

# CONTROLE BIOLÓGICO DE *HETERODERA GLYCINES* NO BRASIL

Vicente Paulo Campos  
Universidade Federal de Lavras - Departamento de Fitopatologia  
37200-000 - Lavras, MG  
E-mail: nema@ufla.br

## INTRODUÇÃO

O nematóide *Heterodera glycines* tem preocupado os produtores de soja de todo o mundo, não só pelos danos e prejuízos que causa à sojicultura (Wrather et al., 1997), mas também pela longa sobrevivência dos ovos encistados no campo (Inagaki & Tsutsumi, 1971). Abreviar essa sobrevivência no campo constitui um dos alvos do controle biológico desse patógeno.

O cisto consiste da própria carcaça da fêmea, formada pelo endurecimento das camadas envoltórias do corpo, que protegem os ovos das condições adversas do meio ambiente.

A parede do cisto contém compostos químicos que inibem a eclosão dos juvenis do segundo estágio ( $J_2$ ). Assim, os ovos dormentes permanecem retidos dentro do cisto (Okada, 1972), permanecendo viáveis por período de até 11 anos (Inagaki & Tsutsumi, 1971). Porém, nem todos os ovos produzidos por *H. glycines* ficam retidos dentro do cisto. Cerca de um terço do total dos ovos produzidos por *H. glycines* é ovipositado em massa gelatinosa localizada na extremidade posterior da fêmea (Ishibashi et al., 1973), e o restante permanece encistado. Caracterizam-se, assim, duas fontes de inóculo de efeitos temporais marcantes na patogênese desse nematóide na soja e com exposições diferentes ao meio ambiente. A massa de ovos de *H. glycines* tem contato direto com o solo, como acontece também com os nematóides do gênero *Meloidogyne*, criando, assim, maiores oportunidades de parasitismo desses ovos pelos antagonistas do solo do que aqueles encistados. Por outro lado, a concentração dos ovos de *H. glycines* no cisto possibilita a colonização por fungos e bactérias.

Outra característica da biologia desse nematóide e que pode ser explorada num programa de pesquisa em controle biológico, é a reprodução sexuada obrigatória, através da qual o macho é atraído pela fêmea por intermédio do feromônio. O reconhecimento e a síntese desse feromônio e o uso no campo podem constituir-se em nova tática para o manejo de populações de *H. glycines*.

Outros aspectos, como a interação do nematóide com fatores ambientais físicos e com microorganismos do solo, tornam ainda mais complexo o controle biológico de *H. glycines* que, para facilitar o entendimento ou direcionar pesquisas, foram assim divididos:

### **1) Desintegração da parede do cisto**

O cisto pode ter sua parede desintegrada por microorganismos. Entretanto, a penetração de umidade e de alguns microorganismos pode ser feita pelas aberturas naturais na parte anterior, principalmente boca e trato digestivo, e pela parte posterior, cone vulvar. Ovos encistados são coloridos quando cistos são imersos por poucas horas em corantes dissolvidos em água (Campos, 1998 - não publicado).

A água que penetra nos cistos, vai diluir os compostos químicos das suas paredes, os quais inibem a eclosão de J2 (Okada, 1972), proporcionando condições para interromper a dormência e acelerar o desenvolvimento embrionário dentro do ovo, quando a temperatura é adequada. Tanto a eclosão quanto a emergência de J2 dos cistos podem, assim, constituir parâmetros medidores do processo de desintegração da parede do cisto. Solo úmido, naturalmente infestado por cistos de *H. glycines* e mantido com a umidade encontrada no momento da amostragem, teve uma redução de 14,5% no número de ovos por cisto, aos 60 dias de armazenamento, comparado com amostras da mesma porção de solo infestado, porém seca a 30°C, por 3 dias, e mantida com esse nível de umidade pelo mesmo período de tempo (Santos & Campos, 1998).

Outro fator importante nessa abordagem são os microorganismos que ocorrem nas paredes do cisto e dos ovos encistados. São muitas as espécies e gêneros fúngicos que ocorrem nas paredes dos cistos de *H. glycines* no Brasil (Tabela 1). Já foram identificados 9 gêneros e 7 espécies fúngicas. Costa et al. (1997) constataram *Fusarium solani* e *F. oxysporum* em todas as amostras analisadas. Num estudo de frequência dos fungos em 20 cistos

analisados por amostra, constatou-se que vinte e cinco a sessenta por cento dos cistos continham *Fusarium* spp., o que representou 5 a 15 vezes a frequência de cistos com outros fungos (Costa et al., 1997).

TABELA 1. Fungos associados a cistos de *Heterodera glycines* no Brasil

Gênero ou espécie fúngica	Referência
<i>Fusarium solani</i>	Campos, 1997; Silva, 1994 ; Costa et al., 1998
<i>Fusarium oxysporum</i>	Silva, 1994; Ribeiro et. al., 1997; Costa et al., 1998; Campos, 1997
<i>Gliocladium</i> sp	Silva, 1994: Silva et al., 1993 e Campos, 1997
<i>Gliocladium viride</i>	Costa et al., 1998
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Costa et al., 1998; Campos, 1997; Ribeiro et al., 1997
<i>P. variotti</i>	Costa et al., 1998
<i>Scytalidium</i> sp.	Costa et al., 1998
<i>Dactylaria</i> sp.	Costa et al., 1998
<i>Penicillium</i> sp.	Costa et al., 1998; Campos, 1997
<i>Eurotium repens</i>	Costa et al., 1998
<i>Stagonospora</i> sp.	Silva et al., 1993; Silva, 1994.
<i>Chrysosporium corii</i>	Ribeiro et al., 1997

Campos (1997) encontrou *Fusarium solani* e *F. oxysporum* em cistos de campos de soja de Minas Gerais, na proporção de 40 e 20% das amostras analisadas, respectivamente.

Desta forma, observa-se grande predominância de *Fusarium solani* e *F. oxysporum* na flora fúngica dos cistos. Silva et al. (1997) mostraram a possibilidade da separação de isolados de *F. solani* benéfico, isto é, envolvidos apenas no parasitismo do cisto de *H. glycines* daquele causador de enfermidade na planta de soja através de marcadores moleculares.

*Fusarium oxysporum*, testado em fêmeas estéreis de *H. glycines*, parasitou-as superficialmente. Entretanto, apenas 1,1% dos ovos obtidos das fêmeas parasitadas tiveram hifas emergindo deles (Costa & Campos, 1997).

Fungos isolados de cistos de *H. glycines* podem, também, parasitar outros nematóides. Costa & Campos (1997) obtiveram parasitismo superficial e interno de fêmeas e ovos de *Meloidogyne* spp, quando inoculados com *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Paecilomyces lilacinus*, *P. variotti*, *Dactylaria* sp e *Gliocladium viridi* isolados de cistos, demonstrando a inespecificidade do parasitismo desses fungos.

Apesar de os estudos sobre a presença de fungos em cistos de *H.*

*glycines* terem avançado bem no Brasil, ainda não foram enfatizadas pesquisas sobre a associação de bactérias na degradação da parede do cisto.

Pode-se supor que fungos ainda desconhecidos e flora bacteriana complexa dos solos estejam, em diversos graus de intensidade, interferindo no processo de degradação dos cistos. Assim, espera-se que, afetando esta flora do solo, tanto qualitativa quanto quantitativamente, por intermédio de rotação de cultura, retardará ou acelerará o processo de desintegração das paredes do cisto de *H. glycines*, abreviando ou não o seu período de sobrevivência no solo.

## **2) Penetração de fungos nos juvenis, fêmeas e cistos**

Já se comprovou que os cistos de *H. glycines* são infectados por diversos gêneros e espécies fúngicas (Silva et al., 1993; Campos, 1997; Ribeiro et al., 1997 e Costa et. al., 1997). Entretanto, questiona-se sobre o momento em que o processo de parasitismo ocorre nesses nematóides. São os juvenis, fêmeas ou cistos infectados inicialmente por fungos?

Poucos dias após o parasitismo das raízes da soja pelo juvenil do segundo estágio, ocorre o fendilhamento no local de alimentação. Desta forma, prematuramente, parte do corpo é exposta ao solo diferentemente dos nematóides das galhas, *Meloidogyne* spp. Para espécies de *Meloidogyne*, o engrossamento da raiz no local de alimentação e a formação de novo tecido, envolvendo a fêmea, protegem-na dos efeitos diretos do ambiente do solo.

Costa & Campos (1997) obtiveram ovos infectados por fungos inoculados no corpo da fêmea "in vitro". Portanto, parece que o corpo da fêmea de *H. glycines* não impõe obstáculos à penetração de fungos. Chen & Dickson (1996) provaram que *F. oxysporum* penetra no cisto de *H. glycines*. Por outro lado, após a morte da fêmea, os restos do útero, pseudoceloma, órgãos e glândulas internas, constituirão nutrientes para o crescimento de fungos e por que não, de bactérias. Se eles vão ou não atacar os ovos encistados, isto dependerá da natureza quitinolítica de cada um, pois a parede dos ovos tem quitina, que poderá ser destruída na presença da enzima quitinase.

## **3) Modo de ação dos microorganismos antagônicos a *H. glycines***

O parasitismo de fungos em juvenis, dentro e fora dos cistos, poderá

ocorrer por predação ou infecção. Já nos ovos, apenas os fungos quitinolíticos teriam capacidade de parasitá-los.

Estudos sobre seleção de fungos capazes de parasitar juvenis e ovos têm sido realizados no Brasil. Santos & Ferraz (1994) não constataram nenhum parasitismo de *Monacrosporium elliposporium*, *Arthrotritys robusta*, *Drechmeria coniospora*, *Harposporium* spp, *Hirsutella* spp e *Verticillium* spp, além de seis espécies de *Mastigomycotina*, em juvenis do segundo estágio de *H. glycines*. Ribeiro et. al. (1997), encontraram apenas 1,2% de predação em juvenis do segundo estágio de *H. glycines* por *Monacrosporium* spp. Apenas 4% dos ovos provenientes de cistos de *H. glycines* foram parasitados por fungos inoculados artificialmente, e aqueles provenientes de fêmeas tiveram 17,8% de parasitismo (Mizobutsi et al., 1997).

Produtos do metabolismo secundário de fungos constituem outro modo de ação antagonica de fungos em população de *H. glycines*. Filtrado oriundo do crescimento de *P. lilacinus*, em meios de cultura, reduziu significativamente a eclosão de J2 de *H. glycines* “in vitro” (Almeida et al., 1998).

Estudos com fungos isolados a partir de amostras coletadas em áreas de produção de soja, no Brasil, precisam ser ampliados, pois encontram-se na literatura relatos de fungos eficazes na redução populacional de *H. glycines*, como o Arkansas 18 (Riggs & Kim, 1990) e *Verticillium lecanii* (Meyer et al., 1997). O Arkansas 18 penetra no cisto de *H. glycines* enzimaticamente (Kim et al., 1992).

#### **4) Feromônios e substâncias análogas no manejo de *H. glycines***

O ácido vanílico foi isolado de *Heterodera glycines* e interfere no acasalamento nesta espécie (Stern et al., 1988), que se reproduz apenas sexualmente. O ácido vanílico e substâncias químicas análogas, como ácido ferrúlico, 4-hidroxi-3-metoxibenzo-nitrilo, ácido isovanílico e ácido siríngico, são eficazes na redução da densidade populacional de *H. glycines* quando aplicados no solo (Meyer & Huettel, 1996), pois o macho não reconhece o gradiente de feromônio emitido pela fêmea. Seria interessante enfatizar estudos desta natureza no Brasil.

#### **5) Parasitismo de ovos na massa gelatinosa de *H. glycines***

A massa de ovos pode ser utilizada como fonte de carbono por muitos fungos e bactérias, já que esta, em contato direto com o solo, e os ovos poderiam, assim, ser parasitados. Porém ainda não se tem informações sobre estes organismos na literatura brasileira.

### **Considerações Finais**

As altas temperaturas do solo e do ar observadas na maioria das áreas de produção de soja no Brasil, especialmente na região dos Cerrados, poderão acelerar o crescimento de vários fungos envolvidos na desintegração das paredes dos cistos ou no parasitismo de fêmeas, juvenis e ovos de *H. glycines*.

Ainda não se tem investigado o papel de bactérias do solo e da rizosfera além de seus produtos do metabolismo secundário, tanto nos cistos como na eclosão de J2 e no desenvolvimento embrionário dentro do ovo.

Uma espécie de *Pasteuria*, bactéria gram positiva, micelial, produtora de esporo da ordem Actinomycetes (Starr & Sayre, 1988), que infecta *H. glycines*, foi relatada na América do Norte (Noel & Stanger, 1994) e foi capaz de manter a população de *H. glycines* em microplots abaixo do nível de dano relatado para trabalhos de campo (Atibalentja et al., 1998). Entretanto, ainda não se tem relatos desse antagonista na literatura brasileira. Em outras espécies de nematóides, entretanto, existem vários relatos (Campos et al., 1998; Souza, et al., 1996; Souza & Campos, 1997).

Dever-se-ia dar ênfase ao efeito de sistemas de manejo da cultura da soja no controle biológico de *H. glycines*, principalmente na alteração da flora da rizosfera dessa cultura. A diversificação da flora bacteriana das culturas e o efeito antagônico dessas rizobactérias a fitonematóides é um espaço ainda por explorar nas pesquisas com o nematóide do cisto da soja (Coimbra, 1998, e Kloepper et al., 1992).

Pesquisas em controle biológico do nematóide de cisto da soja ainda estão nos seus primórdios no Brasil. Entretanto, mesmo numa análise global, muitos avanços ainda precisam ser alcançados em relação aos antagonistas de *H. glycines*, até que seja possível empregá-los de maneira econômica e eficaz em condições de campo. Entretanto, espera-se que a participação de agentes de controle biológico, na redução populacional de

*H. glycines*, já seja muito importante em algumas áreas no Brasil, uma vez que rotações curtas de um ano já possibilitam o plantio econômico de soja. Nestes locais, a redução populacional do nematóide na entressafra é acelerada. Mesmo monocultura de soja suscetível por dois anos já é observada em áreas infestadas, em Primavera do Leste-MT (Silva<sup>1</sup>, comunicação pessoal), evidenciando a importância destes organismos.

### Literatura Citada

ALMEIDA, A.R.; M.J.N. COSTA & V.P. CAMPOS, 1998. Avaliação do crescimento e esporulação de fungos antagonistas de nematóides, e efeito do filtrado desses fungos sobre a eclosão de juvenis do segundo estágio de *Heterodera glycines* e *Meloidogyne javanica*. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Nematologia, Maringá, PR. p. 58 e 59.

ATIBALENTJA, N.; G.R. NOEL, T.F. LIAO & G.Z. GERTNER, 1998. Population changes in *Heterodera glycines* and its bacterial parasite *Pasteuria* sp. in naturally infested soil. Journal of Nematology. 30(1): 81-92.

CAMPOS, V.P.; J.T. de SOUZA & R.M. de SOUZA, 1998. Controle de Nematóides por meio de bactérias. P. 285-327. In: Luz, W.C. (Ed.). Revisão Anual de Patologia de Plantas, vol. 6.

CAMPOS, V.P., 1997. Distribuição de *Heterodera glycines* na cultura da soja em Minas Gerais. Anais do XX Congresso Brasileiro de Nematologia, Gramado, RS. p. 56.

CHEN, S.Y. & D.W. DICKSON, 1996. Fungal penetration of the cyst wall of *Heterodera glycines*. Phyttopathology. 86(3): 319-327.

COIMBRA, J.L.; 1998. Rizobactérias antagonistas a *Meloidogyne javanica*, isolamento e parasitismo de fungos de fêmeas de *Meloidogyne* spp. UFLA, Lavras, 74p. Tese de Mestrado.

COSTA, S.B. & V.P. CAMPOS, 1997. Obtenção de fêmeas de *Heterodera glycines* em hidroponia e testes de patogenicidade de fungos isolados de cistos a fêmeas de *H. glycines* e de *Meloidogyne* spp. Summa Phytopathologica, 23(3/4): 239-243.

COSTA, S.B.; V.P. CAMPOS & M. MENEZES, 1997. Fungos

associados a cistos de *Heterodera glycines* no Brasil. *Nematologia Brasileira*, 21(2): 31-37.

INAGAKI, H. & M. TSUTSUMI, 1971. Survival of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines* Ichinohe (Tylenchida-Heteroderidae) under certain storage conditions. *Applied Entomology and Zoology*, 6:156-162.

ISHIBASHI, N.; E. KONDO; M. MURAOKA & T. YOKOO, 1973. Ecological significance of dormancy in plant parasitic nematodes. I. Ecological difference between eggs in gelatinous matrix and cyst of *Heterodera glycines* Ichinohe. *Applied Entomology and zoology*, 8:53-63.

KIM, D.G., R.D. RIGGS & K.S. KIM, 1992. Ultrastructure of *Heterodera glycines* parasitized by Arkansas fungus 18. *Phytopathology*. 82(4): 429-433.

KLOPPER, J.W.; R. RODRIGUEZ-KABAMA; J.A. McINROY & R.W. YOUNG, 1992. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: Identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. *Plant and Soil*. 139(1): 75-84.

MEYER, S.L.F. & R.N. HUETTEL, 1996. Application of a sex pheromone, pheromone analogs, and *Verticillium lecanii* for management of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 28:36-42.

MEYER, S.L.F.; G. JOHNSON; M. DIMOCK; J.W. FAHEY & R.N. HUETTEL, 1997. Field efficacy of *Verticillium lecanii*, sex pheromone, and pheromone analogs as potential management agents for soybean cyst nematode. *Journal of Nematology*, 29(3): 282-288.

MIZOBUTSI, E.H.; R.C.F. RIBEIRO & S. FERRAZ, 1997. Avaliação de 25 espécies de fungos no parasitismo de ovos de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines* "in vitro". *Fitopatologia Brasileira*. 22(Suplemento). 326-327.

NOEL, G.R.; & B.A. STANGER, 1994. First report of *Pasteuria* sp. attacking *Heterodera glycines* in Northe America. *Supplement to the Journal of Nematology*. 26: 612-615.

OKADA, T, 1972. Hatching inhibitory factor in the cyst contents



of the soybean cyst nematode, *Heterodera glycines* Ichinohe (Tylenchida: Heteroderidae). Applied Entomology and Zoology, 7:99-102.

RIBEIRO, R.C.F.; E.H. MIZOBUTSI; S. FERRAZ & R.W. BARRETO, 1997. Avaliação "in vitro" da capacidade predatória de *Monacrosporium* spp., detectados em solos de diferentes regiões do Brasil. Anais do XX Congresso Brasileiro de Nematologia, Gramado, RS, p. 67.

RIBEIRO, R.C.F.; S. FERRAZ; M. MENEZES & R.D. LIMA, 1997. Detecção e isolamento de fungos parasitas de ovos de *Heterodera glycines* em diferentes regiões produtoras de soja. Anais do XX Congresso Brasileiro de Nematologia, Gramado, RS, p. 69.

RIGGS, R.D. & D.G. KIM, 1990. Biological control of soybean cyst nematode. Arkansas Farm Research, may-june: 12.

SANTOS, R.F. Jr. & V.P. CAMPOS, 1998. Efeito da umidade do solo na população de cistos e ovos de *Heterodera glycines* e na população de ovos de *Meloidogyne incognita*. Anais do XXI Congresso Brasileiro de Nematologia, Maringá, PR. p. 48.

SILVA, J.F.V.; C.L. COSTA; G.S. BAIA & R.V. ABDELNOOR, 1997. Caracterização genética de isolados de *Fusarium* sp parasitas de ovos de *Heterodera glycines* e de plantas de soja. Fitopatologia Brasileira. 2 (Suplemento): 329.

SILVA, J.F.V.; 1994. Fungos associados a cistos de *Heterodera glycines*, no Brasil. Nematologia Brasileira, 18: 73-78.

SILVA, J.F.V.; S.M. PIZA & R.G. CARNEIRO, 1993. Fungos associados a cistos de *Heterodera glycines* no Brasil. Nematologia Brasileira, 17(1): 70. Resumo.

STARR, M.P. & R.M. SAYRE, 1988. *Pasteuria thornei* sp. nov. and *Pasteuria penetrans* sensu stricto emend., mycelial and endospore forming bacteria parasitic, respectively on plant-parasitic nematodes of the genera *Pratylenchus* and *Meloidogyne*. Annals de l'Institut Pasteur / Microbiologie. 139: 11-31.

STERN, S.; H. JAFFE; A. DENILO & R.N. HUETTEL, 1988. Disruption of mate finding in soybean cyst nematodes with analogs of the

nematode sex attractant. *Journal of Nematology*, 20:661 (Abstr.).

WRATHER, J.A.; T.R. ANDERSON, D.M. ARSYAD, J. GAI, L. D. PLOPER, A. PORTA-PUGLIA, H.H. RAM & J.T. YORINORI, 1997. Soybean disease loss estimates for the top 10 soybean-producing countries in 1994. *Plant Disease* 81:107-110.

SOUZA, J.T. & V.P. CAMPOS, 1997. Efeito do isolado P<sub>1</sub>-UFLA de *Pasteuria penetrans* sobre a primeira geração de *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood. *Nematologia Brasileira*, 21(2): 93-102.

SOUZA, J.T.; R.M. de SOUZA & V.P. CAMPOS, 1996. Ocorrência e flutuação populacional de *Pasteuria* spp. em Minas Gerais. *Nematologia Brasileira*, 20(2): 41-51.

1 SILVA, J.F.V. (Embrapa. Centro Nacional de Pesquisa de Soja)