

REPRODUÇÃO DE FITONEMATÓIDES EM CULTIVARES DE CANOLA

Luiz Carlos C. Barbosa Ferraz¹
Carlos Eduardo Rossi¹

INTRODUÇÃO

A canola [*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk.], também chamada colza, “winter rapeseed” ou “oilseed rape”, é uma crucífera forrageira, usada como cultura de inverno, relativamente comum na Europa e em especial na região Sul dos Estados Unidos (FRIBOURG *et al.*, 1989). No Brasil, o cultivo concentrou-se primeiro na região do Norte do Paraná e, a partir de 1994, expandiu-se a outros Estados, principalmente para o Rio Grande do Sul. O termo *canola* tem sido usado para designar os cultivares de cujas sementes se obtém óleo com baixos teores de ácido erúcido, indicado para o consumo humano (APPELQVIST & OHLSON, 1972).

A literatura sobre interações entre nematóides e canola é reduzida. Há trabalhos desenvolvidos principalmente na Europa, com espécies de *Heterodera* (EVANS, 1984; CAUBEL & CHAUBET, 1985; EVANS & SPAULL, 1986; HARRIS & EVANS, 1988) ou de *Pratylenchus* (SCOTTO LA MASSÈSE, 1981a,b). Nos Estados Unidos da América, há estudo relativo ao gênero *Meloidogyne* (MOJTAHEDI *et al.*, 1991) e outro mais amplo, incluindo espécies de *Heterodera*, *Helicotylenchus*, *Meloidogyne* e *Pratylenchus* (BERNARD & MONTGOMERY-DEE, 1993). No Brasil, são conhecidos apenas relatos referentes às taxas de reprodução de *Meloidogyne incognita* em cultivares de colza. em casa de

1 . Dep. de Zoologia/ESALQ/USP, 13418-900, Piracicaba, SP. Bolsistas do CNPq.

vegetação, no Paraná (CARNEIRO & CARNEIRO, 1982; SILVA & CARNEIRO, 1992). Apesar de poucos, tais estudos mostraram a capacidade de espécies filiadas a diferentes gêneros de parasitar e reproduzir-se nas raízes de vários cultivares, possivelmente causando danos.

Dada a falta de subsídios sobre o assunto, objetivou-se avaliar as taxas reprodutivas de cinco importantes espécies de fitonematóides ocorrentes no Brasil em dois cultivares de canola, em casa de vegetação.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliaram-se as taxas de reprodução de *Heterodera glycines* Ichinohe raça 3, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood raça 2, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & S. Stekhoven e *P. zae* Graham nos cultivares Hyola 401 e Icyola 41.

Plântulas dos dois cultivares, formadas a partir de sementes pré-germinadas e apresentando radícula com 2,0 a 2,5 cm de comprimento, foram transplantadas, individualmente, para copos plásticos de 535mL de volume, com 500 cm³ de substrato (2 partes de solo: 1 parte de esterco bovino), devidamente peneirado e esterilizado por brometo de metila (150 mL/m³). A partir daí, as plantas receberam os tratamentos convencionais à cultura, com exceção da irrigação, controlada basicamente à razão de duas regas por dia. O equipamento de resfriamento da casa de vegetação foi ajustado de modo a não permitir que a temperatura máxima ultrapassasse 30°C.

As populações de *Meloidogyne* utilizadas como inóculos foram obtidas de raízes infectadas de tomateiro Rutgers, extraído-se os ovos pelo método de HUSSEY & BARKER (1973), modificado por BONETTI & FERRAZ (1981). No caso de *H. glycines*, os ovos foram obtidos por trituração dos cistos/fêmeas extraídos de raízes infectadas de soja FT-Cristalina pelo método de RIGGS & SCHMITT (1991). Com as espécies

de *Pratylenchus*, empregaram-se exemplares obtidos por multiplicação, em condições assépticas, sobre calos de alfafa Crioula, segundo RIEDEL *et al.* (1973). A calibração dos inóculos foi feita com lâmina de contagem de Peters. As suspensões foram mantidas em câmara tipo BOD ajustada para 15°C até duas horas antes da inoculação.

As inoculações foram feitas com pipetadores automáticos sete dias após o transplante, liberando-se, para cada combinação nematóide-cultivar, volumes pré-estabelecidos da suspensão à região da rizosfera de oito plântulas. Os níveis de inóculo empregados, por planta, foram os seguintes: 5000 ovos de *M. incognita* raça 2 ou *M. javanica*; 1000 juvenis de segundo estágio de *H. glycines* raça 3; e 650 espécimes de *P. brachyurus* ou *P. zaei*. O inóculo foi aplicado em três orifícios abertos ao redor do caule de cada planta, de 2 cm de profundidade aproximadamente. Plantas consideradas testemunhas ou padrões suscetíveis (tomate Rutgers para *Meloidogyne* spp., soja FT-Cristalina para *H. glycines* e milho AG-437 para *Pratylenchus* spp.) também foram inoculadas, para confirmação da viabilidade dos inóculos e confronto com os dados de reprodução dos parasitos determinados nas raízes da canola.

Coletou-se uma planta no dia subsequente à inoculação (24 horas) e outra no 5º dia após (120 horas), visando à comprovação em laboratório da penetração do parasito nas raízes. Para tanto, recorreu-se à técnica de coloração de BYRD *et al.* (1983).

As repetições restantes de cada combinação foram submetidas às avaliações finais depois de 35-40 dias das inoculações. Para *H. glycines*, determinaram-se os números de fêmeas maduras nas raízes dos cultivares de canola e da testemunha, calculando-se os índices de parasitismo segundo GOLDEN *et al.* (1970). Para *Meloidogyne* spp., determinaram-se os índices de galhas e de massas de ovos (TAYLOR & SASSER, 1978) e os fatores de reprodução (OOSTENBRINK, 1966). Para *Pratylenchus* spp., determinaram-se os fatores de reprodução, caracterizando-se as reações dos cultivares segundo os critérios de OOSTENBRINK (1966) e COATES (1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As duas espécies de *Meloidogyne* mostraram-se capazes de reproduzir-se e multiplicar-se nas raízes dos dois cultivares (Tabela 1). Determinaram-se valores médios de fator de reprodução próximos nas diferentes combinações *nematóide/cultivar* estabelecidas.

Os índices de galhas médios foram superiores a 4,0, o que evidencia claramente a reação hiperplástica dos tecidos radiculares parasitados. No entanto, cabe destacar que as galhas formadas não eram muito conspícuas, embora discerníveis a olho nu sem grande dificuldade. Apareciam predominantemente individualizadas, sem tendência à formação de aglomerados, pelo menos no nível de inóculo empregado (5000 ovos/planta).

Os índices de massas de ovos médios também foram altos, quase sempre ao redor de 4,0, o que confirma a indicação oferecida, em termos de reação sintomatológica, pelos índices de galhas. Muitas vezes, o índice de massas de ovos pode revelar-se problemático como critério de avaliação, pelo fato de considerar apenas as massas de ovos formadas externamente às raízes, as únicas marcadas pelo corante durante a aplicação da técnica. No caso dos cultivares de canola testados, como as galhas foram pequenas, no geral com o dobro do diâmetro normal da raiz, ao que tudo indica predominou amplamente a formação de massas de ovos externas, o que concorreu a uma eficiência maior do índice.

Os fatores de reprodução médios obtidos variaram de 1,47 (*M. incognita* raça 2 em 'Iciola-41') a 1,84 (*M. javanica* em 'Iciola-41'). Os dois cultivares foram tidos como hospedeiros das duas espécies de *Meloidogyne*, segundo o critério de OOSTENBRINK (1966), mas as taxas reprodutivas foram bem inferiores às determinadas para *M. javanica* (FR = 17,65) e *M. incognita* raça 2 (FR = 19,05) na testemunha favorável, o tomateiro Rutgers.

Os resultados aqui relatados mostraram-se concordantes com os de BERNARD & MONTGOMERY-DEE (1993) no que se refere a *M. incognita*, embora os cultivares utilizados não fossem os mesmos e a raça

Tabela 1. Índices de galhas (IG), índices de massas de ovos (IMO) e fatores de reprodução (FR) de *Meloidogyne incognita* raça 2 e *M. javanica* em dois cultivares de canola.

Cultivar	<i>M. incognita</i> raça 2			<i>M. javanica</i>		
	IG ¹	IMO ¹	FR ²	IG	IMO	FR
ICYOLA 41	4	4	1,51	5	4	2,51
	4	4	1,38	4	4	1,14
	4	4	0,98	5	4	2,98
	5	4	1,67	5	4	1,42
	4	4	0,74	5	4	1,58
	5	5	2,54	5	5	1,40
(Médias)	4,3	4,2	1,47	4,8	4,2	1,84
HYOLA 401	5	5	2,85	5	4	1,71
	4	4	1,31	5	4	2,15
	4	4	0,82	5	4	1,82
	4	4	1,18	5	4	1,42
	5	4	1,29	4	4	0,96
	5	4	1,51	5	4	0,91
(Médias)	4,5	4,2	1,49	4,8	4,0	1,50
Tomate Rutgers	5,0	5,0	19,05	5,0	5,0	17,65

1. Segundo TAYLOR & SASSER (1978).

2. Segundo OOSTENBRINK (1966).

do parasito não tivesse sido identificada no artigo citado. Houve concordância também em relação aos dados do trabalho de SILVA & CARNEIRO (1992) referentes à capacidade reprodutiva de *M. incognita* raças 1, 2 e 4, mas não especificamente em canola e sim em colza. O intenso

parasitismo radicular por *M. incognita* observado nesses dois estudos mencionados, bem como por essa espécie e por *M. javanica* no presente trabalho, associado a fatores de reprodução numericamente maiores que 1,0 mas que podem ser considerados relativamente baixos, está, ao que tudo indica, ligado ao fato de a canola ser cultura de inverno, estação com temperaturas mais amenas, e tanto *M. incognita* como *M. javanica* serem espécies mais adaptadas a clima tropical, de temperaturas mais elevadas. Isso é corroborado pelos dados de MOJTAHEDI *et al.* (1991) e BERNARD & MONTGOMERY-DEE (1993), que, trabalhando com cultivares de canola, obtiveram, para *M. hapla*, espécie melhor adaptada a clima temperado e temperaturas mais baixas, valores maiores de fator de reprodução (4,4 a 11,4).

Se os valores de fator de reprodução ora obtidos não foram numericamente elevados, evidenciaram a capacidade de os nematóides de galhas em estudo sobreviverem em seus sistemas radiculares e até aumentarem seus níveis populacionais na área em duas a três vezes. Tal verificação implica restrição ao emprego prático da canola como cultivo de inverno, visando ao controle de *Meloidogyne* spp. em áreas infestadas, especialmente nos Estados da região Sul e no Sudoeste paulista. Também se alerta para o fato de que plantios sucessivos de canola em solos infestados por *M. incognita* raça 2 e/ou *M. javanica* poderão resultar, após certo período, em níveis populacionais dos parasitos suficientemente altos para causar possíveis danos diretos às plantas e perdas na produção.

Com *P. brachyurus* e *P. zaeae*, observaram-se fatores de reprodução sempre inferiores a 1,0 (**Tabela 2**) e, no caso de *P. zaeae*, predominantemente nulos; de outra parte, na testemunha favorável, os fatores de reprodução obtidos foram numericamente maiores que 20,0, o que confirma a viabilidade dos inóculos. Ambos os cultivares de canola foram classificados como maus hospedeiros segundo OOSTENBRINK (1966) e como não-hospedeiros pelo critério de COATES (1976), mais rigoroso. No caso de *P. brachyurus*, espécie conhecida pelo largo círculo de hospedeiros, embora os valores determinados de FR fossem muito baixos, ficou bem caracterizada a invasão dos tecidos radiculares pelos espécimes, encon-

Tabela 2. Fatores de reprodução (FR) de *Pratylenchus brachyurus* e *P. zae* em cultivares de canola e respectivas classes de reação.

Cultivar	<i>P. brachyurus</i>			<i>P. zae</i>		
	FR	CRO ¹	CRC ²	FR	CRC	CRO
ICYOLA 41	0,21	MH	NH	0,01	MH	NH
	0,03	MH	NH	0,00	MH	NH
	0,05	MH	NH	0,01	MH	NH
	0,03	MH	NH	0,01	MH	NH
	0,13	MH	NH	0,00	MH	NH
	0,19	MH	NH	0,03	MH	NH
(Médias)	0,11	--	--	0,01	--	--
HYOLA 401	0,07	MH	NH	0,00	MH	NH
	0,06	MH	NH	0,00	MH	NH
	0,15	MH	NH	0,00	MH	NH
	0,09	MH	NH	0,02	MH	NH
	0,11	MH	NH	0,01	MH	NH
	0,06	MH	NH	0,00	MH	NH
(Médias)	0,09	--	--	0,005	--	--
Milho AG-437	38,50	H	EH	47,20	H	EH

1. Classe de reação segundo OOSTENBRINK (1966): FR < 1,0 má ou não hospedeira {MH}; FR = 1,0 hospedeira (H).

2. Classe de reação segundo COATES (1976): FR = 1,0 não-hospedeira {NH}; FR = 1,1 a 4,0 má hospedeira {MH}; FR = 4,1 a 10,0 hospedeira moderadamente boa {MbH}; FR = 10,1 a 20,0 hospedeira boa {BH}; e FR > 20,0 excelente hospedeira {EH}.

trando-se parte da população ainda no interior das raízes. Aparentemente, as condições para sobrevivência e reprodução da espécie foram precárias e muitos exemplares devem ter migrado de retorno ao solo após certo período de permanência nos sistemas radiculares. *Pratylenchus zae*, menos polífaga e mais freqüente em poáceas (gramíneas), praticamente não foi observada parasitando as raízes de canola, não obstante eventuais espécimes tenham sido verificados nas raízes examinadas durante as avaliações.

Na literatura consultada, não se encontraram dados a respeito da capacidade reprodutiva de *P. brachyurus* e *P. zae* em canola. No entanto, a reprodução parece ser dependente da espécie de *Pratylenchus* e do cultivar de canola considerado, pois *P. convallariae*, *P. crenatus*, *P. thornei* e *P. vulnus* também mostraram fatores de reprodução muito baixos (< 1,0) no cultivar Crésor, enquanto *P. fallax* e *P. penetrans* multiplicaram-se relativamente bem (SCOTTO LA MASSÉSE, 1981b).

Em relação a de cisto da soja, *H. glycines* raça 3, não se conseguiu obter nenhuma fêmea madura das raízes dos dois cultivares. A aplicação da técnica de coloração na planta coletada no 5º dia após as inoculações possibilitou a verificação de esporádicos espécimes juvenis de conformação vermiforme penetrados no tecido cortical, em ambos os cultivares. Estes resultados foram concordantes com os obtidos por BERNARD & MONTGOMERY-DEE (1993) para a espécie, embora tais autores deixassem de identificar a raça por eles utilizada. No presente estudo, não se objetivou a quantificação dos exemplares juvenis encontrados no interior dos sistemas radiculares, mas os números totais, muito baixos, aproximaram-se bastante dos apresentados por BERNARD & MONTGOMERY-DEE para os cultivares Lindora e Viking, ou seja, inferiores a vinte.

Os cultivares Hyola 401 e Iciola 41 revelaram-se, portanto, hospedeiros muito desfavoráveis a *Pratylenchus zae* e *H. glycines* raça 3, bem como a *P. brachyurus*, podendo representar importante opção de cultivo em áreas sabidamente infestadas por tais espécies, desde que não haja outras limitações edafo-climáticas locais à cultura da canola.

RESUMO

Avaliou-se a capacidade reprodutiva de cinco espécies de nematóides fitoparasitos nos cultivares de canola Hyola 401 e Icyola 41, em casa de vegetação. Plântulas recém-transplantadas para copos plásticos com 500 cm³ de substrato esterilizado foram inoculadas individualmente com: 5000 ovos de *Meloidogyne incognita* raça 2 ou *M. javanica*; 1000 juvenis de *Heterodera glycines* raça 3; e 650 espécimes de *Pratylenchus brachyurus* ou *P. zaei*. Principalmente com base nos fatores de reprodução determinados, verificou-se que os cultivares foram hospedeiros dos nematóides de galhas, e não-hospedeiros ou maus hospedeiros do nematóide de cisto da soja e das espécies de *Pratylenchus*.

Palavras-chave: Canola, reação hospedeira, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus zaei*, *Heterodera glycines*.

SUMMARY

REPRODUCTION OF PLANT-PARASITIC NEMATODES ON WINTER RAPESEED (*BRASSICA NAPUS* SSP. *OLEIFERA*) CULTIVARS IN BRAZIL

The reproductive rates of five phytonematode species on two winter rapeseed cultivars (Hyola 401 and Icyola 41) were evaluated under greenhouse conditions. One-week old plants growing individually in 500 cm³ polyethylene cups filled with a 2:1 sterilized mixture of soil and cattle manure were inoculated with: 5,000 *Meloidogyne incognita* race-2 or *M. javanica* eggs; 1,000 *Heterodera glycines* race-3 second-stage juveniles; and 650 *Pratylenchus brachyurus* or *P. zaei* specimens. The reproduction factor determined or index values indicate that both cultivars were suitable

hosts for the root-knot nematodes, but poor hosts or non-hosts for the soybean cyst nematode and for the *Pratylenchus* species.

Key words: Rapeseed, host reaction, *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus zaeae*, *Heterodera glycines*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APPELQVIST, L.A., R. OHLSON, 1972. **Rapeseed**. Elsevier, Amsterdam.
- BERNARD, E.C., M.E. MONTGOMERY-DEE, 1993. Reproduction of Plant Parasitic Nematodes on Rapeseed. **J. Nematol.**, **25**: 863-868.
- BONETI, J.I.S., S. FERRAZ, 1981. Modificações do Método de Hussey & Barker para a Extração de Ovos de *Meloidogyne exigua* em Raízes de Cafeeiro. **Fitopatol. Brasileira**, **6**: 533.
- BYRD, D.W., T. KIRKPATRICK, K.R. BARKER, 1983. An Improved Technique for Clearing and Staining Plant Tissues for Detection of Nematodes. **J. Nematol.**, **15**: 142-143.
- CARNEIRO, R.G., R.M.D.G. CARNEIRO, 1982. Seleção Preliminar de Plantas do Gênero *Brassica* em Áreas Infestadas por *Meloidogyne incognita*. **Publ. Soc. Bras. Nematol.**, **6**: 113-116.
- CAUBEL, G., B. CHAUBET, 1985. Eclosion et Multiplication de *Heterodera schachtii* Schmidt en Présence de Colza ou Radis Fourragers. **Agronomie**, **5**: 463-466.
- COATES, P.L., 1976. Studies of the Development, Biology and Host-Parasite Relationships of *Tylenchorhynchus agri* Ferris. PhD Thesis, Urbana-Champaign, University of Illinois, 223p.
- EVANS, K., 1984. The Cyst Nematode Problems on Oilseed Rape. **In** : **Aspects of Applied Biology Volume 6**. NVRs, Wellesbourne, Warwick: AAB, pp. 275-279.
- EVANS, K. & A.M. SPAULL, 1986. A Comparison of Autumn and Spring

- Applications of Oxamyl to Winter Oilseed Rape cv. Bienvenu Infected by Brassica Cyst Nematode. **Annals Appl. Biology (Sup.)**, **106**: 14-15.
- FRIBOURG, H.A., C.R. GRAVES, G.N. RHODES, J.F. BRADLEY, E.C. BERNARD, G.M. LESSMAN, M.A. MUELLER, R.B. GRAVES, M.L. THORNTON, B.A. LATKA, A.M. PLUOY, 1989. Rapeseed: a Potential New Crop for Tennessee. Univ. Tennessee Agric. Exp. Sta., Knoxville, Bull. # 669.
- GOLDEN, A.M., J.M. EPPS, R.D. RIGGS, L.A. DUCLOS, J.A. FOX, R.L. BERNARD, 1970. Terminology and Identity of Intraspecific Forms of the Soybean Cyst Nematode, *Heterodera glycines*. **Plant Disease**, **54** (7): 544-546.
- HARRIS, P.G.W., K. EVANS, 1988. Field Investigation of the Responses to Nematicide Treatment of Three Winter Oilseed Rape Cultivars Infested by *Heterodera cruciferae*. **Crop Protection**, **7**: 137-142.
- HUSSEY, R.S., K.R. BARKER, 1973. A Comparison of Methods of Collecting Inocula of *Meloidogyne* spp. Including a New Technique. **Plant Dis. Rep.**, **57**: 1025-1028.
- MOJTAHEDI, H., G.S. SANTO, A.N. HANG, J.H. WILSON, 1991. Suppression of Root-Knot Nematode Populations With Selected Rape-Seed Cultivars as Green Manure. **J. Nematol.**, **23**: 170-174.
- OOSTENBRINCK, M., 1966. Major Characteristics of the Relation Between Nematodes and Plants. **Med. Landb. Wageningen**, **66-4**: 3-45.
- RIEDEL, R.M., M.M.A. LIMA, M. MARTIN, 1973. Establishment of Nematode Germplasm Banks. In: EVANS, W.; SHARP N.L.; AMIRATO, J. & YAMADA, K. (eds) **Handbook of plant cell culture**, MacMillan, New York, pp. 880-903.
- RIGGS, R.D., D.P. SCHMITT, 1991. Optimization of the *Heterodera glycines* Race Test Procedure. **J. Nematology**, **23**(2):149-154.
- SCOTTO LA MASSESE, C., J.C. MINOT, R. VOISIN, 1981a. Nematodes Phytophages Associés à la Culture du Colza en France. C.R. de 6^{ème} Journées de Phytîatrie et Phytopharmacie CircumMediterranéennes, Perpignan, France, p. 109-115.

- SCOTTO LA MASSESE, C., J. CAYROL, J.C. MINOT, R. VOISIN, 1981b. Multiplication de Six Espèces de *Pratylenchus* sur Colza var. Cresor et sur soja var. Hogson. C.R. de 6^{ème} Journées de Phytîatrie et Phytopharmacie CircumMediterranéennes, Perpignan, France, p. 116-120.
- SILVA, J.F.V., R.G. CARNEIRO, 1992. Reação de Adubos Verdes de Verão e Inverno às Raças 1, 2 e 4 de *Meloidogyne incognita*. **Nematol. Brasileira**, 16: 11-18.
- TAYLOR, A.L., J.N. SASSER, 1978. **Biology, Identification and Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* species)**. Coop. Publ. NCSU and USAID, Raleigh, 111p.