para *Meloidogyne* spp. em soja, Asmus (2001) relatou 150 J2/300cm³ de solo para *M. javanica*, 750 J2/300cm³ de solo para *M. incognita* e 210 J2/300cm³ de solo para *M. arenaria*. Considerando esses níveis de dano, para as 12 amostras detectadas com *Meloidogyne* na RIDE, o nível de J2/300cm³ de solo pode ser considerado elevado em apenas para 4 amostras, variando de 555 a 3180 J2/300cm³ de solo, sendo que para 8 amostras os níveis de dano foram baixos, variando de 28 a 120 J2/300 300cm³ de solo.

Estudos em biomas naturais como o realizado por Cares (1984) em áreas de Várzea e terra firme na Amazônia brasileira, relatou a ocorrência de espécies de *Meloidogyne* (*M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*). Em solo de cerrado com cobertura vegetal nativa foram relatados *M. javanica*, *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. morocciensis* e *M. hapla* (Sousa *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 2014). Provavelmente, essas espécies já ocorriam associadas à vegetação nativa do cerrado nativo antes da sua utilização para agricultura. Portanto, o cultivo de culturas econômicas tende a selecionar a(s) espécie(s) mais adaptada(s) à cultura em questão e ao ambiente.

Na RIDE, grande parte da área agrícola em sequeiro é cultivada com soja e milho no verão e em áreas irrigadas com feijão, hortaliças, milho doce, entre outras. As espécies de *Meloidogyne* mais adaptadas à soja no Brasil são *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria*. É provável que o plantio de soja nas áreas amostradas neste levantamento tenha selecionado *M. arenaria*, *M. javanica* e *M. incognita* como as espécies prevalentes nesta região para as amostras positivas para *Meloidogyne*, sendo a maioria com populações simultâneas.

Heterodera glycines

O NCS apresenta grande variabilidade genética (Santana *et al.*, 2009), tendo sido detectadas no Brasil as raças 1, 2, 3, 4, 4+, 5, 6, 9, 10, 14 e 14+ (Dias *et al.*, 2009, 2010). Campos e Silva (1997), em levantamento realizado no estado de Goiás, identificaram as raças 4, 6, 9 e 14 em Jataí, raças 3, 6 e 14 em Mineiros, raças 3 e 10 em Rio Verde e raça 14 em Perolândia e Serranópolis.

Nesse estudo, *H. glycines* foi encontrada em amostras provenientes do Distrito Federal, Goiás e Minas Gerais. Porém, a identificação de raça fisiológica ficou restrita aos municípios de Cristalina (GO), Luziânia (GO), PAD-DF, Planaltina (DF) Cabeceira Grande (MG) e Unai (MG). As amostras provenientes do município de Cabeceiras (GO) não apresentaram cistos em quantidade suficientes para a determinação de raça fisiológica presente. Assim, detectou-se apenas a raça 3 de *H. glycines* pelo teste de hospedeiros diferenciadores (Riggs & Schmitt, 1988). O presente trabalho encontrou o nematoide cisto em 14% das amostras.

O nível de dano para o nematoide de cisto da soja foi estimado por Schmitt & Barker (1981) para 500 ml de solo e classificado como moderado e alto. Segundo os autores, infestação moderada seria de 1 a 5 cistos em solo arenoso ou argilo-arenoso ou de 3 a 11 cistos em solo argiloso ou orgânico. Alta infestação ocorreria com mais de 5 cistos em solo arenoso ou argilo-arenoso ou valores superiores a 12 cistos em solo argiloso ou orgânico.

Outros nematoides fitoparasitas

A maioria das amostras de solo analisadas continha populações elevadas de *Helicotylenchus* spp. com uma variação de 18 a 3.696 nematoides/300cc de solo. Apesar desse nematoide não ser considerado de importância econômica para a cultura da soja, os níveis populacionais têm aumentado em áreas comerciais com diferentes culturas econômicas. A associação de *Helicotylenchus* sp. e *Helicotylenchus dihystra* com soja no Rio Grande do Sul já havia sido relatada por Lordello (1974) e Lehman *et al.* (1977), respectivamente. Sharma *et al.* (2001), em levantamento de nematoides fitoparasitas realizado em diferentes cultivares de

soja em Rio Branco (AC), relataram a presença de *H. dihystera* em 81% das amostras de solo e 19% das amostras de raízes. As populações detectadas variaram de 0 a 6 nematoides/g de raiz e 0 a 90 nematoides/100 g de solo e média de 11 nematoides/100g de solo. A diferença populacional encontrada no Centro-Oeste para a região norte pode chegar a mais de 1.000 nematoides/100 cc de solo. Segundo Antonio (1992), o gênero *Helicotylenchus* é comumente encontrado associado à soja. No entanto, o autor relata não haver relevância econômica do nematoide com a soja.

Detectou-se a presença de *Criconemoides* nas áreas: 3 e 11 em Formosa e Cabeceiras de Goiás respectivamente. *Rotylenchulus reniformis* (amostras 19 e 70) e *Tylenchorhynchus* spp. (amostras 29 e 30) também foram detectados. De acordo com Sikora *et al.* (2011), em levantamento realizado no Alabama-EUA na cultura da soja *R. reniformis* foi encontrado em 30% das amostras. No estado do Mato Grosso *R. reniformis* é frequentemente encontrado em algodão e soja (Silva *et al.*, 2004). A baixa frequência de ocorrência de *R. reniformis* na RIDE provavelmente se deve ao pouco cultivo de algodão. Trata-se do primeiro relato de *R. reniformis* e *Tylenchorhynchus* spp. em soja no Distrito Federal. Os demais nematoides fitoparasitas detectados neste levantamento já haviam sido relatados anteriormente em áreas de vegetação nativa do cerrado por Cares & Huang (1991) e Mattos (1999).

6 CONCLUSÕES

- ✓ Os nematoides fitoparasitas mais frequentemente associados à cultura da soja na RIDE foram *Pratylenchus Brachyurus*, *Meloidogyne arenaria*, *M. javanica*, *M. incognita* e *Heterodera glycines* raça 3;
- ✓ Os níveis de Populacionais para *Meloidogyne* spp., *H. glycines* e *P. brachyurus* variaram entre as amostras analisadas para os diferentes municípios amostrados;

- ✓ *H. glycines*, *R. reniformis* e *Tylenchorhynchus* sp. tiveram o seu primeiro relato em soja no Distrito Federal neste levantamento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, E.S.; YOSHIZAKI, G. & TAKAHASHI, A.A. 2012. Avaliação da rotulagem de alimentos da culinária japonesa. *Revista Univap* 18(31):78-86.
- ALMEIDA, A.M.R. 1992. Doenças da soja no Brasil: Epidemiologia e Controle. *In: Diálogo XXXIV – Producción de Soja*. PUIGNAU, J.P. IICA, Montevideo- Uruguai.
- ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A.; GODOY, C.V.; COSTAMILAN, L.M. & MEYER, M.C. 2005. Doenças da soja (*Glycine max*). *In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamim Filho, A. & Camargo, L.E.A. (Eds.) Manual de Fitopatologia. Vol. 2. Doenças das plantas cultivadas. 4a ed. Ceres. Piracicaba-SP. p. 569-588.*
- ALONSO, S.K. & E ALFENAS, A.C. 1998. Isoenzimas na Taxonomia e na Genética de fitonematoides. *In: Alfenas, A.C. (Ed.) Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins, fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV, 574p.*
- ALVES, G.C.S.; SILVA, F.A.N. & SANTOS, J.M. 2006. Levantamento de Fitonematoides em Áreas de Algodão com Diferentes Históricos Culturais. Curso de Agronomia da Unidade Universitária de Ipameri-UEG. 6p.
- ANTONIO, H. 1992. Fitonematoides na cultura da soja. *Informe Agropecuário* 16(172):60-65.
- ARANTES, N.E. & SOUZA P.I.M. de (Ed). 1993. Cultura da soja nos Cerrados. Piracicaba: POTAFOS, 535 p.
- ASMUS, G.L. & ANDRADE, P.J.M. 1997. Reprodução de *Meloidogyne incognita* em cultivares de milho. *Fitopatologia Brasileira* 22:324.

- ASMUS, G.L. 2001. Danos causados à cultura da soja por nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: Ferraz, L.C.C.B.; Asmus, G.L.; Carneiro, R.G.; Mazafera, P. & Silva, J.F.V. Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja. Londrina. Embrapa Soja 39-62.
- ASMUS, G.L. 2004. Ocorrência de nematoides fitoparasitos em algodoeiro no Estado de Mato Grosso do Sul. *Nematologia Brasileira* 28(1):77-86.
- ASMUS, G.L. 2008. Reação de genótipos de soja ao nematoide reniforme. *Tropical Plant Pathology* 33(1):069-071.
- ASMUS, G.L. & SCHIRMANN, M.R. 2004. Reação de cultivares de soja recomendadas no Mato Grosso do Sul ao nematoide reniforme. *Nematologia Brasileira* 28:239-240.
- AZEVEDO, L.G. de & ADÁMOLI, J. 1988. Avaliação agroecológica dos recursos naturais da região do cerrado. In: Simpósio sobre o cerrado savanas: alimento e energia 6, Brasília, DF. 1982. Embrapa Cerrados- Planaltina-DF. p.729-761.
- BAO, Y. & NEHER, D.A. 2011. Survey of lesion and northern root-knot nematodes Associated with Vegetables in Vermont. *Nematropica* 41(1):100-108.
- BEHRENS, J.H.; ROIG, S.M. & DA SILVA, M.A.A.P. 2001. Aspectos de Funcionalidade de rotulagem e de aceitação de extrato hidrossolúvel de soja fermentado e culturas lácteas probióticas. *Bol. SBCTA* 34(2):99-106.
- BLOK, V.C. & POWERS, T.O. 2009. Biochemical and Molecular identification. In: Perry, R.N., Moens, M. & Starr, J.L. (Ed.). CAB International. Root-knot Nematodes. p. 99-118.
- BOLLER, T. 1995. Chemoperception of microbial signals in plant cells. *Annual Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46:189-214.
- BRITO, J.A & FERRAZ, S. 1987. Seleção de gramíneas antagonistas a *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Brasileira* 11:260-269.

- CAFÉ FILHO A. & HUANG, C.S. 1988. Nematoides do gênero *Pratylenchus* no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 13(3):232-235.
- CÂMARA, G.M.S. 1996. A cultura da soja. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 28p.
- CAMPOS, H.D. & SILVA, M.N. 1997. Levantamento do nematoide da soja (*Heterodera glycines* Ichinoe) no estado de Goiás, safras 1995/96. *Fitopatologia Brasileira* 22:324.
- CARES, J.E. 1984. Fauna fitonematologica de várzea e terra firme nas proximidades de Manaus, AM. Dissertação de Mestrado, Brasília-DF, Universidade de Brasília.
- CARES, J.H. & HUANG, S.P. 1991. Nematode fauna in natural and cultivated cerrados of Central Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 16:199-209.
- CARLSON, J.B. & LERSTEN, N.R. 2004. Reproductive morphology. *In*: Boerma, R. & Specht, J.E. (Ed.). Soybeans: improvement, production, and uses. 3rd ed. Madison: Soil Science Society of America, p.59-95.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M.R.A. & GONÇALVES W. 2005. Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiro nos estados de São Paulo e Minas Gerais através de tipos de esterase e SCARS multiplex. *Nematologia Brasileira* 29(2):233-241.
- CARNEIRO, RMDG.; SANTOS, MFA.; ALMEIDA, M.R.A.; MOTA, F.C.; GOMES, A.C.M.M.; TIGANO, M.S. 2008. Diversity of *Meloidogyne arenaria* using morphological, cytological and molecular approaches. *Nematology* 10:819-834.
- CARRÃO-PANIZZI, M.C.; BERTAGNOLLI, P.F.; STRIEDER, M.L.; COSTAMILAN, L.M. & MOREIRA, J.U.V. 2012. Melhoramento de soja para alimentação humana na Embrapa Trigo – Safra Agrícola 2011/2012 *In*: COSTAMILAN, L.M. Soja: resultados de pesquisa 2011/2012. (Documentos / Embrapa Trigo, ISSN 1516-5582;111) Embrapa/Mapa. 1ªed. Passo Fundo-RS. p.27-31.

- CASTILLO, P. & VOVLAS, N. 2007. *Pratylenchus* (Nematoda: *Pratylenchidae*): diagnostic, biology, pathogenicity and management. Hunt, D.J. & Perry, R.N. (Eds). Nematology monographs and perspectives, vol. 6. Leiden. The Netherlands, Brill Academic Publishers, 529 pg.
- CASTRO, A.P.G. 2008. Maracujazeiros comerciais e silvestres: nematoides associados e variabilidade genética com base em marcadores moleculares e na resistência a *Meloidogyne incógnita*. [Dissertação de Mestrado] Universidade de Brasília. Departamento de Fitopatologia. Brasília-DF. 70p.
- CASTRO, J. M. C.; LIMA, R. & CARNEIRO, R. M. D. C. 2003. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. proveniente de regiões brasileiras produtoras de soja. Nematologia Brasileira 27(3):1-12.
- COBER, E.R.; CIANZION, S. R.; PANTALONE, V.R. & RAJCAN, I. 2009. Soybean. In: Oil Crops. Vollmann, J. & Rajcan, I. (eds). Springer, New York, USA. p: 57-90.
- COOLEN, W.A. & D'HERDE, C.J. 1972. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Agricultural Research Centre – GHENT, Belgium. 77p.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.1 - safra 2013/2014, n.10 - Décimo levantamento jul.2014.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.2 - Safra 2014/15 n.10 - Décimo Levantamento Julho/2015
- COOPA-DF- PROGRAMA DE ASSENTAMENTO DIRIGIDO DO DISTRITO FEDERAL. 2015. Disponível em <http://www.coopadf.com.br/o-pad-df> 03/10/2015.
- CREECH, J.E.; JOHNSON, W.G.; FAGHI, J. & FERRIS, V.R.. 2007. Survey of Indiana Producers and Crop Advisors: A Perspective on Winter Annual Weeds and Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines*). Weed Technology 21(2):532–536.

- CURTIS, R.H.C; ROBINSON, A.F. & ROLAND, N.P. 2009. Hatch and Host Location. *In*: Perry, R.N., Moens, M. & Starr, J.L. (Eds) CAB International. Root-knot Nematodes. p.139-162.
- DAWSON, M.N.; RASKOFF, K.A.; & JACOBS, DAVID, K. 1998. Field preservation of marine invertebrate tissue for DNA analyses. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 7(2): 145-152.
- DHINGRA, O.D.; MENDONÇA, H.L. & MACEDO, D.M. 2009. Doenças e seu controle. *In*: SEDIYAMA, T. (Ed.). Tecnologias de produção e usos da soja. Londrina: Mecnas, p.133-155.
- DIAS-ARIEIRA, C.R.; FERRAZ, S.; FREITAS, L.G. de & MIZOBUTSI, E.H. 2003. Avaliação de gramíneas forrageiras para o controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* (Nematoda). *Acta Scientiarum. Agronomy* 25(2):473-477.
- DIAS, W.P.; GARCIA, A.; SILVA, J.F.V.; CARNEIRO, G.S.S. 2010. Nematoides em Soja: Identificação e Controle. Circular Técnica 76. Londrina, PR, abril.
- DIAS, W.P.; SILVA, J.F.V.; CARNEIRO, G.E.S.; GARCIA, C & ARIAS, C.A.A. 2009. Nematóide de cisto da soja: Biologia e manejo pelo uso da resistência genética. *Nematologia Brasileira* 33(1):1-16.
- DIAS, W.P.; SILVA, J.F.V.; GARCIA, A. & CARNEIRO, G.E.S. 2004. Biologia e controle do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). *In*: Resultados de Pesquisa da Embrapa Soja-2003: Ecofisiologia, biologia molecular e nematoides. Embrapa Soja, Londrina, 48 p.
- DIAS, W.P.; FREITAS, V.M.; RIBEIRO, N.R.; MOITA, A.W.; HOMECHIN, M.; PARPINELLI, N.M.B. & CARNEIRO, R.M.D.G. 2010. Reação de genótipos de soja a *Meloidogyne enterolobii* e *M. ethiopica*. *Nematologia Brasileira* 34(4):220-225.

- DUNCAN, L.W. & MOENS, M. 2006. Migratory Endoparasitic Nematodes. *In*: PERRY, R.N. & MOENS, M (Ed.). Plant Nematology. UK/London-England. p.123-152.
- EISENBACK, J.D. & TRIANTAPHYLLOU, H. 1991. Root-Knot nematode: *Meloidogyne* sp. and races. *In*: Nickle, W. R. (ed). Manual of agricultural Nematology. New York, p.191-274.
- EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2004. Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2004. < <http://www.cnpso.embrapa.br/producaosoja/doenca.htm> > Consultado em : 27/07/2015
- EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2013. Tecnologias de produção de soja – Região Central do Brasil 2014. - Londrina: Embrapa Soja. 268 p.
- ESBENSHADE, P.R. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1987. Enzymatic relationships and evolution in the genus *Meloidogyne* (Nematoda: Tylenchida). *Journal of Nematology*. 19:8-18.
- ESBENSHADE, P.R. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. 1990. Isozyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22:10-15.
- EVANS, A.A.F. 1998. Reproductive mechanisms. *In*: Perry, R.N. & Wright, D.J. (Eds). The physiology and biochemistry of free –living and parasitic nematodes. Wallingford, CAB International. p. 133-154.
- FAOSTATE- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS DIVISION . 2015. <http://faostat3.fao.org/> Acesso em 03/10/2015.
- FERRARI, R.A.; OLIVEIRA, V.D. & SCABIO, A. 2005. Biodiesel de soja – Taxa de Conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. *Química Nova* 28(1):19-23.

- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A. & DIAS-ARIEIRA, C. R. 2010. Manejo Sustentável de Fitonematoides. Viçosa, MG: UFV. 306 p.
- FERRAZ, L.C.C.B. 1995. Patogenicidade de *Pratylenchus brachyurus* a três cultivares de soja. *Nematologia Brasileira* 19:1-8.
- FERRAZ, L.C.C.B. & MONTEIRO, A.R. 2011. Nematoides. *In*: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamim Filho, A. & Camargo, L.E.A. (Eds.) Manual de Fitopatologia. Vol. 1. Princípios e conceitos. 4a ed. Ceres. Piracicaba-SP. p. 277-305.
- FERRAZ, S.; VALLE, L. A. C. 1995. Utilização de plantas antagônicas no controle de fitonematoides. *In*: CONGRESSO INTERNACIONAL DE NEMATOLOGIA TROPICAL, 4. Rio Quente. Anais. Rio Quente: SBN/ONTA, p.257-276.
- FRANZENER, G.; UNFRIED, J.G.; STANGARLIN, J.R. & FURLANETTO, C. 2005. Nematoides formadores de galha e de cisto patogênicos à cultura da soja em municípios do oeste do Paraná. *Nematologia Brasileira* 29 (2):261-265.
- FREITAS, L.G.; OLIVEIRA, R.D.L. & FERRAZ, S. 2004. Introdução à Nematologia. Viçosa: Editora UFV, (Caderno didático, 58) 84p., 1. Ed., 2ªreimpressão.
- GARRIDO, W.E.; AZEVEDO, L.G. de & JARRETA JUNIOR, M. 1982. O clima da região dos cerrados em relação a agricultura. Embrapa Cerrados- Planaltina-DF. Comunicado Técnico 4. 37p.
- GIELFI, F.S.; SANTOS, J.M. & ATHAYDE, M.L.F. 2003. Reconhecimento das espécies de fitonematóides associadas ao algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) no estado de Goiás. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DO ALGODÃO, Goiânia. Campina Grande: Embrapa Algodão.
- GOMES, P. 1990. A soja. 5ª ed. Nobel. São Paulo-SP.

- HARTMAN, K.M. & SASSER. 1985. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal-pattern morphology. North Carolina State University, Raleigh, v.2, p. 69-77.
- HARTMAN, L. & ESTEVES, W. 1989. Tecnologia de Óleos e Gorduras Vegetais na indústria de Alimentos. Secretaria da Indústria, Comércio, Ciências e Tecnologia: São Paulo.
- HIRSCHMANN, H. 1985. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species, *In*: SASSER, J.N. & CARTER, C.G. (Eds). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. 1. Biology and control. Raleigh, NC, USA, North Carolina State University Graphics. p. 79-93.
- HOGAN, D. J.; CUNHA, J. M. C.; CARMO, R. L. 2002. Uso do solo e mudança de sua cobertura no centro-oeste do Brasil: conseqüências demográficas, sociais e ambientais. *In*: Hogan, D.J.; Carmo, R.L.; Cunha, J.M.P.; Baeninger, R. (org.). Migração e ambiente no centro-oeste. Campinas: NEPO/UNICAMP- PRONEX, p. 149-174.
- HOOVER, D.J. 1986. Handling, fixing, staining and mounting nematodes. *In*: SOUTHEY, J.F. (ed). Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Her Majesty's Stationery Office, London. p. 59-80.
- HUANG, C.S.; MOTA, E. & SILVA, E.F.S. 1980. Interrupção do ciclo vital de *Meloidogyne incognita* por *Crotalaria* spp. Fitopatologia Brasileira 55:402-403.
- HUANG. C.S. & CHARCHAR, J.M. 1981. Período de permanência de *Crotalaria spectabilis* no campo influenciando no controle de meloidoginose em cenoura. Fitopatologia Brasileira. 65:538-539.
- HUETTEL, R. N.; FRANCL, L. J.; REISE, R. W.; MEYER, S. L. F. & HENN, R. A. 1991. Plant-parasitic nematodes in the potato growing areas of Maine. American. Potato Journal 68:345-354.

- HYMOWITZ, T. 1970. On the domestication of the soybean. *Economic Botani*, 24:408-421.
- HYMOWITZ, T. & NEWELL, C.A. 1981. Taxonomy of the genus *Glycine*, domestication and uses of soybeans. *Economic Botany* 35(3):272-288.
- INOMOTO, M.M.; ASMUS, G.L.; SILVA, R.A.; MACHADO, A. C. Z. 2007. Nematoides: Uma ameaça á cotonicultura brasileira. São Paulo : Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. 15p.
- INOMOTO, M.M., MOTTA, L.C.C., MACHADO, A.C.Z., SAZAKI, C.S.S. 2006. Reação de dez coberturas vegetais a *Pratylenchus brachyurus*. *Nematologia Brasileira* 30(2):151-157.
- JAEHN, A.; MENDES, M.L. & SILVA, M.F.A. 1998. Nematoides fitoparasitos associados a cultura da soja *Glycine max* (L.) Merr, no Vale do Paranapanema, SP. *Nematologia Brasileira* 22(1):79-81.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter*, Saint Paul, v. 48: 692, 1964.
- KOENNING, S.R; KIRKPATRICK, T.L.; STARR, J.L.; WALKER, N.A.; WRATHER, J.A. & MUELLER, J.D. 2004. Plant-parasitic nematodes attacking cotton in the U.S.: Old and emerging problems. *Plant Disease* 88:100–113.
- KOENNING, S.R; SCHMITT, D.P. & BARKER, K.R. 1985. Influence of Planting Date on Population Dynamics and Damage Potential of *Pratylenchus brachyurus* on Soybean. *Journal of Nematology* 17(4):428-436.
- LEHMAN, P.S.; ANTÔNIO, H. & BARKER, K.R. 1977. Ocorrência de Nematóides em soja nos Estados de Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso. II Reunião de Nematologia. Soc. Brasil. Nemat. nº 2:29-32.
- LIMA, R.D.; FERRAZ, S. & SANTOS, J.M. dos. 1992. Ocorrência de *Heterodera* sp., em soja no Triângulo Mineiro. *Nematologia Brasileira*, Brasília, v. 16, n. 1/2:101-102.

- LIMA, F.S.O.; NOGUEIRA, S.R.; LIMA NETO, A.F.; CARES, J.E.; FURLANETTO, C. & DIAS, T.S. 2009. Ocorrência de *Tubixaba* sp. em lavouras comerciais de soja no estado de Tocantins. *Tropical Plant Pathology* 34 (Supl.):207.
- LORDELLO, L.G. 1974. Alguns nematóides parasitos de plantas do Rio Grande do Sul. *Revista de Agricultura* 49:15-18.
- MACHADO, A. C. Z., FERRAZ, L. C. C. B & OLIVEIRA, C. M. G. 2007. Development of a species-specific reverse primer for the molecular diagnostic of *Pratylenchus brachyurus*. *Nematropica* 37 (2):249-257.
- MAI, W. F.; CRITTENDEN, H. W. & JENKINS, W. R. 1960. Distribution of stylet-bearing nematodes in the northeastern United States. *Northeast Regional Research Publication* 795:1-62.
- MATTOS, J.K.A. 1999. Caracterização das comunidades de nematoides em oito sistemas de uso da terra nos cerrados do Brasil Central. Universidade de Brasília. Tese de Doutorado. 113p.
- MITCHUM, M.G.; WRATHER, J.A.; HEIZ, R.D., SHANNON, J.G. & DANEKAS, G. 2007. Variability in distribution and virulence phenotypes of *Heterodera glycines* in Missouri during 2005. *Plant Disease* 91:1473-1476.
- MITKOWSKI, N. A.; VAN DER BEEK, J. G. & ABAWI, G. S. 2002. Characterization of root-knot nematode populations associated with vegetables in New York State. *Plant Disease* 86:840-847.
- MOENS, M.M.; ROLAND, N.P. & STARR, J.L. 2009. A Diverse group of novel and important plant parasites. *In: Perry, R.N., Moens, M. & Starr, J.L. (eds). CAB International. Root-knot nematodes. p.1-17.*

- MONTEIRO, A. R. & LORDELLO, L. G. 1980. *Tubixaba tuxaua* N.G. N.SP., a suspected parasitic nematode of soybean roots (Aporcelaimidae). *Revista de Agricultura* 55:301-304.
- MOORE, W.F; BOST, S.C.; BREWER, F.L.; DUN RA, E.N.D.O. BY; GRAU, C.R.; HARDMAN, L.L.; JACOBSEN, B.J.; LEFFEL, R.; NEWMAN, M.A.; NYVALL, R.F.; OVERSTREET, C. & PARKS, C.L. 1984. Soybean cyst nematode. Soybean Industry Resource Committee, Washington, 23 p.
- MORGAN, E.T. & VIEIRA, S.A. 1996. A composição e a quantidade de gordura nas dietas afetam a eficiência alimentar das aves. *In: Encontro de Nutricionistas, II. 1996, Santiago, Anais. Pfizer, p.18-21.*
- NOGUEIRA, M.A.; OLIVEIRA, J.S.; FERRAZ, S. & SANTOS, M.A. 1997. The activity of *Mucuna deeringiana* and *Chenopodium ambrosioides* crudes extracts upon *Meloidogyne incognita* raça 3. *Rev. Ceres* 44 (1):124-127.
- OERKE, E.C.; DEHNE, H.W.; SCHONBECK, F. & WEBER, A. 1994. Crop Production and Crop protection: Estimated Losses in Major Food and Cash Crops. Amsterdã Agricultural Bureaux.
- POWERS, T.O. & HARRIS, T.S.. 1993. A polymerase chain rection method for identification of five major *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 25:1-6.
- PETERSEN, D.J.; ZILSTRA, C.; BLOCK, V. & VRAIN, T.C.. 1997. Species probes efficiently distinguish root-knot nematodes specie using signatures in the ribossomal intergenic spacer. *Fundamental and Applied Nematology* 20:619-626.
- RANDIG, O.; CARNEIRO, R.M.D. & CASTAGNONE-SERENO, P. 2004. Principais Espécies de *Meloidogyne* parasitas do cafeeiro no Brasil com marcadores SCAR-Café em Multiplex-PCR. *Nematologia Brasileira* 28(1):1-10

- RANDIG, O.; CARNEIRO, R.M.D. & CASTAGNONE-SERENO, P. 2002. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. *Genome* 45:862-870.
- RIBEIRO, L.M.; CAMPOS, H.D.; TESSMANN, D.J.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; NEVES, D.L. das & SILVA, C.N. da. 2013. Identification of *Pratylenchus* spp. in soybean in Central region of Brazil using the ITS-5.8S rDNA region. , 21 November, *African Journal of Agricultural Research* 8(45):5699-5702.
- RIBEIRO, N.R.; DIAS, W.P.; HOMECHIN, M.; SILVA, J.F.V.; FRANCISCO, A. 2007. Reação de alguns genótipos de soja a *Pratylenchus brachyurus*. XXVII Congresso Brasileiro de Nematologia. *Nematologia Brasileira* 37(2):157-158.
- RIGGS, R.D., D.A. SLACK & M.L. HAMBLEEN. 1968. New biotype of soybean cyst nematode. *Arkansas Farm Research* 17:11.
- RIGGS, R.D., M.L. HAMBLEEN & D.A. SLACK. 1981. Intraspecies variation in reaction to hosts in *Heterodera glycines* populations. *Journal of Nematology* 13:171-179.
- RIGGS, R.D., D.P. SCHMITT. 1988. Complete characterization of the race scheme for *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology* 20:392-395.
- ROBBINS, RT, RAKES, L. 1996. Resistance to the reniform nematode in selected soybean cultivars and germplasm lines. *Journal of Nematology* 28:612-615.
- ROBINSON, A.F.; INSERRA, R.N.; CASWELL-CHEN, E.P.; VOVLAS, N.; TROCCOLI, A. 1997. *Rotylenchulus* species: Identification, distribution, host ranges, and crop plant resistance. *Nematropica* 27:127-180.
- ROESE, A.D.; ROMANI, R.D.; FURLANETTO, C.; STARGALIN, J.R. & PORTZ, R.L.. 2001. Levantamento de doenças na cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill, em municípios da região Oeste do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum* 23(5):1293-1297.

- ROESE, A.D.; OLIVEIRA, R.D.L & LANES, F.F.de. 2004. Reação de cultivares de soja (*Glycine max* L. Merrill) a *Meloidogyne paranaensis*. *Nematologia Brasileira* 28:131–135.
- ROSA, A.M.; CLAVISO, J.; PASSOS, L.M.L. & AGUIAR, C.L. 2009. Alimentos fermentados à base de soja (*Glycine max* (Merrill) L.): importância econômica, impacto na saúde e efeitos associados às isoflavona e seus açúcares. *Revista Brasileira de Biociências* 7(44), out./dez.
- ROSA, H.; MANZANILLA-LOPES; EVANS, K. & BRIDGE, J. 2004. Plant Disease Caused by Nematodes. *In*: CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y. & DICKSON, D.W. *Nematology: advances and perspectives*. Vol.2, p. 637-716.
- ROSS, J. P. Physiological strains of *Heterodera glycines*. 1962. *Plant Disease Reporter* 46: 766-769.
- SANTANA, H.; PIRES, E.; CORMELATO, A.P.; NASU, E.G.C & FURLANETTO, C. 2009. Variabilidade genética em populações de campo do nematoide de cisto da soja provenientes dos estados do Paraná e Rio Grande do Sul. *Tropical Plant Pathology* 34(4):261-264.
- SCHMITT, D.P. & BARKER, K.R. 1981. Damage and reproductive potentials of *Pratylenchus brachyurus* and *Pratylenchus penetrans* on soybean. *Journal of Nematology* 13:327-332.
- SCHMUTZ, J.; CANNON, S. B.; SCHLUETER, J.; MA, J.; MITROS, T., NELSON, W.; HYTEN, D. L.; SONG, Q.; THELEN, J. J.; CHENG, J.; XU, D.; HELLSTEN, U.; MAY, G. D.; YU, Y.; SAKURAI, T.; UMEZAWA, T. BHATTACHARYYA, M. K.; SANDHU, D.; VALLIYODAN, B.; LINDQUIST, E.; PETO, M.; GRANT, D.; SHU, S.; GOODSTEIN, D.; BARRY, K.; FUTRELL-GRIGGS, M.; ABERNATHY, B.; DU, J.; TIAN, Z.; ZHU, L.; GILL, N.; JOSHI, T.; LIBAULT, M.; SETHURAMAN, A.;

- ZHANG, X. C.; SHINOZAKI, K.; NGUYEN, H. T.; WING, R. A.; CREGAN, P.; SPECHT, J.; GRIMWOOD, J.; ROKHSAR, D.; STACEY, G.; SHOEMAKER, R. C. & JACKSON, S. A. 2010. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature* 463: 178-83.
- SEDIYAMA, T. 2009. Tecnologias de produção e usos da soja. Londrina: Macenas. 314 p
- SHARMA, R. D.; CAVALCANTE, M. J. B. de.; VALENTIM, J. F. 2001. Nematóides associados ao capim *Brachiaria brizantha* cv. Marandu no estado do Acre, Brasil. *Nematologia Brasileira* 25(2):217-222.
- SHARMA, R.D. & AMABILE, R.F. 2004. Nematóides Associados ao Girassol em Áreas de Cerrado do Distrito Federal. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 125. Planaltina-DF. 13p.
- SIKORA, E.J.; MURPHY, J.F.; LAWRENCE, K.S. & MULLEN, J.N. 2011. Survey of fungal, Nematode and Virus Diseases of Soybean in Alabama. *Plant Management Network*. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2011-1227-01-RS. Disponível em: <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2011/soybean/> . Acesso em: 07 agos 2015
- SILVA, F.G. 2007. Levantamento de Fitonematoides nas culturas de soja e milho no município de Jataí-GO. [Dissertação de Mestrado] Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Ciências agrárias programa de pós-graduação em agronomia, Uberlândia-MG. 48p.
- SILVA, J.A.L. 1998. Identificação de raças fisiológicas de *Heterodera glycines* Ichinoé e a avaliação da resistência de genótipos de soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. 58f. (Tese de Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

- SILVA, J.F.V.; MACEDA, A.; DIAS, W.P.; SANTOS, J.M.; MARCONDES, M.C. & LIMA, C.G. 2009. Ocorrência do nematoide *Scutellonema* sp. associado a danos em lavouras de soja no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 5.; MERCOSOJA 2009, Goiânia. Anais. Londrina: Embrapa Soja, 2009. Seção trabalhos, t. 308. 1 CD-ROM. Editado por Adilson de Oliveira Júnior, Odilon Ferreira Saraiva, Clara Beatriz Hoffmann Campo, César de Castro.
- SILVA, J.G.P; FURLANETTO, C.; ALMEIDA, M.R.A.; ROCHA, D.B.; MATTOS, V.S.; CORREA, V.R.; CARNEIRO, R.M.D.G. 2014. Occurrence of *Meloidogyne* spp. in Cerrado Vegetations and Reaction of Native Plants to *Meloidogyne javanica*. Journal of Phytopathology. 162 449-455.
- SILVA, R.A.; SERRANO, M.A.S.; GOMES, A.C.; BORGES, DC; SOUZA, A.A.; ASMUS, G.L. & INOMOTO, M.M. 2004. Ocorrência de *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne incognita* na cultura do algodoeiro no Estado do Mato Grosso. Fitopatologia Brasileira 29(3):337.
- SOUZA, R.M.; DOLINSKI, C.M.;HUANG, S.P. 1994. Survey of *Meloidogyne* spp. in native cerrado of Distrito Federal, Brazil. Fitopatologia Brasileira, v. 19, n.3, p. 463-465.
- SUDECO- Superintendência do Desenvolvimento do Centro-Oeste. Disponível em:
<http://www.sudeco.gov.br/ride-df>. Acesso em: 02/10/2015
- TOWNSHEND, J.L. 1990. Method for evaluating resistance to lesion nematodes, *Pratylenchus* species. In: STARR, J.L. (ed.). Methods for evaluating plant species for resistance to plant parasitic nematodes. Hyattsville, Maryland: The Society of Nematologists. p. 33-41.
- TURNER, S.J & ROWE, J.A. 2006. Cyst nematodes. In: Perry, R.N. & Moens, M (Ed.). Plant Nematology. UK/London-England. p. 91-122.

- URBEN FILHO, G. & SOUZA, P.I.M. 1993. Manejo da cultura da soja sob cerrado: época, densidade e profundidade de semeadura. *In*: ARANTES, N.E.; SOUZA, P.I.M. Cultura da soja nos cerrados. Piracicaba: Potafós, p. 267-298.
- USDA, 2015. United States Department of Agriculture. Disponível em: <<http://apps.fas.usda.gov/psdonline/psdReport.aspx?hidReportRetrievalName=Table+1+1+Soybean+Area%2c+Yield%2c+and+Production&hidReportRetrievalID=906&hidReportRetrievalTemplateID=1>>
- VIAENE, N.M. & ABAWI, G.S. 1998. Management of *Meloidogyne hapla* on lettuce in organic soil with sudangrass as a cover crop. *Plant Disease* 82:945-952.
- WEAVER, D.B.; RODRÍGUES-CABANA, R. & CARDEN, E.L. 1993. Velvetbean in rotation with soybean for management of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Nematology*. 25(4S):809-813.
- WEI-GUO, L.; JUN-YI, G. & WEI-DONG, L. 2006. Samplig Survey and Identification of Races of Soybean Cyst Nematode (*Heterodera glycines* Ichinohe) I Huang-huai Valleys. *Agricultural Sciences in China* 5(8):615-621.
- ZIJLSTRA, C. 2000. Identification of *Meloidogyne chitwoodi*, *M. fallax* and *M. hapla* based on SCAR-PCR: a powerful way of enabling reliable identification of populations or individuals that share common traits. *European Journal of Plant Pathology* 106:283-290.
- ZIJLSTRA, C.; DONKERS-VENNNE, D.T.H.M. & FARGETTE, M. 2000. Identification of *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* and *M. arenaria* using sequence characterised amplified region (SCAR) based PCR assays. *Nematology* 2(8):847-853.

ANEXO 1

Tabela 10. Raça de *Heterodera glycines* em Cristalina-GO.

População do NCS: Cristalina- GO									
Inoculação: 3.000 ovos/planta em 07/05/14									
Avaliação: 04/06/2014									
Diferenciadoras	Repetições						Média	IF (%)	Reação
	1*	2	3	4	5	6			
Pickett	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
Peking	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 88788	0	1	3	1	0	1	1,0	1,8	Resistente
PI 90763	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
HARTWIG	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 437654	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
Lee 74	52	27	143	20	28	63	55,5	100,0	Suscetível

* N° de Fêmeas/sistema radicular.

IF(%) = (média de fêmeas na diferenciadora / média de fêmeas em Lee 74) x 100

Suscetível = IF > ou = 10%; Resistente = IF < 10%.

Ficou constatado que a população do NCS pertence à raça 3.

Tabela 11. Raça de *Heterodera glycines* em Luziânia-GO.

População do NCS: Luziânia- GO									
Inoculação: 1.500 ovos/planta em 07/05/14									
Avaliação: 04/06/2014									
Diferenciadoras	Repetições						Média	IF (%)	Reação
	1*	2	3	4	5	6			
Pickett	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
Peking	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 88788	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 90763	0	0	0	0	0	-	0,0	0,0	Resistente
HARTWIG	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 437654	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
Lee 74	30	22	34	73	39	83	46,8	100,0	Suscetível

* N° de Fêmeas/sistema radicular.

IF(%) = (média de fêmeas na diferenciadora / média de fêmeas em Lee 74) x 100

Suscetível = IF > ou = 10%; Resistente = IF < 10%.

Ficou constatado que a população do NCS pertence à raça 3.

Tabela 12. Raça de *Heterodera glycines* no PAD-DF e Planaltina-GO.

População do NCS: PAD-DF- Planaltina- GO									
Inoculação: 4.000 ovos/planta em 07/05/14									
Avaliação: 04/06/2014									
Diferenciadoras	Repetições						Média	IF (%)	Reação
	1*	2	3	4	5	6			
Pickett	2	0	0	0	0	-	0,4	0,3	Resistente
Peking	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 88788	8	0	0	1	1	1	1,8	1,4	Resistente
PI 90763	0	0	0	0	0	-	0,0	0,0	Resistente
HARTWIG	0	0	0	0	0	1	0,2	0,1	Resistente
PI 437654	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
Lee 74	36	124	173	185	192	66	129,3	100,0	Suscetível

* N° de Fêmeas/sistema radicular.

IF(%) = (média de fêmeas na diferenciadora / média de fêmeas em Lee 74) x 100

Suscetível = IF > ou = 10%; Resistente = IF < 10%.

Ficou constatado que a população do NCS pertence à raça 3.

Tabela 13. Raça de *Heterodera glycines* em Cabeceira Grande-MG e Unaí-MG.

População do NCS: Cabeceira Grande- MG									
Inoculação: 1.500 ovos/planta em 07/05/14									
Avaliação: 04/06/2014									
Diferenciadoras	Repetições						Média	IF (%)	Reação
	1*	2	3	4	5	6			
Pickett	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
Peking	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 88788	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 90763	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
HARTWIG	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
PI 437654	0	0	0	0	0	0	0,0	0,0	Resistente
Lee 74	63	34	27	20	37	17	33,0	100,0	Suscetível

* N° de Fêmeas/sistema radicular.

IF(%) = (média de fêmeas na diferenciadora / média de fêmeas em Lee 74) x 100

Suscetível = IF > ou = 10%; Resistente = IF < 10%.

Ficou constatado que a população do NCS pertence à raça 3.

ANEXO 2

Título do Resumo: Nematoides patogênicos às culturas da soja e do milho no Distrito Federal e entorno

Nematodes on soybean and corn crops in Distrito Federal and surrounding areas

Autores: Pedro Victor Verlage Alves 1, Ramón Lira Anjos 1, Nancy Elnice Niño Castañeda 1, Juvenil Enrique Cares 1, Cleber Furlanetto 1.

Instituição: 1 UNB – Universidade de Brasília (Instituto Biológico da UNB- Departamento de Fitopatologia. Laboratório Nematologia).

Áreas produtoras de soja e de milho do Distrito Federal e entorno vem sofrendo com o parasitismo de nematoides. Com o objetivo de se abreviar os danos causados por nematoides nessas culturas, um levantamento tem sido realizado visando identificar os nematoides fitoparasitas presentes nessas áreas. Os nematoides foram extraídos por peneiramento (peneiras de 42, 60 e 400 mesh) e centrifugação. De acordo com os nematoides presentes nas amostras procedeu-se a identificação com base em caracteres morfológicos e morfométricos, fenótipo de esterase e PCR. Foram encontrados os seguintes nematoides fitoparasitas: *Heterodera glycines*, *Meloidogyne* sp., *Helicotylenchus* sp., *Pratylenchus brachyurus*, *Aphelenchus* sp., *Aphelenchoides* sp., *Tylenchus* sp., *Criconemoides* sp., *Paratrichodorus* sp. e *Rotylenchus* sp.. Considerando os nematoides fitoparasitas de importância econômica, *H. glycines* foi detectado em 100% das amostras oriundas de Buritis (MG) e em 40% das amostras oriundas de Cabeceiras (GO), não tendo sido detectado nas áreas amostradas no DF, com a detecção de até 309 cistos viáveis/300 cc de solo. *P. brachyurus* foi detectado em 71% das amostras coletadas em Buritis, 20% em Cabeceiras e acima de 75% no DF. *M.javanica* foi identificado em 29% das áreas em Buritis. E *M. arenaria* em 20% das áreas em Cabeceiras.

Palavras-chaves: fitonematoides, fitopatogênicos, grãos, galha, lesões.

Agência de fomento: UNB

46º Congresso Brasileiro de Fitopatologia.

Título do Resumo: Ocorrência e distribuição de *Pratylenchus brachyurus* em soja na Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno - RIDE/DF. Alves, PVV, Oliveira, DP, Niño-Castañeda, NE, Santos, DF, Cares, JE, Furlanetto, C. Universidade de Brasília, Depto. de Fitopatologia, 70.910-900, Brasília-DF. pedrovictorverlage@hotmail.com. Occurrence and distribution of *Pratylenchus brachyurus* on soybean in the Integrated Region of the Distrito Federal and Surrounding Development – RIDE/DF.

A Região Integrada de Desenvolvimento do Distrito Federal e Entorno (RIDE) engloba 22 municípios dos estados de Goiás e Minas Gerais, além do Distrito Federal. Nessa região a soja é a principal cultura econômica e o parasitismo por nematoides um dos principais entraves ao seu desenvolvimento. Com o objetivo de se conhecer a distribuição de *Pratylenchus brachyurus* nessa região, realizou-se um levantamento com a coleta de solo e raízes de soja. A extração de *P. brachyurus* foi feita pelo método do peneiramento e centrifugação e a identificação realizada com base em caracteres morfológicos e morfométricos. *P. brachyurus* foi detectado nos municípios goianos de Abadiânia, Água Fria de Goiás, Alexânia, Águas Lindas de Goiás, Cabeceiras, Cidade Ocidental, Cocalzinho, Corumbá de Goiás, Cristalina, Formosa, Luziânia, Mimoso de Goiás, Padre Bernardo, Planaltina de Goiás e Vila Boa de Goiás. Em Minas Gerais, *P. brachyurus* foi detectado em Buritis, Cabeceira Grande e Unaí e no Distrito Federal nas Regiões Administrativas do Paranoá (PAD-DF) e Planaltina (Núcleos Rurais de Rio Preto, Tabatinga e Taquara). Detectou-se um máximo de 525 nematoides/300 cc de solo com média de 90 nematoides nas amostras analisadas. Em soja detectou-se um máximo de 71 nematoides/grama de raiz analisada com média de 11,5 nematoides.

Palavras chave: Brasil Central, Cerrado, *Glycines max*, Nematóide das lesões.

Apoio: UnB, CAPES.

47º Congresso Brasileiro de Fitopatologia