

AJUSTE DE DATAS DE AVALIAÇÃO E DENSIDADES POPULACIONAIS DE *Meloidogyne incognita* VISANDO A AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE CAFEZEIROS

Andressa C. Z. Machado¹; Anderson Cascione Bicalho²; Santino Aleandro da Silva³

¹Pesquisadora, Dra., Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, PR, andressa_machado@iapar.br

²Mestrando em Agricultura Conservacionista, Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, PR,

³Assistente de Ciência e Tecnologia, Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, PR, santino@iapar.br

RESUMO: Um dos entraves da pesquisa nematológica com culturas agrícolas é a ausência de padronização metodológica em relação à melhor densidade populacional do nematoide, que consiga expressar os adequados níveis de resistência/ suscetibilidade dos genótipos, e à melhor data de avaliação, principalmente no caso de culturas perenes, como o café. Existem na literatura inúmeros trabalhos com o patossistema *Meloidogyne* spp. x cafeeiro, mas não há padronização da metodologia, sendo praticamente impossível a comparação de resultados entre diferentes autores. Em função do exposto, o objetivo do presente trabalho foi ajustar, em condições de casa de vegetação, as melhores data de avaliação e densidade populacional de *M. incognita* para avaliação de genótipos de *Coffea arabica*. Para tal, mudas de café cv. “Mundo Novo” com 6 pares de folhas, cultivadas em vasos de 700 ml, foram inoculadas com as densidades populacionais de 1; 2; 4; 8 e 16 ovos por cm³ de solo e avaliadas aos 60, 90, 120, 150 e 180 dias após a inoculação (DAI). A multiplicação do nematoide foi avaliada com base no fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (nema/g), em cada data de avaliação. Os resultados mostraram que, a partir dos 90 DAI, em todas as avaliações, o melhor FR foi obtido a partir da menor densidade populacional, ou seja, menores densidades sempre apresentaram maiores FR. Em relação às datas de avaliação, para as densidades de 1, 2 e 4, 90 DAI foi responsável pelos melhores resultados de FR, enquanto que para 8 e 16, 120 DAI adequou-se melhor aos resultados. Conclui-se, de posse de tais resultados, que as melhores densidades populacionais são aquelas situadas entre 1 e 4 ovos por cm³ de solo e a melhor data de avaliação utilizando-se tais densidades é 90 DAI.

PALAVRAS-CHAVE: nematoide das galhas; metodologia; *Coffea arabica*.

EVALUATION TIMES AND POPULATION DENSITIES OF *Meloidogyne incognita* TO COFFEE RESISTANCE EVALUATION

ABSTRACT: One of problems of nematological research is the absence of methodological patterns in relation to the better nematode population densities, which can express adequate levels of genotypes resistance/ susceptibility, and to the better evaluation time, especially in the case of perennial crops, as coffee. There are in the literature several works about the pathosystem *Meloidogyne* x coffee, but there are no methodological patterns, making impossible the comparison between results from different authors. By this way, the objective of the present work was to adjust, under greenhouse conditions, the better evaluation time and *M. incognita* population density to the evaluation of *Coffea arabica* genotypes. For this, coffee seedlings cv. ‘Mundo Novo’ with 6 pairs of leaves, cropped in 700 ml capacity pots, were inoculated with the following populations densities: 1; 2; 4; 8; and 16 eggs per cm³ of soil and evaluated at 60, 90, 120, 150, and 180 days after inoculation (DAI). The nematode multiplication was evaluated based on reproduction factor (RF) and number of nematodes per gram of roots (nema/g), on each evaluation time. Results showed that, after 90 DAI, in all evaluations, the better RF was obtained from the lower population density, i.e., lower densities always showed higher RF values. In relation to evaluation times, to the densities of 1, 2, and 4, 90 DAI was responsible by the better results of RF, while to 8 and 16, 120 DAI was more adequate. We can conclude that the better population densities was those situated between 1 and 4 eggs per cm³ of soil and the better evaluation time using these densities is 90 DAI.

KEYWORDS: root-knot nematodes; methodology; *Coffea arabica*.

INTRODUÇÃO

Um dos entraves da pesquisa nematológica com culturas agrícolas é a ausência de padronização metodológica em relação à melhor densidade populacional do nematoide, que consiga expressar os adequados níveis de resistência/ suscetibilidade dos genótipos, e à melhor data de avaliação, principalmente no caso de culturas perenes, como o café.

Sabe-se que, para dada relação nematoide x planta hospedeira, em populações iniciais muito elevadas do nematoide, as raízes da planta hospedeira podem ser severamente danificadas pelo ataque do patógeno e há substancial competição entre os indivíduos por sítios de alimentação do hospedeiro, fazendo com que o fator de reprodução, ao final do experimento, fique abaixo de 1,0, o que caracterizaria uma reação de resistência, mesmo em plantas suscetíveis ao nematoide (Greco & Di Vito, 2009). Além disso, a resposta de cultivares, mesmo tidas como resistentes, sob diferentes níveis de inóculo é um importante fator a ser considerado, uma vez que, em altas densidades populacionais do nematoide,

raízes de plantas resistentes, mas que apresentam intolerância ao patógeno ou reação de resistência do tipo hipersensibilidade, com morte celular atrelada ao mecanismo de resistência, como já observado para a relação café x *M. exigua* (Anthony et al., 2005), são comprometidas pelo parasitismo, gerando resultados pouco confiáveis ao melhoramento da cultura (Greco & Di Vito, 2009).

Existem na literatura inúmeros trabalhos com o patossistema *Meloidogyne* spp. x cafeeiro, mas não há padronização da metodologia para cultivares resistentes e suscetíveis, sendo praticamente impossível a comparação de resultados entre diferentes autores. Por exemplo, para *M. exigua* inoculado em plantas da cultivar suscetível Mundo Novo, maior FR foi relatado com população inicial de 2000 ovos por planta (Gonçalves & Ferraz, 1987). Já Andreazzi (2014), trabalhando com densidades populacionais crescentes de *M. paranaensis* em diferentes cultivares, observou, com base no FR e na variável número de ovos e juvenis por grama de raízes, que populações iniciais entre 500 e 3000 ovos são suficientes para distinguir os genótipos estudados entre resistentes e suscetíveis, garantindo boa multiplicação do nematoide sem que haja destruição excessiva do sistema radicular.

É provável que diferentes resultados quanto ao nível de inóculo mais eficiente possam ocorrer devido à alterações no tipo de substrato, tamanho de recipientes, idade da planta e tempo de avaliação após as inoculações, além de espécies de nematoides com diferentes níveis de agressividade. Isso pode ter ocorrido quando comparamos os trabalhos de Andreazzi (2014) e Gonçalves & Ferraz (1987), pois neste as plantas foram inoculadas ainda no estágio cotiledonar, em recipientes com volume de 300 ml e avaliadas 100 dias depois; naquele, plantas com 3 pares de folhas foram inoculadas, em recipientes de 700 ml e avaliadas 110 dias após. Além disso, *M. exigua* tem comportamento menos agressivo quando comparado a *M. paranaensis*.

Dessa forma, estudos que visem a padronização de metodologias para o patossistema *Meloidogyne* spp. x café devem ser priorizados, de forma a entendermos as relações entre diferentes genótipos de café, resistentes e suscetíveis, e espécies de nematoides das galhas, sob diferentes condições experimentais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, no Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), localizado em Londrina, Paraná, Brasil (23°21'20.0"S 51°09'58.2"O). O isolado de *M. incognita* foi obtido de plantas de café no município de Altônia, PR, a partir de uma única massa de ovos, e tem sido mantida em casa de vegetação em plantas de tomate cv. Santa Clara e café cv. Mundo Novo.

Mudas de café cv. Mundo Novo com 4 pares de folhas foram transplantadas em vasos com capacidade para 700 mL, contendo solo esterilizado por calor seco (160 °C por 5 horas). Quando atingiram 6 pares de folhas, as mesmas foram inoculadas com densidades populacionais crescentes do nematoide: 1 (700); 2 (1400); 4 (2800); 8 (5600) e 16 (11200) ovos por planta. A extração do inóculo foi realizada conforme metodologia proposta por Boneti e Ferraz (1981).

As avaliações foram feitas aos 60, 90, 120, 150 e 180 dias após a inoculação (DAI), através da extração dos ovos e/ou nematoides presentes nas raízes das plantas inoculadas, pelo método de Boneti e Ferraz (1981). Para tal, os copos foram imersos em balde de 10 L contendo 4 L de água de torneira, para separação do substrato das raízes. As raízes foram lavadas cuidadosamente com água de torneira, secas em papel absorvente, pesadas e processadas (Boneti e Ferraz, 1981). Os nematoides extraídos foram contados com auxílio de lâmina de Peters, sob microscópio óptico, obtendo-se as estimativas populacionais finais (Pf) em cada parcela. Esse valor foi dividido pela população inicial inoculada (Pi), obtendo-se o fator de reprodução do nematoide ($FR = Pf/Pi$) em cada parcela (Oostenbrink, 1966). O número de nematoides por grama de raiz também foi calculado para cada repetição. Além disso, foram tomadas medidas de massa fresca de raízes (MFR) e de parte aérea (MFPA) das plantas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 5 (datas de avaliação x densidades populacionais do nematoide) com 5 repetições, sendo cada unidade experimental representada por um vaso contendo uma planta. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk, a 5% de probabilidade, para a verificação das normalidades dos resíduos, e de Levene, a 5% de probabilidade, para a verificação da homogeneidade da variância. Os dados de FR foram transformados para $\log(x)$, os de nema/g para boxcox ($x^{0.2997878}$) e os de MFR e MFPA não foram transformados, sendo, posteriormente, submetidos à análise de variância, com comparação de médias pelo teste de LSD, a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa R.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontram-se resumidos nas Tabelas 1 e 2. Os resultados relativos à MFR e MFPA (Tabela 1) mostraram que não houve interação entre os fatores densidades populacionais e datas de avaliação, demonstrando que não foi possível observar efeito negativo do parasitismo de *M. incognita* nas condições experimentais adotadas.

Em relação à multiplicação do nematoide, os resultados (Tabela 2) mostraram que, a partir dos 90 DAI, em todas as avaliações, o melhor FR foi obtido a partir da menor densidade populacional, ou seja, menores densidades sempre apresentaram maiores FR. Entretanto, independente da data de avaliação, a densidade populacional de 1 ovo por cm³ de solo (ou 700 ovos por vaso) foi a melhor, apresentando FRs de 45,13, 75,66, 45,30, 48,35 e 80,54 aos 60, 90, 120, 150 e 180 DAI, respectivamente. Em relação às datas de avaliação, a partir dos 90 DAI, verificou-se a hierarquização das densidades populacionais utilizadas, sendo as menores sempre melhores, em termos de FR. Infere-se, portanto, que, a

partir de 90 DAI, não há interferência da data de avaliação nos resultados obtidos, desde que respeitadas as menores densidades populacionais do nematoide. Para densidades muito elevadas, acima de 8 ovos por cm³ de solo, tal afirmação não é válida, uma vez que os dados obtidos mostram grande variação entre os FRs, sendo, de maneira geral, mais baixos. Os resultados obtidos para número de nematoides por grama de raízes, de maneira geral, corroboram com os obtidos para FR. Observou-se, portanto, claramente a interação entre os fatores densidades populacionais e datas de avaliação para ambas as variáveis.

Tabela 1. Massa fresca de raízes (MFR) e de parte aérea (MFPA), em gramas, de plantas de café cv. Mundo Novo inoculadas com densidades populacionais (DP) crescentes de *Meloidogyne incognita* e avaliadas em diferentes datas.

DP	Data de avaliação (dias após a inoculação)									
	60		90		120		150		180	
	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA	MFR	MFPA
1	14,27aC	46,40abD	16,43aC	54,98abBC	18,94aB	54,76abCD	23,55aB	66,32abA	21,99aA	48,62abAB
2	17,24aC	43,95bcD	13,19aC	50,55bcBC	23,43aB	41,39bcCD	21,30aB	54,37bcA	23,00aA	53,94bcAB
4	12,75aC	39,54aD	13,04aC	54,36aBC	20,58aB	50,75aCD	20,88aB	65,57aA	26,33aA	67,24aAB
8	12,95aC	44,86aD	15,32aC	55,60aBC	20,25aB	52,49aCD	22,61aB	63,23aA	27,69aA	61,51aAB
16	10,33bC	39,14cD	13,82bC	50,05cBC	16,06bB	40,76cCD	19,56bB	51,68cA	20,55bA	47,28cAB

Cada valor representa a média de 5 repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de LSD a 5% de significância.

Tabela 2. Fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (nema/g) de *Meloidogyne incognita* em café cv. Mundo Novo, em função de densidades populacionais crescentes do nematoide e diferentes datas de avaliação.

DP	Data de avaliação (dias após a inoculação)									
	60		90		120		150		180	
	FR	Nema/g	FR	Nema/g	FR	Nema/g	FR	Nema/g	FR	Nema/g
1	45,13bA	2.265bcA	75,66aA	3.337aB	45,30bA	1.697cdC	48,35bA	1.429dAB	80,54aA	2.648abB
2	2,30dC	189dC	48,22aB	4.868aA	22,02bB	1.332bcC	14,45cB	1.017cBC	28,10bB	1.866bC
4	3,41dB	788bB	9,37cC	2.053aC	13,46abC	1.964aC	10,38bcC	1.437aAB	15,65aC	1.680aC
8	4,82cB	2.140abA	6,88dD	2.497abBC	10,06aC	2.842aB	3,43cD	882cC	8,66abD	1.753bC
16	2,44bC	2.757bA	1,34cE	1.104dD	6,65aD	4.805aA	2,85bD	1.702cA	9,36aD	5.037aA

Cada valor representa a média de 5 repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de LSD a 5% de significância.

CONCLUSÕES

1. As melhores densidades populacionais são aquelas situadas entre 1 e 4 ovos por cm³ de solo.
2. A data de avaliação não interfere de maneira decisiva no fator de reprodução de *M. incognita* em café cv. Mundo Novo, desde que utilizando-se as densidades populacionais de 1 a 4 ovos por cm³ de solo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREAZZI, E. Comportamento das cultivares de café IPR 100 e Apoatã IAC 2258 em diferentes níveis de inóculo de *Meloidogyne paranaensis*. Dissertação de Mestrado, UEL.
- ANTHONY, F., TOPART, P., MARTINEZ, A., SILVA, M. & NICOLE, M. Hypersensitive-like reaction conferred by the *Mex-1* resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. *Plant Pathology*, 54:476-482, 2005.
- BONETI, J. I. S. & FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 6:553, 1981.
- GONÇALVES, W. & FERRAZ, L. C. C. B. Resistência do cafeeiro a nematoides. II. Teste de progênies e híbridos para *Meloidogyne incognita* raça 3,1. *Nematologia Brasileira* 11:125-142, 1987.
- GRECO, N. & DI VITO, M. Population dynamics and damage levels. In: PERRY, R. N., MOENS, M. & STARR, J. L. (Eds). *Root-knot nematodes*, CAB International, pp 246-274, 2009.
- OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mendelingen Landbouwhogeschool Wageningen*, 66: 1-46, 1966.