

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE PORTA-ENXERTOS DE CAFÉ À POPULAÇÃO K₅ DE *Pratylenchus coffeae*¹

Rosana Bessi² & Mário Massayuki Inomoto³

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

²Pós-doutoranda, bolsista do CBP&D/Café, Setor de Zoologia, Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo (ESALQ-USP), Piracicaba-SP, rosbessi@yahoo.com.br

³Docente, Setor de Zoologia, ESALQ-USP, Piracicaba-SP, mminomot@esalq.usp.br

RESUMO: A população K₅ de *Pratylenchus coffeae* é extremamente virulenta a *Coffea arabica*. Como uma das opções para seu manejo pode ser o uso de porta-enxertos (*C. canephora*) resistentes, avaliou-se a penetração e a reprodução do nematóide em cultivares de *C. canephora*. A população K₅ de *P. coffeae* foi obtida de raízes de cafeeiro coletadas no município de Marília-SP. Foram testadas as seguintes cultivares: *C. canephora* ‘IAC 4810’, ‘IAC 4765’ e ‘IAC Apoatã’, além de *C. arabica* ‘Mundo Novo’, utilizada como controle positivo. O substrato foi infestado por 200 adultos + juvenis de *P. coffeae* e as raízes de plântulas dos diferentes genótipos foram avaliadas no primeiro, segundo, quarto, oitavo, 12^o e 16^o dias após a inoculação. Aos 90 e 180 dias após a inoculação, nematóides foram extraídos das raízes e do substrato para obtenção da população final. A elevada correspondência entre os resultados da penetração e da reprodução do nematóide indica que a resistência de cafeeiros à população K₅ de *P. coffeae* é devida em grande parte a mecanismos pré-infeccionais. Com isso, a avaliação da penetração pode ser considerada ferramenta válida para identificação de materiais genéticos de café com resistência a *P. coffeae*, tomando-se sempre um material reconhecidamente suscetível como base de comparação.

Palavras-Chaves: Nematóide das lesões radiculares, café robusta, café conilon, melhoramento de plantas.

EVALUATION OF RESISTANCE OF COFFEE ROOTSTOCKS FOR THE K₅ POPULATION OF *Pratylenchus coffeae*

ABSTRACT: The population K₅ of *Pratylenchus coffeae* is extremely virulent to *Coffea arabica*. Resistant coffee (*C. canephora*) rootstocks can be used for its management, therefore the nematode penetration and reproduction in *C. canephora* cultivars were evaluated. The population K₅ of *P. coffeae* was collected from coffee tree roots in Marília, São Paulo state, Brazil. The following coffee cultivars were tested: *C. canephora* ‘IAC 4810’, ‘IAC 4765’ and ‘IAC Apoatã’. *Coffea arabica* ‘Mundo Novo’ was included as positive control. Each plantlet was inoculated with 200 adults + juveniles and the number of nematodes in the roots was counted at 1, 2, 4, 8, 12 and 16 days after inoculation. In addition, the nematodes were extracted from the roots and substrate to assess the final population at 90 and 180 days after inoculation. The resistance of *C. canephora* cultivars to *P. coffeae* appears to be associated with pre-infection mechanisms. Thereafter, assessment of nematode penetration is a valuable tool for the resistance evaluation in coffee plants.

Key words: root lesion nematode, robusta coffee, conilon coffee, plant breeding.

INTRODUÇÃO

O nematóide das lesões do cafeeiro, *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann), apresenta reduzida ocorrência em cafezais do Brasil. Foi registrado pela primeira vez em cafeeiro no município de Marília (SP) por Monteiro & Lordello (1974), e posteriormente na Barra da Guabiraba (PE) por Moura *et al.* (2002) e nos municípios paulistas de Itatiba, Presidente Prudente e Valinhos, além de novamente Marília, por Kubo *et al.* (2004). Comprovou-se experimentalmente que a população de *P. coffeae* de Marília (K₅ segundo Duncan *et al.*, 1999) apresenta elevada virulência e habilidade reprodutiva em cafeeiro arábico (*Coffea arabica* L.) (Inomoto *et al.*, 2007), resultado que demonstra a necessidade de evitar sua dispersão para cafezais indenes, medida de manejo com grande possibilidade de sucesso, em razão da reduzida distribuição geográfica de *P. coffeae* em áreas cultivadas com café.

Dentro do quadro atual, embora as medidas de exclusão sejam as prioritárias para o manejo de *P. coffeae* na cultura do café no Brasil, já houve a preocupação de iniciar estudos para a seleção de cultivares de *C. canephora* Pierre resistentes a K₅, com vistas a seu uso como porta-enxertos para *C. arabica*. Quatro cultivares de *C. canephora* foram testados em condições controladas por Tomazini *et al.* (2005), das quais IAC 4804 e IAC 4810 (ambas do tipo Robusta) foram consideradas suscetíveis e IAC 4764 e IAC 4765 (ambas Kouillou), resistentes. Tal cuidado se justifica, pois as cultivares de cafeeiro arábico mais cultivadas no Brasil, Mundo Novo e Catuaí, são intolerantes à população K₅ (Inomoto *et al.*, 2007). Os objetivos do presente trabalho foram confirmar os resultados já obtidos para IAC 4810 e IAC 4765, testar a cultivar IAC Apoatã em relação à população K₅ de *P. coffeae*, e verificar indícios da existência de mecanismos de resistência à penetração de nematóides em raízes de cafeeiros. De acordo com Cook & Evans (1987), plantas com resistência completa não permitem a reprodução; as suscetíveis (ou não resistentes) não apresentam

nenhuma limitação à reprodução; as moderadamente resistentes permitem graus intermediários de reprodução. Ainda segundo os autores, tolerância está relacionada aos danos sofridos pelas plantas na presença do nematóide; as plantas tolerantes são as que sofrem poucos danos e as intolerantes as que sofrem muitos danos.

MATERIAL E MÉTODOS

Origem e produção do inóculo. A população K₅ de *P. coffeae* foi obtida de raízes de cafeeiro coletadas no município de Marília-SP (Duncan et al., 1999; Silva & Inomoto, 2002) e foi multiplicada em plantas de sorgo 'Sara' em casa de vegetação. O inóculo do nematóide foi obtido pela extração de formas móveis das raízes pelo método de Baermann modificado para recipiente raso (Hooper, 1986).

Experimento 1. Foram testadas as seguintes cultivares: *Coffea arabica* 'Mundo Novo', *C. canephora* 'IAC 4810' e 'IAC Apoatã'. A semeadura foi feita em caixas plásticas contendo substrato arenoso, previamente autoclavado. Plântulas no estágio palito de fósforo foram transferidas para copos plásticos de 180 cm³ de capacidade. Em cada copo foi mantida somente uma plântula, inoculadas quando apresentaram 1-2 pares de folhas verdadeiras. O substrato foi infestado por 200 adultos + juvenis de *P. coffeae* pela pipetagem de suspensão aquosa, em sulco raso ao redor do colo da plântula. As raízes de plântulas dos diferentes genótipos foram avaliadas no primeiro, segundo, quarto, oitavo, 12^o e 16^o dias após a inoculação, utilizando a coloração por hipoclorito de sódio - fucsina ácida (Daykin & Hussey, 1985). Foram avaliadas seis plantas por genótipo. Após a coloração, cada sistema radicular foi dividido em 2 a 6 segmentos, que foram transferidos individualmente para lâminas de vidro. Em seguida, procedeu-se a contagem dos nematóides no interior das raízes com auxílio de estereoscópio. Para avaliar resistência dos cafeeiros a K₅, as plantas que não foram utilizadas para avaliação da penetração foram transferidas para vasos de argila de 1,5 litro de capacidade, contendo substrato autoclavado, aos 21 dias após a inoculação. Aos 90 e 180 dias após a inoculação, seis plantas por genótipo foram colhidas para a extração dos nematóides das raízes pelo método descrito por Bonetti & Ferraz (1981) e do substrato pelo método de Jenkins (1964). A população foi calculada pela soma da estimativa da população do sistema radicular e da população do substrato. O fator de reprodução foi obtido pela razão da população final (Pf) pela população inicial (Pi).

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com seis repetições, sendo testadas as variáveis: número de nematóides nas raízes nos dias 1, 2, 4, 8, 12 e 16 após a inoculação e fator de reprodução aos 90 e 180 dias. Os dados das variáveis estudadas foram transformados por log₁₀ (x+1) e submetidos à análise de variância, usando-se o programa Sisvar (Versão 4.6, Universidade Federal de Lavras).

Experimento 2. O experimento foi repetido com a inclusão da cultivar 'IAC 4765'. Plântulas no estágio orelha de onça foram inoculadas com 200 adultos + juvenis de *P. coffeae* / parcela e avaliadas para penetração (1, 2, 4, 8, 12 e 16 dias após a inoculação) e multiplicação (90 e 180 dias após a inoculação) do nematóide. No estudo de penetração, foram seis repetições por data, e no de multiplicação, dez.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento 1. Na Figura 1 podem ser observados espécimes de *P. coffeae* no interior das raízes de plantas dos três genótipos estudados no experimento 1, após o procedimento de coloração. Os resultados da penetração dos nematóides são apresentados na Figura 2 e na Tabela 1. Observou-se que no primeiro e no segundo dias após a penetração, em média, apenas 3,29 e 6,55 nematóides foram encontrados no interior das raízes e as cultivares não diferiram entre si (p=0,82 no dia 1 e p=0,68 no dia 2). Já no quarto dia, houve diferença entre as cultivares (p=0,01). A cultivar Mundo Novo diferiu de IAC 4810, mas IAC Apoatã apresentou um comportamento intermediário, não diferindo das demais. A partir do oitavo dia após a inoculação, Mundo Novo apresentou números crescentes de nematóides nas raízes, diferindo das demais cultivares em todas as datas experimentais. As cultivares de *C. canephora* mantiveram comportamento constante nas demais datas, não diferindo entre si. No dia 16 após a inoculação, 48% dos nematóides inoculados haviam penetrado as raízes de Mundo Novo, enquanto que apenas 7 e 11% estavam nas raízes de IAC Apoatã e IAC 4810.

Os resultados da reprodução de *P. coffeae*, avaliada aos 90 e 180 dias, são apresentados na Tabela 2. O número de nematóides por grama de raiz (Nem./g) foi superior em Mundo Novo, que diferiu significativamente de IAC 4810 e IAC Apoatã. O fator de reprodução estimado para essa data também foi superior em Mundo Novo, em concordância com os resultados de penetração do nematóide. A avaliação aos 180 DAI mostrou que a população do nematóide cresceu acentuadamente entre os 90 e 180 DAI. Com base na variável FR, classificou-se Mundo Novo como suscetível e IAC 4810 como moderadamente resistente a *P. coffeae*, em concordância com trabalho anterior (Tomazini et al., 2005). A cultivar IAC Apoatã, cuja resposta a *P. coffeae* não era conhecida, apresentou resposta intermediária entre Mundo Novo e IAC 4810, porém mais próxima de IAC 4810, se consideradas todas as variáveis e épocas de avaliação.

Experimento 2. Não houve diferença entre os genótipos na penetração de espécimes de *P. coffeae* nas raízes avaliadas nos dias 1, 2, 4, 8 e 12 após a inoculação neste experimento. Aos 16 dias, números médios significativamente maiores foram observados nas cultivares Mundo Novo e IAC Apoatã. No entanto, menos nematóides foram observados nas raízes de todos os genótipos em relação ao primeiro experimento (número médio aos 16 dias após a inoculação: Mundo Novo = 9,2; IAC Apoatã= 4,8; IAC 4810 = 0,7; IAC 4765= 0,0). Tais resultados são concordantes com os do experimento e indícios da existência de algum fator que limita a penetração dos parasitas no sistema radicular de plantas dos genótipos de *C. canephora*. Há também semelhança nos presentes resultados com os obtidos por Kumar (1982), que

relatou que menos indivíduos de *P. coffeae* penetraram em raízes de *C. canephora* 'Robusta' em comparação com *C. arabica*.

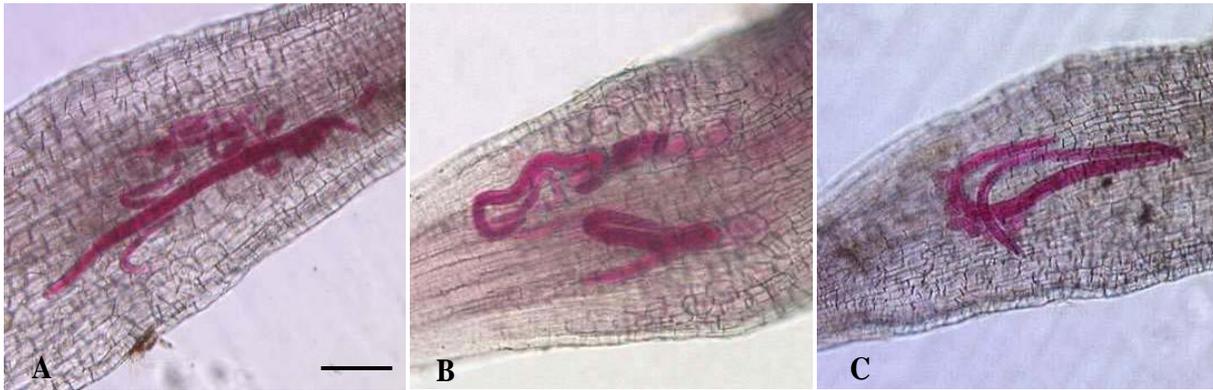


Figura 1 - Nematóides nas raízes de café, em 'Mundo Novo' aos 16 dai (A), 'IAC Apatã' aos 16 dai (B) e 'IAC 4810' aos 12 dai (C). (Barra = 100 μ m.)

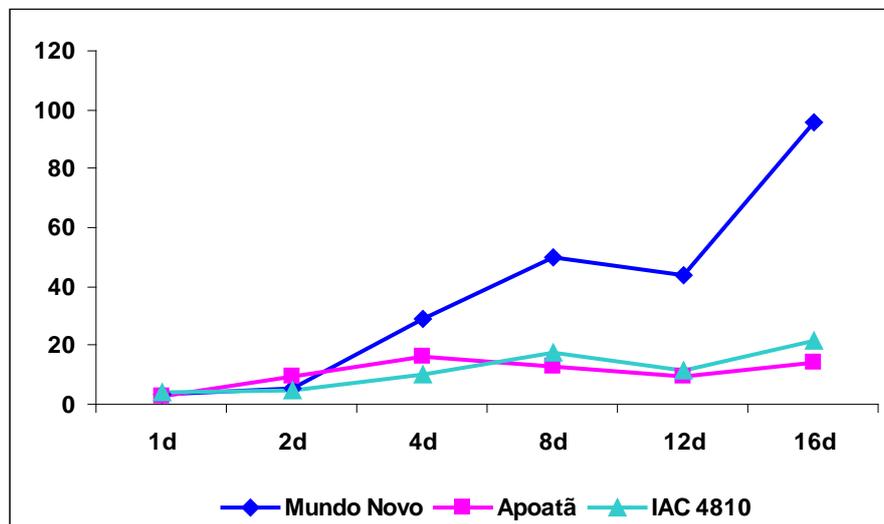


Figura 2 - Número médio de nematóides nas raízes nos dias 1, 2, 4, 8, 12 e 16 após a inoculação, nos três genótipos analisados.

Tabela 1 - Número médio de nematóides nas raízes nos dias 1, 2, 4, 8, 12 e 16 após a inoculação, nos três genótipos analisados.

	1	2	4	8	12	16
<i>C. arabica</i> 'Mundo Novo'	3,3 a	5,2 a	29,2 a	50,0 a	43,8 a	96,0 a
<i>C. canephora</i> 'IAC Apatã'	2,5 a	9,7 a	16,0 ab	12,8 b	9,2 b	14,3 b
<i>C. canephora</i> 'IAC 4810'	4,2 a	4,8 a	10,3 b	17,5 b	11,6 b	21,8 b

Médias de cinco repetições. Médias seguidas de letras diferentes diferem a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 2 - Número de espécimes de *Pratylenchus coffeae* por grama de raiz (Nem./g) e fator de reprodução (FR) nas cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* e *C. canephora*) analisadas aos 90 e 180 dias após a inoculação (DAI), no experimento 1.

Espécies e cultivares	90 DAI		180 DAI	
	Nem./g	FR	Nem./g	FR
<i>C. arabica</i> 'Mundo Novo'	165 a	1,17 a	2.019 a	37,25 a
<i>C. canephora</i> 'IAC	49 b	0,43 b	702 b	12,08 ab
<i>C. canephora</i> 'IAC 4810'	66 b	0,17 b	217 b	2,33 b

Médias de seis repetições. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os resultados sobre a reprodução neste experimento foram concordantes com o experimento 1, IAC 4765 se mostrou mais resistente que os demais com base na variável Nem./g, aos 90 DAI, e Nem./g e FR, aos 180 DAI, porém sua resistência não é completa (Tabela 3). As cultivares de *C. canephora* testadas apresentam resistência moderada à população K₅ de *P. coffeae*, diferenciando-se em dois estratos: IAC 4765 com maior resistência que o grupo formado por IAC 4810 e IAC Apatã. Portanto, *C. canephora* 'IAC 4765' não apresenta resistência completa à população K₅ de *P. coffeae*, mas é a cultivar mais indicada para ser utilizado como porta-enxerto em locais infestados com essa população.

Tabela 3 - Número de espécimes de *Pratylenchus coffeae* por grama de raiz (Nem./g) e fator de reprodução (FR) nas cultivares de cafeeiros (*Coffea arabica* e *C. canephora*) analisadas aos 90 e 180 dias após a inoculação (DAI) no experimento 2.

Genótipo	90 DAI		180 DAI	
	Nem./g	FR	Nem./g	FR
<i>C. arabica</i> 'Mundo Novo'	1.266 a	4,08 a	2.751 a	14,08 a
<i>C. canephora</i> 'IAC	314 b	0,75 b	768 b	6,79 b
<i>C. canephora</i> 'IAC 4810'	269 b	0,53 b	807 b	4,06 b
<i>C. canephora</i> 'IAC 4765'	31 c	0,19 b	65 c	1,34 c

Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem a nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A elevada correspondência entre os resultados sobre a penetração do nematóide (*P. coffeae* população K₅) até os 16 dias e sua reprodução em duas épocas de avaliação (90 e 180 DAI) indica que a resistência de cafeeiros à população K₅ de *P. coffeae* é devida em grande parte a mecanismos que limitam a penetração do nematóide, ou seja, pré-infeccionais. Em verdade, o grande crescimento populacional do nematóide entre os 90 e 180 DAI em todas as cultivares testadas, mesmo em IAC 4765, reputada como a mais resistente, indica que a fase de penetração é mais importante que a de colonização na definição do grau de resistência de *C. canephora* à população K₅ de *P. coffeae*.

CONCLUSÕES

Confirmou-se a elevada resistência de *C. canephora* 'IAC 4765' à população K₅ de *P. coffeae* e verificou-se que a avaliação da penetração pode ser considerada ferramenta válida para identificação de materiais genéticos de café resistentes a *P. coffeae*, tomando-se sempre um material reconhecidamente suscetível para comparação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONETTI, J.L.S.; FERRAZ, S.. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6,n.,p.553, 1981
- COOK, R.; EVANS, K. Resistance and tolerance. In: BROWN, R.H.; KERRY, B.R. (Ed.) **Principles and practice of nematode control in crops**. Marrickville: Academic Press, 1987. p.179-231.
- DAYKIN, M.E.; HUSSEY, R.S. Staining and histopathological techniques in nematology. In: BARKER, K.R., CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Ed.) **An advanced treatise on Meloidogyne**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. cap.3, p. 39-48.
- DUNCAN, L.W., INSERRA, R., THOMAS, S.K., DUNA, D., MUSTIKA, I., FRISSE, L.M., MENDES, M.L., MORRIS, K.; KAPLAN, D.T. Molecular and morphological analyses of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely related species. **Nematropica**, DeLeon Springs (EUA), v.29, n.1, p.61-81, 1999.
- HOOVER, D.J. Extraction of free-living stages from soil. In: SOUTHEY, J.F. (Ed.) **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**. 6 ed. London: Her Majesty's Stationery Office, 1986. p.5-30.
- INOMOTO, M.M., KUBO, R.K., SILVA, R.A., OLIVEIRA, C.M.G., TOMAZINI, M.D.; MAZZAFERA, P. Pathogenicity of two *Pratylenchus coffeae* populations from Brazil on coffee plants. **Nematology**, Leiden, v.9, n.6, p.853-858, 2007.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.48, n.2, p.692, 1964.
- KUBO, R.K., OLIVEIRA, C.M.G., ANTEDOMÊNICO, S.R., MONTEIRO A.R., FERRAZ, L.C.C.B.; INOMOTO, M.M. Ocorrência de nematóides do gênero *Pratylenchus* em cafezais do estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.2, p.159-165, 2004.
- MONTEIRO, A.R.; LORDELLO, L.G.E. Encontro do nematóide *Pratylenchus coffeae* atacando cafeeiro em São Paulo. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.49, n.4, p.164, 1974.
- MOURA, R.M., PEDROSA, E.M.R.; PRADO, M.D.C. Incidência de *Pratylenchus coffeae* causando severa nematose em cafeeiro do Nordeste. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.27, p.649, 2002.

SILVA, R.A.; INOMOTO, M.M. Host-range characterization of two *Pratylenchus coffeae* isolates from Brazil. **Journal of Nematology**, Hanover (EUA), v.34, n.1, p.135-139, 2002.

TOMAZINI, M.D., SILVA, R.A., OLIVEIRA, C.M.G., GONÇALVES, W., FERRAZ, L.C.C.B.; INOMOTO, M.M. Resistência de genótipos de cafeeiros a *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.2, p.193-198, 2005.