

ESTUDO DO PARASITISMO DO NEMATÓIDE RENIFORME (*Rotylenchulus reniformis*) EM OITO GENÓTIPOS DE CAFEIROS¹

Roberto Kazuhiro Kubo²; Anderson Teiji Fuzita³; Claudio Marcelo Gonçalves de Oliveira⁴

¹ Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – CBP&D/Café.

² Pesquisador Científico, Dr., Instituto Biológico, Campinas, SP, kubo@biologico.sp.gov.br

³ Engenheiro Agrônomo, Instituto Biológico, Campinas, SP

⁴ Pesquisador Científico, Dr., Instituto Biológico, Campinas, SP, marcelo@biologico.sp.gov.br

RESUMO: Os experimentos foram realizados com o objetivo de verificar a hospedabilidade de *Rotylenchulus reniformis*, bem como a sua patogenicidade em diferentes genótipos de cafeeiros. Foram realizados oito experimentos conduzidos concomitantemente, utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado. Cada experimento foi constituído por um genótipo de cafeeiro e duas densidades populacionais iniciais do nematóide reniforme (PI= 0 e 500 nematóides por planta). Foram utilizados os genótipos Catuaí Vermelho IAC 144, Tupi IAC1669-20, Obatã IAC 1669-20, Ouro Amarelo IAC 4397, Ouro Bronze, Mundo Novo IAC 515, Bourbon Amarelo IAC 127 e Icatu Amarelo IAC 2944. A inoculação dos cafeeiros foi realizada 200 dias após o transplante no estágio de “orelha de onça” pela pipetagem de 500 nematóides por planta. Aos 300 dias da inoculação foram avaliadas a altura das plantas, o peso da matéria seca da parte aérea e peso da matéria fresca do sistema radicular. A população final do nematóide (Pf) foi estimada pela contagem dos nematóides extraídos das raízes e do solo.. Os cafeeiros Catuaí Vermelho IAC 144, Tupi IAC1669-20, Obatã IAC 1669-20, Ouro Amarelo IAC 4397, Ouro Bronze, Mundo Novo IAC 515, Bourbon Amarelo IAC 127 e Icatu Amarelo IAC 2944 não se comportaram como bons hospedeiros da população de *Rotylenchulus reniformis*, proveniente de Pinheiros, ES. Além disso, esse nematóide não causou danos às raízes e ao desenvolvimento das plantas estudadas.

Palavras-chave: Hospedabilidade, *Rotylenchulus reniformis*, genótipos, cafeeiros.

STUDY OF RENIFORM NEMATODE (*Rotylenchulus reniformis*) PARASITISM ON EIGHT COFFEE GENOTYPES

ABSTRACT: The experiments were carried with the objective to verify the host reaction of eight coffee genotypes to *Rotylenchulus reniformis*, as well as its pathogenicity on these different genotypes. Eight experiments were carried concomitantly, using completely randomized design. Each experiment was comprised by a coffee genotype and two initial population densities of reniform nematode (Pi= 0 and 500 nematodes per plant). The genotypes Catuaí Vermelho IAC 144, Tupi IAC1669-20, Obatã IAC 1669-20, Ouro Amarelo IAC 4397, Ouro Bronze, Mundo Novo IAC 515, Bourbon Amarelo IAC 127 and Icatu Amarelo IAC 2944 were used. The inoculation of coffee plants was carried 200 days after seedling transplanting by the inoculation of 500 nematodes per plant. After 300 days of inoculation, the plant height, root fresh weight and the shoot dry weight were evaluated. Also, the nematode final population (Pf) was estimated by counting nematodes extracted from roots and substrate. The coffee plants Catuaí Vermelho IAC 144, Tupi IAC1669-20, Obatã IAC 1669-20, Ouro Amarelo IAC 4397, Ouro Bronze, Mundo Novo IAC 515, Bourbon Amarelo IAC 127 and Icatu Amarelo IAC 2944 were poor hosts to *Rotylenchulus reniformis* population from Pinheiros, ES. Moreover, this nematode did not cause damages to the roots and to the development of the studied plants.

Key words: Hospedability, *Rotylenchulus reniformis*, genotypes, coffee plants.

INTRODUÇÃO

Os nematóides fitoparasitos são limitantes ao cultivo do cafeeiro, principalmente em solos arenosos, com baixa fertilidade e deficiência hídrica. Inúmeros fitonematóides estão associados à cultura do café, com destaque para as espécies dos nematóides das galhas (*Meloidogyne* sp.) e das lesões radiculares (*Pratylenchus* sp.), ambas com vários estudos sobre a sua importância e patogenicidade. Porém, outras espécies são encontradas associadas às plantações de café, sem que saibamos a sua real importância e patogenicidade à referida cultura. Um dos exemplos é o nematóide reniforme *Rotylenchulus reniformis*, comumente encontrado em cafezais. Muitos trabalhos relataram a suscetibilidade de cafeeiros a esse fitoparasito, como o trabalho de Ayala (1962) em Porto Rico em cafeeiro arábico; de D'Souza (1965) e D'Souza & Sreenivasan (1965) na Índia e Valdez (1968) parasitando *Coffea arabica*, *C. canephora* e *C. excelsa*. No Brasil, os primeiros registros de *R. reniformis* parasitando café foram feitos por Curi (1973) em *Coffea arabica* cv. Mundo Novo em testes em casa de vegetação e por Lordello (1980) em mudas em um viveiro localizado em Jaú no Estado de São Paulo. Posteriormente, Santos & Silva (1989) relataram que mudas de cafeeiros coletadas em Umuarama, PR, mostraram-se infestadas por *R. reniformis*.

A distribuição geográfica dos nematóides associados aos cafeeiros no Estado de São Paulo, bem como a patogenicidade de *P. coffeae* e *P. brachyurus* em cafeeiros foram estudados no subprojeto financiado pelo Consórcio

Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – CBP&D/Café. Entre várias espécies e gêneros de nematóides identificados nas 236 amostras coletadas em várias regiões cafeeiras do Estado de São Paulo, o nematóide reniforme ocorreu principalmente no solo da rizosfera dos cafeeiros, com frequência de 8,1%, e população média de 442 nematóides por 250 ml. Nas raízes esse nematóide foi encontrado com frequência e populações baixíssimas; 0,4 % e um nematóide/10 g de raízes (Kubo, 2002). Sharma & Sher (1973) detectaram *R. reniformis* em 14 % das amostras de cafezais do estado da Bahia e Ferraz (1982), em somente duas localidades do estado de Minas Gerais. No entanto, nenhum desses trabalhos esclarece se a ocorrência do nematóide foi no solo ou nas raízes.

Embora Vovlas & Lambeti (1990) tenham demonstrado alterações histológicas causadas por *R. reniforme* em raízes de cafeeiro arábico, Schenck & Schmitt (1992) e Kubo (2002) concluíram que os cafeeiros são pobres hospedeiros desse nematóide, sendo encontrado frequentemente no solo de plantações de café e que o nematóide reniforme provavelmente se multiplica nas plantas invasoras e outras espécies vegetais comumente encontradas em plantações de café.

Tendo em vista à grande controvérsia existente nos diferentes relatos publicados na literatura, o presente trabalho teve como objetivo elucidar a hospedabilidade de diferentes cafeeiros à *R. reniformis* e a sua influência no desenvolvimento de diferentes genótipos de cafeeiros.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os genótipos de cafeeiros foram cedidos pelo Instituto Agrônomo, Centro de Café, em Campinas, SP. As mudas foram transplantadas no dia 18/10/2007 no estágio orelha de onça em copos plásticos de 700 ml, contendo solo esterilizado em autoclave. Foram utilizados os seguintes genótipos: Catuaí Vermelho IAC 144, Tupi IAC1669-20, Obatã IAC 1669-20, Ouro Amarelo IAC 4397, Ouro Bronze, Mundo Novo IAC 515, Bourbon Amarelo IAC 127 e Icatu Amarelo IAC 2944.

*Obtenção do inóculo de *Rotylenchulus reniformis**: Foi utilizada uma população de *R. reniformis* obtida a partir de amostras de solo do município de Pinheiros, ES, cedida pela ESALQ/USP, Setor de Nematologia, que vem sendo mantida em casa de vegetação do Instituto Biológico, Campinas, SP, em plantas de algodoeiro cv. Fibermax 966 e mamona. Os espécimes de *R. reniformis* utilizados como inóculo no experimento foram obtidos de raízes de mamona e algodão pelo método de Coolen & D'Herde (1972). Na suspensão obtida, o número de exemplares por mililitro foi estimado sob microscópio de luz e com auxílio de lâmina de Peters.

A inoculação dos cafeeiros foi realizada 200 dias após o transplante no estágio de “orelha de onça”. Pela pipetagem de uma suspensão aquosa, juvenis e ovos de *Rotylenchulus reniformis* foram colocados em dois orifícios feitos no solo, próximos de cada planta. Em cada orifício foi colocado 1 ml de suspensão contendo 250 nematóides, totalizando 500 nematóides por planta.

Foram conduzidos concomitantemente 8 experimentos utilizando-se delineamento inteiramente casualizado. Cada experimento foi constituído de um genótipo de café e dois níveis de inóculo (0 e 500 nematóides por planta) com 4 repetições. Para verificação da viabilidade do inóculo, foram inoculadas plantas de mamona e algodão Fibermax 966, na dosagem de 500 nematóides por recipiente.

Aos 300 dias da inoculação, a altura das plantas foi mensurada. A seguir, as plantas foram seccionadas na altura do colo, e colocadas em estufa de secagem para obtenção do peso da matéria seca da parte aérea. As plantas foram retiradas dos recipientes, e as suas raízes lavadas em água corrente, retirando-se o excesso de umidade com papel toalha, para obtenção do peso da matéria fresca do sistema radicular.

A população final do nematóide (Pf) foi estimada em quatro repetições de cada tratamento, pela contagem dos nematóides extraídos das raízes e do solo contido nos vasos, pelos métodos de Coolen & D'Herde (1972) e Jenkins (1964), respectivamente, e o crescimento populacional foi calculado dividindo-se a somatória dos nematóides extraídos do solo e das raízes em cada parcela (Pi) pela população inicial inoculada (Pi).

Os dados da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea e peso da massa fresca do sistema radicular foram analisados sem transformação usando o programa SANEST (Departamento de Matemática e Estatística, ESALQ/USP, Piracicaba, SP). As médias do tratamento foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos no presente experimento, analisados estatisticamente, demonstram claramente a inexistência de diferença entre as plantas inoculadas e não inoculadas com *R. reniformis* com relação aos diferentes parâmetros de crescimento como altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA) e peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) nos diferentes genótipos de cafeeiros (Tabelas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8). Esses resultados são discordantes dos trabalhos de Ayala (1962), D'Souza (1965) e D'Souza & Sreenivasan (1965), que relataram danos provocados por esse nematóide no desenvolvimento das plantas de cafeeiro. No entanto, D'Souza (1965) relatou que a patogenicidade desse nematóide em condições microbiologicamente estéreis não foi realizada. Segundo o autor, havia dúvidas se o nematóide era capaz de causar danos por si só ou estaria induzindo condições de provocar doença em associação com outros microorganismos presentes no solo.

No presente estudo, independente do genótipo avaliado, não foram encontradas fêmeas de *R. reniformis*, indicando que os ovos encontrados nas parcelas experimentais provavelmente não eram do nematóide reniforme.

Somente alguns juvenis foram encontrados no solo em algumas parcelas dos genótipos Catuaí Vermelho, Ouro Amarelo, Ouro Bronze e Bourbon, mas deve-se enfatizar que nenhum nematóide reniforme foi encontrado nas raízes de todos os genótipos testados. Os resultados indicam que além não ocorrer a multiplicação de *R. reniformis*, esses nematóides também não são capazes de se manterem adequadamente às custas exclusivamente dos genótipos de cafeeiros. Os dados dos experimentos discordam com os de Macedo (1974) que observou em casa de vegetação uma limitada reprodução de *R. reniformis* em cafeeiros cvs. Mundo Novo e Catuaí e a não se reproduziram em cafeeiro robusta cv. Guarini. Embora relatado por Ayala (1962) como um importante patógeno do café em Porto Rico, de forma semelhante o cafeeiro não havia se comportado como um bom hospedeiro frente a uma população do nematóide reniforme, com baixas populações no solo e na raiz. Além disso, apesar desse nematóide tenha sido referido como danoso na Índia (D'Souza, 1965), não foram encontradas fêmeas adultas nas raízes de cafeeiro arábico (D'Souza & Sreenivasan, 1965), de forma similar aos resultados dos 8 experimentos realizados no presente estudo.

O longo período (300 dias após à inoculação) provavelmente contribuiu para a diminuição drástica da população inicial dos nematóides. Embora no presente estudo tenham sido encontradas populações extremamente baixas no solo, somente em algumas parcelas, esses resultados são concordantes com aqueles obtidos por Schenck & Schmitt (1992) e Kubo (2002), que aventaram a hipótese que os espécimes de nematóides encontradas no solo, em alguns casos em populações relativamente altas, eram provenientes das plantas invasoras ou outras plantas intercalares presentes na lavoura do café. No presente experimento as parcelas experimentais foram mantidas exclusivamente com cafeeiros.

Em experimento em Porto Rico, Ayala (1962) inoculou 10000 fêmeas imaturas, juvenis e machos de *Rotylenchulus* sp. por planta de *Coffea arabica* L. Após 4 meses, obteve baixo número de fêmeas nas raízes, mas um número semelhante ao que foi inoculada no solo. Esses resultados diferem daqueles encontrados no presente experimento, no qual não foram encontradas fêmeas e uma baixíssima população no solo, após cerca de 10 meses da inoculação (Tabela 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8). O longo período decorrido da inoculação à avaliação pode ter sido um dos fatores, que contribuíram para a diminuição da população dos nematóides. Porém, provavelmente a população dessa espécie de nematóide não é capaz de completar o ciclo somente às custas de raízes de cafeeiro. De forma semelhante, Curi (1973) realizou testes em casa de vegetação que mostraram a suscetibilidade de *C. arabica* cv. Mundo Novo ao nematóide reniforme.

Os resultados obtidos nos experimentos comprovam que os genótipos Catuaí Vermelho IAC 144, Tupi IAC1669-20, Obatã IAC 1669-20, Ouro Amarelo IAC 4397, Ouro Bronze, Mundo Novo IAC 515, Bourbon Amarelo IAC 127 e Icatu Amarelo IAC 2944 não são hospedeiros favoráveis de *R. reniformis*, pelo menos a essa população de Pinheiros, ES.

CONCLUSÕES

Os cafeeiros Catuaí Vermelho IAC 144, Tupi IAC1669-20, Obatã IAC 1669-20, Ouro Amarelo IAC 4397, Ouro Bronze, Mundo Novo IAC 515, Bourbon Amarelo IAC 127 e Icatu Amarelo IAC 2944 não se comportaram como hospedeiros da população de *Rotylenchulus reniformis*, proveniente de Pinheiros, ES. Além disso, esse nematóide não causou danos às raízes e ao desenvolvimento das plantas estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYALA, A. Pathogenicity of the reniform nematode on various hosts. *Journal of Agriculture of University of Puerto Rico*, v.46, p.73-82, 1962.
- COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent, Belgian. State of Nematology and Entomology research Station, 1972.
- CURI, S.M. Novas observações sobre alguns nematóides do cafeeiro. *O Biológico*, v.39, n.8, p.206-207, 1973.
- D'SOUZA, G.I. Problems in coffee nematology in South India. *Indian coffee*, v.29, n.7, p.22-23, 1965.
- D'SOUZA, G.; SREENIVASEN, C.S. A note on the reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* L. and O. (*Pratylenchinae*: nematode) on Arabica coffee in South India. *Indian coffee*, v.29, n.5, p.11-13, 1965.
- FERRAZ, S. Principais fitonematóides presentes nos cafezais do estado de Minas Gerais. *Fitopatol. Bras.*, v.7, p.567, 1982.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis. Rep.*, v.48, p.692, 1964.
- KUBO, R.K. Ocorrência de *Pratylenchus* spp. em cafezais do Estado de São Paulo e efeito de *Pratylenchus coffeae* no crescimento e fotossíntese de *Coffea arabica*. Botucatu, 2002. 101p. Tese (Doutorado em Agronomia/Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrômicas, Universidade Estadual Paulista.
- LORDELLO, L.G.E. Estado atual do nematóide reniforme como parasita do cafeeiro. *Rev. Agric.*, v.55, p.62, 1980.
- MACEDO, M.C.M. Suscetibilidade de cafeeiros ao nematóide reniforme. *Solo*, v.66, p.15-16, 1974.
- SANTOS, B.B.; SILVA, L.A.T. Ocorrência de *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940 em mudas de cafeeiro no Estado do Paraná. *Revista da Agricultura*, v.59, n.1, p.27-28, 1989.
- SCHENCK, S., SCHMITT, D.P. Survey of nematodes on coffee in Hawaii. *Journal of Nematology*, v.24, p.771-775, 1992.

SHARMA, R.D., SHER, S.A. Nematodos associated with coffee in Bahia, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, v.40, p.131-5, 1973.
VALDEZ, R.B. Stubby roots of coffee seedlings caused by *Rotylenchulus reniformis*. *Philipp. Agric.*, v.51, p.672-9, 1968.

VOVLAS, N.; LAMBERTI, F. Histological alterations induced by *Rotylenchulus reniformis* on *Coffea arabica* roots. *Nematologia Mediterrânea*, Bari, v.18, p.77-81, 1990.

Tabela 01: Valores médios da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) e fator de reprodução (Pf/Pi) no genótipo Catuaí Vermelho IAC 144, 300 dias após a inoculação de *Rotylenchulus reniformis*.

Número de nematóides/ planta	Altura (cm)	PMSPA (g)	PMFSR (g)	PF/Pi
Testemunha sem nematóide	38,8 a	25,96 a	98,54 a	0
500 nematóides/planta	42,1 a	27,48 a	103,74 a	0,007

Valores médios de 8 repetições¹ e 4 repetições². Letras diferentes entre os tratamentos indica diferença estatística pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 02: Valores médios da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) e fator de reprodução (Pf/Pi) no genótipo Obatã, 300 dias após a inoculação de *Rotylenchulus reniformis*.

Número de nematóides/ planta	Altura (cm)	PMSPA (g)	PMFSR (g)	PF/Pi
Testemunha sem nematóide	44,0 a	28,25 a	93,24 a	0
500 nematóides/planta	44,4 a	27,38 a	92,18 a	0

Valores médios de 8 repetições¹ e 4 repetições². Letras diferentes entre os tratamentos indica diferença estatística pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 03: Valores médios da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) e fator de reprodução (Pf/Pi) no genótipo Ouro Amarelo, 300 dias após a inoculação de *Rotylenchulus reniformis*.

Número de nematóides/ planta	Altura (cm)	PMSPA (g)	PMFSR (g)	PF/Pi
Testemunha sem nematóide	40,9 a	22,61 a	71,1 a	0
500 nematóides/planta	41,5 a	22,84 a	90,8 a	0,028

Valores médios de 8 repetições¹ e 4 repetições². Letras diferentes entre os tratamentos indica diferença estatística pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 04: Valores médios da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) e fator de reprodução (Pf/Pi) no genótipo Ouro Bronze, 300 dias após a inoculação de *Rotylenchulus reniformis*.

Número de nematóides/ planta	Altura (cm)	PMSPA (g)	PMFSR (g)	PF/Pi
Testemunha sem nematóide	35,0 a	18,95 a	68,7 a	0
500 nematóides/planta	34,4 a	19,87 a	83,73 a	0,006

Valores médios de 8 repetições¹ e 4 repetições². Letras diferentes entre os tratamentos indica diferença estatística pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 05: Valores médios da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) e fator de reprodução (Pf/Pi) no genótipo Bourbon, 300 dias após a inoculação de *Rotylenchulus reniformis*.

Número de nematóides/ planta	Altura (cm)	PMSPA (g)	PMFSR (g)	PF/Pi
Testemunha sem nematóide	61,2 a	27,99 a	68,09 a	0
500 nematóides/planta	60,9 a	29,78 a	76,87 a	0,0075

Valores médios de 8 repetições¹ e 4 repetições². Letras diferentes entre os tratamentos indica diferença estatística pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 06: Valores médios da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) e fator de reprodução (Pf/Pi) no genótipo Icatu, 300 dias após a inoculação de *Rotylenchulus reniformis*.

Número de nematóides/ planta	Altura (cm)	PMSPA (g)	PMFSR (g)	PF/Pi
Testemunha sem nematóide	52,2 a	28,29 a	53,36 a	0
500 nematóides/planta	53,2 a	30,55 a	67,97 a	0

Valores médios de 8 repetições¹ e 4 repetições². Letras diferentes entre os tratamentos indica diferença estatística pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Tabela 07: Valores médios da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) e fator de reprodução (Pf/Pi) no genótipo Mundo Novo, 300 dias após a inoculação de *Rotylenchulus reniformis*.

Número de nematóides/ planta	Altura (cm)	PMSPA (g)	PMFSR (g)	PF/Pi
Testemunha sem nematóide	56,0 a	26,84 a	69,26 a	0
500 nematóides/planta	58,5 a	31,33 a	76,73 a	0

Valores médios de 8 repetições¹ e 4 repetições². Letras diferentes entre os tratamentos indica diferença estatística pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Tabela 08: Valores médios da altura das plantas, peso da massa seca da parte aérea (PMSPA), peso da matéria fresca do sistema radicular (PMFSR) e fator de reprodução (Pf/Pi) no genótipo Tupi, 300 dias após a inoculação de *Rotylenchulus reniformis*.

Número de nematóides/ planta	Altura (cm)	PMSPA (g)	PMFSR (g)	PF/Pi
Testemunha sem nematóide	34,0 a	24,36 a	63,81 a	0
500 nematóides/planta	33,8 a	25,99 a	88,19 a	0

Valores médios de 8 repetições¹ e 4 repetições². Letras diferentes entre os tratamentos indica diferença estatística pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).