



Efeito da concentração de inóculo sobre a reprodução de *Rotylenchulus reniformis* em cultivares de soja¹

*Effect of inoculum concentration about the reproduction of *Rotylenchulus reniformis* in soybean cultivars*

Paulo César Cardoso², Guilherme Lafourcade Asmus³ e Manoel Carlos Gonçalves²

¹Embrapa Agropecuária Oeste. Dourados, MS

²Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), CEP: 79825-070, Dourados, MS. E-mail: cesarcardosop@hotmail.com

³Embrapa Agropecuária Oeste (CPAO)

Recebido em: 13/02/2010

Aceito em: 09/09/2010

Resumo. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da concentração de inóculo sobre a reprodução de *Rotylenchulus reniformis* em cultivares de soja. O ensaio foi conduzido na casa de vegetação da *Embrapa Agropecuária Oeste*, em Dourados, MS, no período de novembro de 2008 a janeiro de 2009 e utilizaram-se as cultivares M-Soy 8001 e BRS 239. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições. Cada plântula de soja foi inoculada com concentrações de: 0,0; 0,25; 0,5; 1,25; 2,5 e 5 ovos e juvenis do nematoide por mL de solo. Após 60 dias da inoculação, os nematoides foram extraídos das raízes e estimados os fatores de reprodução e os números de nematoides por grama de raiz. A cultivar M-Soy 8001 obteve índices baixos de multiplicação do nematoide e confirmou ser resistente. Entretanto, a cultivar BRS 239 apresentou elevada a multiplicação do nematoide. Os resultados obtidos indicam que a reprodução de *R. reniformis* é afetada pela concentração do nematoide no inóculo. A concentração ótima para a maior multiplicação de *R. reniformis* é 3,25 e 3,75 ovos e juvenis do nematoide por mL de solo, para o genótipo BRS 239 e M-Soy 8001, respectivamente.

Palavras-chave. *Glycine max* L., inoculação, multiplicação, nematoide reniforme.

Abstract. The objective of this study was to evaluate the effect of inoculums concentration on the reproduction of *Rotylenchulus reniformis* in soybean cultivars. The experiment was conducted in the greenhouse of *Embrapa Agropecuária Oeste*, in Dourados, state of Mato Grosso do Sul, Brasil, in the period between november 2008 and january 2009 and the cultivars used were M-Soy 8001 and BRS 239. The treatments were arranged in a completely randomized design and replicated six times. Each soybean seedling was inoculated with concentrations of: 0.0; 0.25; 0.5; 1.25; 2.5 and 5.0 eggs and juveniles of nematodes per mL of soil. 60 days after inoculations, the nematodes were extracted from the roots and the reproduction factors and the number of nematodes per gram of roots were estimated. The soybean cultivar M-Soy 8001 showed low multiplication index of nematodes and confirmed to be *R. reniformis* resistant. However, cultivar BRS 239 showed a high multiplication index of nematode. The results indicate that the reproduction of *R. reniformis* in soybean cultivars is affected by concentration of nematodes in the inoculum. The best concentration of *R. reniformis* was 3.25 and 3.75 eggs and juveniles of nematode per mL of soil, for the genotype BRS 239 and M-Soy 8001, respectively.

Key-words. *Glycine max* L., inoculation, multiplication, reniform nematode.

Introdução

O nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940) é um importante fitoparasito de diversas plantas cultivadas, sendo encontrado, principalmente, em regiões tropicais e subtropicais e tem sido relatado em mais de 38 países (Heald & Thames, 1982).

No sul dos Estados Unidos, o nematoide tem sido considerado um dos maiores problemas em soja sendo o uso de cultivares resistentes o método mais efetivo de controle (Ha et al., 2007). No Brasil, além da soja, o nematoide reniforme foi relatado parasitando diversas culturas como tomateiro, citros, maracujazeiro, abacaxizeiro,



algodoeiro, entre outras (Lordello, 1981), pois se trata de nematoide polífago, podendo causar sérios danos econômicos às atividades agrícolas (Robinson et al., 1997).

Especificamente na cultura da soja, foram relatadas perdas de até 32% e sua ocorrência frequente tem se constituído em motivo de preocupação, especialmente no MS (Asmus et al., 2003; Asmus, 2005) onde, desde a safra 2001/02, o nematoide, até então considerado de interesse secundário, tem-se destacado como um dos mais importantes problemas fitossanitários.

Os sintomas em plantas de soja em áreas infestadas com o nematoide reniforme caracterizam-se por grande desuniformidade no porte, podendo facilmente ser confundidos com problemas nutricionais ou de compactação do solo. As associações da ocorrência desse nematoide com áreas de solos com boa fertilidade e textura argilosa podem contribuir para que os mesmos sejam menosprezados, devido ausência de sintomas aparentes nas raízes da soja (Asmus, 2005).

Dentre as estratégias de controle do nematoide reniforme, o uso de cultivares resistentes ou tolerantes tem-se mostrado promissor (Asmus, 2008). Trabalhos de avaliação de germoplasma de soja quanto à resistência ao *R. reniformis*, exigem que se conheça a concentração de inóculo que permita a melhor multiplicação do nematoide em padrões de suscetibilidade e discriminação de genótipos resistentes e suscetíveis.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a concentração de inóculo sobre a reprodução de *R. reniformis* em cultivares de soja.

Material e Métodos

No período entre novembro de 2008 e janeiro de 2009 foi instalado o experimento em casa de vegetação, na *Embrapa Agropecuária Oeste*, Município de Dourados, Estado de Mato Grosso do Sul, latitude: 22° 16' 30'' S, longitude: 54° 49' 00'' W e 408 m de altitude.

Foram semeadas três sementes de soja em cada vaso de polietileno, com capacidade para 180 mL, contendo a mistura 1:1 (v/v) de solo e areia lavada, previamente desinfestada com brometo de metila na dose de 150 mL m⁻³. Utilizou-se as cultivares de soja M-Soy 8001 e BRS 239, consideradas resistente e suscetível ao nematoide reniforme, respectivamente (Cardoso et

al., 2009). Seis dias após a semeadura, efetuou-se o desbaste, deixando uma plântula por vaso e, no estágio VC (10 dias após a semeadura), cada plântula foi inoculada com 5 mL de uma suspensão aquosa contendo zero, 500, 1000, 2500, 5000 e 10000 ovos e juvenis de uma população de *R. reniformis* obtida de raízes de maracujazeiro cultivados em vasos na *Embrapa Agropecuária Oeste*, em Dourados, MS. O inóculo, dividido em duas porções de 2,5 mL, foi depositado em dois orifícios distantes 1 cm do colo da plântula de soja e a 3 cm de profundidade. Para obtenção do inóculo, as raízes de maracujazeiro foram trituradas em liquidificador, separadas em peneiras de 200 e 500 mesh e a suspensão resultante clarificada por centrifugação (Collen & D'Herde, 1972). A utilização dos vasos de 180 mL teve a finalidade de garantir a eficiência da inoculação e o parasitismo, para permitir que a suspensão aquosa com os nematoides se concentrasse próximos às plântulas de soja.

Duas semanas após a inoculação dos nematoides, as plantas foram transplantadas para vasos de plástico com capacidade para 2000 mL. Para isso, todo o bloco de substrato de cada vaso de 180 mL contendo uma plântula de soja foi transferido para os vasos maiores, contendo o mesmo tipo de substrato.

A concentração do inóculo de 0,0; 0,25; 0,5; 1,25; 2,5 e 5 foi baseada na quantidade de ovos e juvenis inoculados e calculada para o volume de 2000 mL de substrato, ou seja, quantidade de nematoides (ovos e juvenis) por mililitro de substrato.

A extração dos nematoides ocorreu 60 dias após a inoculação, sendo determinado o peso fresco das raízes e quantificados o número de nematoides por raiz de soja, utilizando microscópio óptico. Os dados obtidos foram utilizados para estimar o fator de reprodução (FR = população final/população inicial) e o número de nematoide por grama de raiz (NGR). Fatores de reprodução menores que 1,0 caracterizam genótipo resistente de acordo com Seinhorst (1965) e Oostenbrink (1966).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com seis repetições. Cada parcela foi constituída por um vaso contendo uma planta de soja. Para a análise estatística (análise de variância e análise de regressão) foi utilizado o aplicativo computacional SAS (SAS Institute, 2001) e os

dados foram transformados em $\log x + 1$.

Resultados e Discussão

Foi observada diferença entre os dois genótipos de soja avaliados quanto a reação ao nematoide reniforme. A cultivar M-Soy 8001, com valores médios de 0,119 e 27,464 nas variáveis fator de reprodução (FR) e nematoides por grama de raiz (NGR), respectivamente, confirmou ser resistente ao *R. reniformis* por apresentar $FR < 1,00$, diferindo estatisticamente da cultivar BRS 239. Esta última, apresentou valores médios de 2,352 e 1230,560, para as mesmas variáveis, sendo, desta forma, classificada como suscetível a esse nematoide. A cultivar M-Soy 8001 é a única cultivar resistente a *R. reniformis*, indicada para o Estado de MS (Embrapa, 2008). Em um experimento onde foi avaliada a reação de genótipos de soja ao nematoide reniforme, algumas cultivares, indicadas principalmente para o Estado de Mato Grosso e uma linhagem promissora de soja foram consideradas estatisticamente semelhantes à cultivar Custer que foi o padrão de resistência ao nematoide reniforme (Asmus, 2008).

Por meio da análise de regressão, observou-se que o efeito da concentração do inóculo sobre a reprodução de *R. reniformis*, expressa no número de nematoides por grama de raiz, ajustou-se ao

modelo raiz quadrada para a cultivar BRS 239 e quadrático para a cultivar M-Soy 8001 (Figuras 1 e 2). Baseado nesses ajustes, a população inicial (concentração de inóculo) onde há maior reprodução do nematoide nas cultivares suscetível e resistente foi de 3,25 e 3,75 ovos + juvenis do nematoide por mL de solo, respectivamente. Até que seja atingida a multiplicação máxima do nematoide, a tendência de aumento da multiplicação com o aumento da concentração do inóculo provavelmente esteja relacionada com a maior taxa de parasitismo oportunizada pela maior quantidade de indivíduos capazes de infectar e desenvolver os sítios de alimentação disponíveis no hospedeiro. Entretanto, com o aumento na concentração dos nematoides no inóculo é possível que se estabeleça competição entre os nematoides pelo mesmo hospedeiro, culminando em redução do parasitismo e, conseqüentemente, redução na taxa de reprodução e multiplicação dos nematoides reniformes. A competição é um dos fatores que afetam a dinâmica da população, corroborando com McSorley (1998) que inclui, além da densidade do nematoide, a suscetibilidade do hospedeiro e fatores ambientais, especialmente a temperatura, como fatores mais importantes que afetam a interação natural nematoide-nematoide.

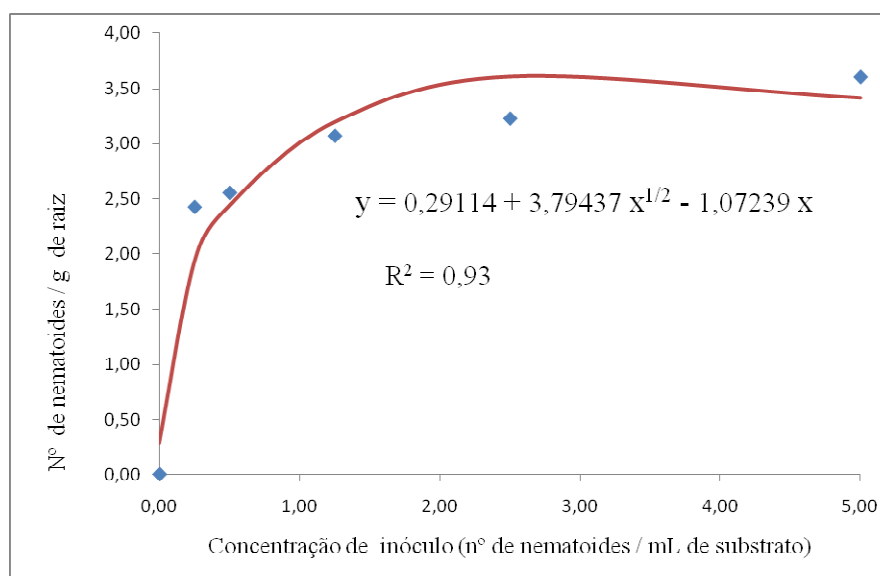


Figura 1. Relação entre a concentração de inóculo (número de nematoides por mL de substrato) e a reprodução de *R. reniformis*, expressa em número de nematoides por grama de raiz (NGR), na cultivar de soja BRS 239. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS, 2009.

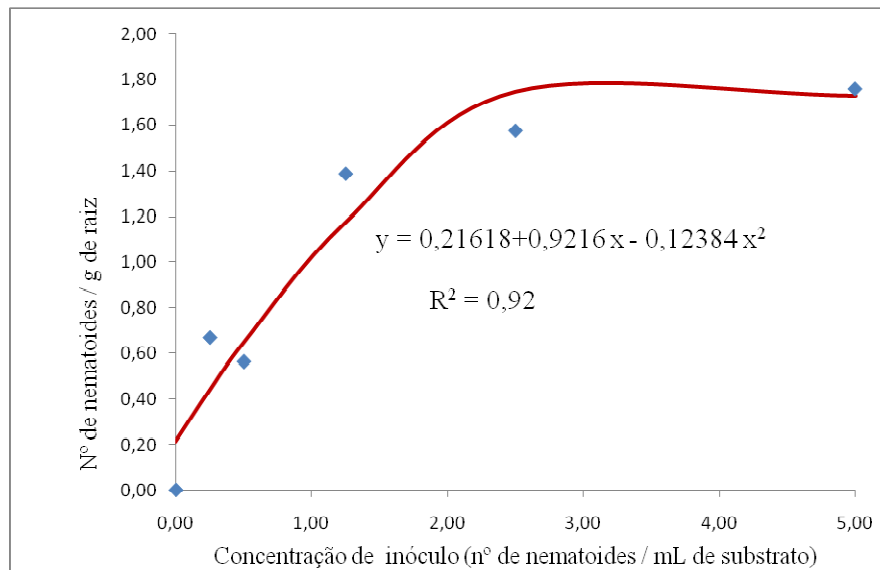


Figura 2. Relação entre a concentração de inóculo (número de nematoides por mL de substrato) e a reprodução de *R. reniformis*, expressa em número de nematoides por grama de raiz (NGR), na cultivar de soja M-Soy 8001. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS, 2009.

É reconhecido que a densidade depende da competição entre os nematoides e que, em geral, a competição tende a ser mais severa entre espécies com hábitos similares de alimentação (Eisenback, 1985; Diez et al., 2003).

As concentrações de inóculos de 3,25 e 3,75 equivalem a 1300 e 1500 ovos + juvenis em 400 mL de substrato, respectivamente, valores entre 30 e 50% superiores às utilizadas em trabalhos de reação da soja ao *R. reniformis* anteriores (Asmus, 2008; Cardoso et al., 2009) que utilizaram a concentração de inóculo de 2,5 nematoides por mL de substrato, ou seja, cerca de 1000 ovos + juvenis do nematoide reniforme em 400 mL de substrato contendo uma plântula de soja.

Conclusões

A reprodução de *R. reniformis* em cultivares de soja é afetada pela concentração do nematoide no inóculo.

A concentração ótima para a maior multiplicação de *R. reniformis* é 3,25 e 3,75 ovos + juvenis do nematoide por mL de substrato, para o genótipo suscetível e resistente, respectivamente.

Agradecimentos

Ao técnico de Laboratório Alex Sandro Vicentin Lima pelo apoio concedido nas diversas fases do trabalho e à CAPES/FUNDECT pela concessão de bolsa de estudos ao primeiro autor

(Chamada Nº 6/2006).

Referências

ASMUS, G.L. Evolução da ocorrência de *Rotylenchulus reniformis* em Mato Grosso do Sul, durante o quinquênio 2001/2005. In: Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil, 27, 2005, Cornélio Procópio. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2005. p.221-222. (Embrapa Soja. Documentos, 257).

ASMUS, G.L. Reação de genótipos de soja ao nematoide reniforme. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v.33, p.69-71, jan./fev.2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1982-56762008000100012&script=sci_arttext>. Acesso em: 4 maio 2009.

ASMUS, G.L.; RODRIGUES, E.; ISENBERG, K. Danos em soja e algodão associados ao nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) em Mato Grosso do Sul. In: Congresso Brasileiro de Nematologia, 24, 2003, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Sociedade Brasileira de Nematologia: Embrapa Semi-Árido, 2003. p.169.

CARDOSO, P.C.; ASMUS, G.L.; HEINZ, R.; MELO, C.L.P. Reação de cultivares e linhagens promissoras de soja ao nematoide reniforme. In: Congresso Brasileiro De Melhoramento De Plantas, 5, 2009, Guarapari. **Anais...** Vitória:



Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2009. CD. (SBMP, Documentos, 011).

DIEZ, A.; LAWRENCE, G.W.; LAWRENCE, K. S. Competition of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* on Cotton Following Separate and Concomitant Inoculations. **Journal of Nematology**. v.35, n.4, p.422-429. 2003. The Society of Nematologists 2003.

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

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Cultivares indicadas de soja. In: TECNOLOGIAS de produção de soja – Região Central do Brasil 2009 e 2010. (Embrapa Soja. Sistemas de produção, 13). Londrina: Embrapa Soja, 2008. p.91.

EISENBACK, J.D. Interactions among concomitant populations of nematodes. In: SASSER, J.N.; CARTER, C.C.(ed) **An advanced treatise on *Meloidogyne***. North Carolina State Univ. Graphics, Raleigh. v.1, p.193-213, 1985.

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

HEALD, C.M.; THAMES, W.H. The reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis*. In: RIGGS, R.D. **Nematology in the Southern Region of the United States**, (Southern Cooperative Series. Bulletin, 276). Fayetteville: Arkansas Experiment Station, 1982. p. 139-143.

LORDELLO, L.G.E. **Nematoides das plantas cultivadas**. 6. ed. rev. e ampl. São Paulo: Nobel, 1981. 314p.

MCSORLEY, R. Population dynamics. In: BARKER, K.R.; PEDERSON, G.A.; WINDHAM, G.L. (ed) **Plant and nematode interactions**. Madison: American Society of Agronomy, v.36, p.109-133, 1998.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematode and plants.

Mededelingen Landbouwhogeschool, Wageningen, v.66, n.4, p.1-46, 1966.

ROBINSON, A.F.; INSERRA, R.N.; CASWELL-CHEN, E.P.; VOVLAS, N.; TROCCOLI, A. *Rotylenchulus* species: identification, distribution, host ranges, and crop plant resistance. **Nematropica**, Auburn, v. 27, p. 127-180, 1997.

SAS INSTITUTE. **The SAS system release 8.2 (TS2M0) for windows**. Cary, 2001. 131p.

SEINHORST, J.W. The relation between nematode density and damage to plants. **Nematologica**, v.11, p.137-154, 1965.