

## AGRESSIVIDADE DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne paranaensis* EM CAFEIEIRO 'MUNDO NOVO'

Andressa C. Z. Machado<sup>1</sup>; Dhalton Shiger Ito<sup>2</sup>; Santino Aleandro da Silva<sup>3</sup>; Orazilia França Dorigo<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Pesquisadora, Dra, Instituto Agronômico do Paraná

<sup>2</sup> Pesquisador, Dr, Instituto Agronômico do Paraná

<sup>3</sup> Técnico Agrícola, Instituto Agronômico do Paraná

<sup>4</sup> Agente de Ciência e Tecnologia, Instituto Agronômico do Paraná

**RESUMO:** No Estado do Paraná, *Meloidogyne paranaensis* é o principal problema nematológico da cultura do café. Não obstante os prejuízos causados, são frequentes os relatos de populações do nematoide causando danos bastante acentuados, o que demonstra a possibilidade de diferenças em agressividade em populações de *M. paranaensis*. Em face dessas observações, foi realizado um estudo preliminar, em condições de casa de vegetação, em que plantas de cafeeiro 'Mundo Novo', com 6 pares de folhas, foram inoculadas com 3 diferentes populações de *M. paranaensis*, originadas de cafeeiros e coletadas no Estado do Paraná, nos municípios de Apucarana (MpAp - esterase P1) e Londrina (esterase P1 - MpP1 - e atípico - MpP2). Três densidades populacionais foram utilizadas: 0 (testemunha), 2.000 e 10.000 nematoides por planta. As avaliações foram realizadas após 180 dias da inoculação, sendo avaliados os seguintes parâmetros: massa fresca de raízes (MFR) e parte aérea (MFPA), fator de reprodução (FR) dos nematoides e número de nematoides por grama de raízes (nema/g). Os resultados mostraram que as três populações estudadas reduziram o crescimento das plantas de café. Plantas inoculadas tiveram uma redução média de MFR de 50%, quando comparadas com a testemunha; a MFPA apresentou redução variando de 30 a 55%, nas plantas inoculadas. Na densidade populacional de 2.000 nematoides por planta, a população MpAp apresentou FR 6,5 e nema/g > 5 vezes superior ao das demais populações, evidenciando uma maior fecundidade desta população na cultivar estudada. O próximo passo será investigar, em estudos mais elaborados, com mais populações e de maior duração, se a maior fecundidade de algumas populações de *M. paranaensis* resulta em danos mais acentuados nas plantas de café.

**PALAVRAS-CHAVE:** nematoide das galhas, *Coffea arabica*, variabilidade.

## AGRESSIVENESS OF *Meloidogyne paranaensis* POPULATIONS ON COFFEE 'MUNDO NOVO'

**ABSTRACT:** In Paraná State, *Meloidogyne paranaensis* is the main nematological problem of coffee crops. Besides the losses caused, reports about nematode populations causing accentuated damage are frequent, showing the possibility of the existence of variability in aggressiveness between *M. paranaensis* populations. In face of this, a preliminary study was done under greenhouse conditions, in which coffee plants from the cultivar Mundo Novo, with 6 pairs of leaves, were inoculated with 3 different *M. paranaensis* populations, originated from coffee plants collected in Paraná State, in the municipalities of Apucarana (MpAp - esterase P1) and Londrina (esterase P1 - MpP1 - and atypical - MpP2). Three population densities were used: 0 (standard), 2,000 and 10,000 nematodes per plant. Evaluations were done 180 days after inoculation and were analyzed the following parameters: fresh root (MFR) and fresh top (MFPA) weights, reproduction factor (FR) of nematodes and number of nematodes per gram of roots (nema/g). Results showed that the three populations studied reduced the growth of coffee plants. Inoculated plants had a MFR mean reduction of 50% in comparison with the standard; MFPA showed reductions varying from 30 to 55% in inoculated plants. In the population density of 2,000 nematodes per plant, the population MpAp showed FR 6.5 and nema/g > 5 times higher to that observed to other populations, evidencing a higher fecundity of this population in the studied cultivar. The next step will be investigate, in more elaborate studies, using more populations and with higher experimental periods, if the higher fecundity showed by some *M. paranaensis* populations results in more accentuate damage in coffee plants.

**KEY WORDS:** root-knot nematode, *Coffea Arabica*, variability.

## INTRODUÇÃO

Desde antes do primeiro relato sobre a ação dos nematoides de galha (*Meloidogyne* spp.) em cafeeiro, no final do século passado, nenhuma outra praga ou doença foi tão devastadora para a cafeicultura no Brasil como esses parasitos (Santos,

2000). De fato, devido ao grande potencial de causar prejuízos significativos e comprometer o solo de lavouras cafeeiras, os fitonematóides do gênero *Meloidogyne* ocupam posição de destaque entre os vários patógenos que reduzem a produção.

No Estado do Paraná, duas espécies, *Meloidogyne incognita* e *M. paranaensis*, constituem-se nos piores problemas da cafeicultura (Carneiro & Carneiro, 1982; Carneiro et al., 1990; Carneiro et al., 1992; Carneiro et al., 1996). Estes parasitas podem reduzir a produtividade a níveis antieconômicos na primeira colheita, em condições de alta infestação, tanto em solo arenoso como em argiloso, para as cultivares altamente suscetíveis como Mundo Novo, Catuaí e IAPAR 59 (Mata et al., 2000).

O controle é, de maneira geral, tarefa de difícil realização, pois cada situação requer cuidadosa análise antes da definição dos métodos a serem recomendados. No Brasil, as formas comuns de convivência são a rotação de culturas, as variedades resistentes ou tolerantes e o manejo de solo com plantas antagonistas. Para o Estado do Paraná, preconiza-se o manejo de solo, por um período de 1,5 a 2 anos, visando a redução populacional dos nematoides e posterior plantio de café enxertado, como a utilização de “Apoatã” (*C. canephora*) como cavalo de variedades de *Coffea arabica* (Krzyzanowski et al., 2001). Entretanto, com relação a *M. paranaensis*, a maioria deles vem apresentando baixa eficiência para lavouras instaladas em áreas com alta população inicial (Mata et al., 2000). Além disso, as fontes de resistência aos nematoides do gênero *Meloidogyne* são escassas em *C. arabica*; em outras espécies já foram encontradas fontes de resistência, como em *C. canephora*, porta-enxerto amplamente utilizado em áreas infestadas, mas existem alguns inconvenientes em seu uso, como a segregação para suscetibilidade (cerca de 10 a 15%), devido à sua fecundação cruzada (Gonçalves & Silvarolla, 2007). Pode ocorrer, também, quebra do cavaleiro na região da enxertia, com maior porcentagem de replantio (15 a 20%), além de o preço das mudas enxertadas ser maior quando comparado com mudas de pé franco (Gonçalves & Silvarolla, 2007). Portanto, é extremamente apropriado a obtenção de cultivares resistentes a esses parasitas para serem utilizadas em pé franco, pois é efetivo, econômico e ecologicamente correto.

Entretanto, o melhoramento genético de espécies perenes, como o cafeeiro, é extremamente trabalhoso e demorado, podendo levar muitos anos até que genótipos promissores possam ser selecionados com níveis aceitáveis de resistência aos nematoides. Além do mais, nas condições brasileiras, o manejo de nematoides esbarra em várias dificuldades. Existe uma grande diversidade de gêneros e espécies de nematoides, que devem ser devidamente conhecidos; estes, geralmente apresentam ciclos de vida mais curtos e mais gerações por ano agrícola em elevadas temperaturas, causando grande pressão de inóculo. Outro fator de elevada importância é a freqüente presença de espécies concomitantes na mesma área que podem causar sérios prejuízos, o que é obviamente muito relevante quando da introdução de materiais resistentes. Outro complicador reside no fato de que populações diferentes da mesma espécie de nematoide podem apresentar grande variabilidade genética, como já relatado para *M. exigua*, outro importante nematoide que parasita cafeeiros (Muniz et al., 2009). Portanto, em programas de melhoramento genético da cultura visando resistência a nematoides, é importante a utilização de populações agressivas do nematoide a ser avaliado, de forma a contemplar a variabilidade encontrada no patógeno.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar, em condições de casa de vegetação, a agressividade de três diferentes populações de *M. paranaensis* na cultivar suscetível Mundo Novo, com base no desenvolvimento das plantas e na reprodução do nematoide.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Obtenção e multiplicação dos inóculos.** As populações de *M. paranaensis* que foram utilizadas no presente trabalho estão sendo mantidas e multiplicadas em casa-de-vegetação no IAPAR em Londrina, em plantas de café ‘Mundo Novo’. Foram utilizadas 3 populações de *M. paranaensis*: uma proveniente de café, coletada no município de Londrina, PR, apresentando fenótipo de esterase P1, típico de *M. paranaensis*, (MpP1), a segunda também obtida a partir de plantas de café no município de Londrina, mas com fenótipo de esterase atípico (MpP2), e a terceira obtida de raízes de café, no município de Apucarana, PR (fenótipo P1) (MpAp) (Figura 1).

Cerca de 60 dias antes da inoculação do experimento de café, as populações dos nematoides mantidas em cafeeiros foram extraídas das raízes das plantas de café (Boneti & Ferraz, 1981) e inoculadas em plantas de tomate ‘Santa Clara’ para a obtenção de inóculo em quantidade para os experimentos.

Os espécimes utilizados como inóculo foram extraídos das raízes pelo método de Boneti & Ferraz (1981). Nas suspensões assim obtidas, o número de exemplares por mililitro foi estimado, sob microscópio óptico e com auxílio de lâmina de Peters.

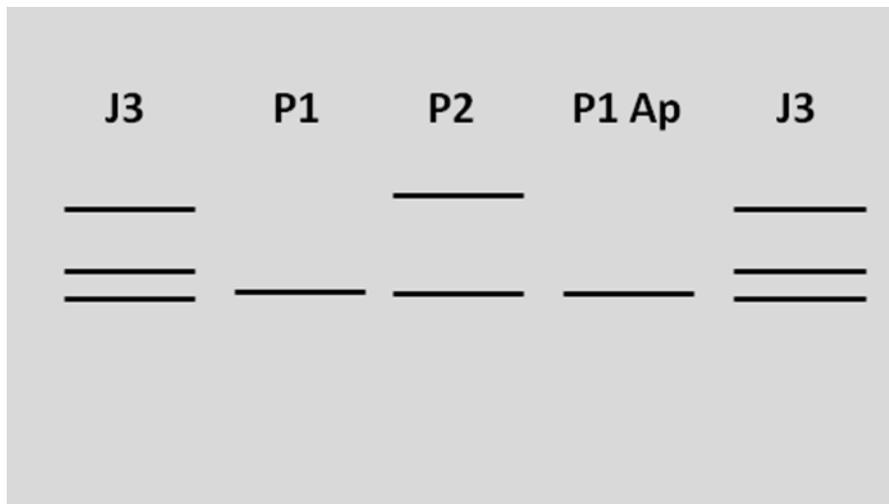
**Preparo e inoculação das plantas.** Sementes de cafeeiro ‘Mundo Novo’ foram semeadas em vasos com capacidade para 700 ml, contendo solo autoclavado. A inoculação das plantas deu-se quando as mesmas atingiram seis pares de folhas, ou seja, após um período médio de seis meses após o transplante (feito em orelha de onça), através da pipetagem de suspensão contendo 2.000 ou 10.000 nematoides, isoladamente, em dois orifícios feitos no solo, próximos ao colo das

plantas. Plantas não inoculadas com os nematoides foram utilizadas para um comparativo de desenvolvimento radicular e de parte aérea.

**Avaliação.** As avaliações foram feitas 180 dias após as inoculações, através da extração dos ovos e/ou nematoides presentes nas raízes das plantas inoculadas, pelo método de Boneti & Ferraz (1981). Os nematoides extraídos foram contados com auxílio de lâmina de Peters, sob microscópio óptico, obtendo-se as estimativas populacionais finais (Pf) nas raízes, em cada parcela. Esse valor foi dividido pela população inicial inoculada (Pi), obtendo-se o fator de reprodução dos nematoides ( $FR = Pf/Pi$ ) em cada parcela. O número de nematoides por grama de raiz também foi calculado para cada repetição. Além disso, dados de crescimento das plantas foram tomados no momento da avaliação, a saber, massa fresca de raízes e parte aérea.

**Análise dos dados.** O delineamento experimental dos experimentos foi inteiramente casualizado, com 15 repetições, sendo cada unidade experimental representada por um vaso contendo uma planta. Os dados foram transformados segundo  $\ln(x + 1)$  e submetidos à análise de variância; os tratamentos foram comparados pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), utilizando-se o programa SAS (versão 9.1; SAS Institute, Cary, NC, USA).

Figura 1. Representação dos perfis de esterase das populações de *Meloidogyne paranaensis* utilizadas no presente trabalho.



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos encontram-se resumidos na Tabela 1. De maneira geral, as três populações de *M. paranaensis* estudadas reduziram o crescimento das plantas de café, em comparação às testemunhas, não inoculadas. A população MpP1 foi a que permitiu menor desenvolvimento das raízes das plantas (MFR), na densidade populacional de 10.000 nematoides/planta, enquanto que MpP2 foi a que causou menor desenvolvimento da parte aérea das plantas, refletido pela menor massa fresca de parte aérea (MFPA), em ambas as densidades populacionais estudadas. Plantas inoculadas, portanto, tiveram uma redução média de MFR de 50%, quando comparadas com a testemunha; a MFPA apresentou redução variando de 30 a 55%, nas plantas inoculadas. Em trabalho em que objetivou-se avaliar a variabilidade de populações de *Meloidogyne* em cafeeiros, Muniz *et al.* (2009) relataram que a variável massa fresca de raízes foi a que apresentou maior correlação com as densidades populacionais utilizadas, inclusive para *M. paranaensis*.

Em relação ao fator de reprodução (FR) dos nematoides, todas as populações conseguiram multiplicar-se nos plantas de café, com FR maiores que 1,0, exceto as populações MpP2 e MpP1, nas densidades populacionais de 10.000 e 2.000 nematoides/planta, respectivamente. De maneira geral, o número de nematoides por grama de raízes (nema/g) refletiu os valores encontrados para FR, exceto para a população MpP2, na densidade de 10.000 nematoides/planta. Este fato pode ser explicado pelo menor desenvolvimento das raízes neste caso, o que levou a menor FR com elevado nema/g. Evidencia-se, dessa forma, que a avaliação de nematoides em cafeeiro deve levar em consideração também a variável nema/g; Muniz *et al.* (2009) também corroboraram com esta informação em seu trabalho.

Na densidade populacional de 2.000 nematoides/planta, a população MpAp apresentou FR 6,5 e nema/g 5 vezes superiores ao das demais populações, evidenciando uma maior fecundidade desta população na cultivar estudada. Variabilidade em termos de agressividade e patogenicidade entre diferentes populações de *M. exigua* também já foi

relatada anteriormente (Muniz *et al.*, 2009). No caso de *M. exigua*, a alta variabilidade encontrada pode ser justificada pelo seu modo de reprodução, por partenogênese meiótica (Triantaphyllou, 1985), cujos mecanismos de recombinação genética podem ser responsáveis pelo aumento de agressividade (Cook & Evans, 1987). Entretanto, *M. paranaensis* possui reprodução por partenogênese mitótica (Triantaphyllou, 1985), sem a ocorrência de recombinações genéticas, o que dificulta a interpretação da existência de diferentes taxas de agressividade, assim como ocorre para *M. incognita*, considerado um dos patógenos mais bem sucedidos da natureza, justamente pela sua ampla variabilidade genética e capacidade adaptativa (Trudgill & Blok, 2001). O próximo passo será investigar, em estudos mais elaborados, com mais populações e de maior duração, se a maior fecundidade de algumas populações de *M. paranaensis* resulta em danos mais acentuados nas plantas de café.

Tabela 1. Massa fresca de raízes e massa seca da parte aérea de cafeeiros 'Mundo Novo' inoculados com diferentes populações de *Meloidogyne paranaensis*, fator de reprodução e número de nematoides por grama de raízes.

População	Densidade populacional	Massa fresca de raiz	Massa fresca de parte aérea	Fator de reprodução	Número de nematoides/ g raiz
Sem nematoide	-	21,48 a	61,90 a	-	-
MpP2	2.000	11,89 bc	29,41 c	1,19 c	212 c
	10.000	10,57 bc	28,35 c	0,84 d	830 b
MpP1	2.000	10,16 bc	30,08 bc	0,25 e	309 c
	10.000	9,57 c	33,14 bc	1,76 b	2030 a
MpAp	2.000	12,52 bc	39,95 bc	5,92 a	1049 b
	10.000	13,96 b	44,18 ab	1,36 bc	1036 b
CV%	-	12,08	10,64	20,31	7,59

Cada valor representa a média de 15 repetições; médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

## CONCLUSÕES

Baseando-se nos resultados encontrados no presente trabalho, pode-se concluir que existe variabilidade entre populações de *M. paranaensis* em relação à capacidade de multiplicação em cafeeiros e tal variabilidade deve ser levada em consideração nos programas de melhoramento genético da cultura visando resistência a nematoides.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONETTI, J.I. & FERRAZ, S. Modificações no método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, 6: 533, 1981.
- CARNEIRO, R.G.; ANTONIO, H.; BRITTO, J.A.; ALTÉIA, A.A.K. Identificação de espécies e raças fisiológicas de *Meloidogyne* no Noroeste do Paraná 1: núcleo regional da Emater de Paranavaí. Nematologia Brasileira, 14: 2-3. Resumo. 1990.
- CARNEIRO, R.G.; ALTÉIA, A.A.K.; BRITTO, J.A. Levantamento da ocorrência e frequência de espécie e raças fisiológicas de *Meloidogyne* no Noroeste do Paraná 1: núcleo regional da Emater de Paranavaí. In: XVII Congresso Brasileiro de Nematologia. Lavras. Resumos. 1992.
- CARNEIRO, R.G.; CARNEIRO, R.M.D.G. Levantamento preliminar dos nematoides do gênero *Meloidogyne* associados à cultura do café no Norte do Paraná, no período de 1978 a 1980. In: VI Reunião Brasileira de Nematologia, 6: 133-139. 1982.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; CARNEIRO, R.G.; ABRANTES, I.M.O.; SANTOS, M.S.N.A.; ALMEIDA, M.R.A. *Meloidogyne paranaensis*, new species (Nemata: meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. Journal of Nematology, 28(2): 177-189. 1996.
- COOK, R. & EVANS, K. Resistance and tolerance. In: BROWN, R.H. & KERRY, B.R. (Eds.). Principles and practice of nematode control in crops. Marrickville NSW. Academic Press. pp. 179-231, 1987.
- GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M.B. A luta contra a doença causada pelos nematoides parasitos do cafeeiro. O Agrônomo, 59: 54-56, 2007.
- KRZYŻANOWSKI, A.A.; FIGUEIREDO, R.; SANTIAGO, D.C.; FAVORETO, L. Levantamento de espécies e raças de *Meloidogyne* em cafeeiros no Estado do Paraná. In: II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória, ES. Resumos. Brasília, DF: Embrapa Café, 2001. 181p.

- MATA, J.S.; SERA, T.; AZEVEDO, J.A.; ALTEIA, M.Z.; COLOMBO, L.A.; SANCHES, R.S.; PETEK, M. R.; FADELLI, S. Seleção para resistência ao nematoide *Meloidogyne paranaensis* EMN95001: IAPARLN 94066 de “Catuaí x Icatu” em área altamente infestada. In: I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas, MG. Resumos expandidos. Brasília, DF: Embrapa Café; Belo Horizonte : Minasplan, 2000. 1490p.
- MUNIZ, M.F.S.; CAMPOS, V.P.; MOITA, A.W.; GONÇALVES, W.; ALMEIDA, M.R.A.; SOUSA, F.R. & CARNEIRO, R.M.D.G. Reaction of coffee genotypes to different populations of *Meloidogyne* spp.: detection of a naturally virulent *M. exigua* population. *Tropical Plant Pathology*, 34: 370-378, 2009.
- SANTOS, J.M. Café – Excluindo os nematoides. *Revista Cultivar, Grandes Culturas*, março de 2000.
- TRIANANTAPHYLLOU, A.C. Cytogenetics, cytotaxonomy and phylogeny of root-knot nematodes. In: SASSER, J.N. & CARTER, C.C. (Eds.). *An advanced treatise on Meloidogyne*. Vol. 1. Biology and Control. Raleigh NC. North Carolina State University Graphics. pp. 113-126, 1985.
- TRUDGILL, D.L. & BLOK, V.C. Apomitic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 39: 53-77, 2001.