# SELETIVIDADE FISIOLÓGICA DE POPULAÇÕES DE Meloidogyne incognita E Meloidogyne paranaensis QUANDO MULTIPLICADAS DURANTE SUCESSIVAS GERAÇÕES EM TOMATEIROS E CAFEEIROS

CARNEIRO, R.M.D.G.<sup>1</sup> e JORGE, C.L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>EMBRAPA-Recursos Genéticos e Biotecnologia, C.P. 02372, 70849-970 Brasília-DF; <recar@cenargen.embrapa.br>

**RESUMO**: Neste trabalho foram utilizadas duas espécies de nematóides de galhas provenientes de cafeeiro, Meloidogyne paranaensis e Meloidogyne incognita raça 2, com o objetivo de estudar a seletividade fisiológica ou preferência de hospedeiros dessas duas espécies às plantas de café e tomate. As duas espécies de *Meloidogyne* foram multiplicadas nessas plantas durante dois anos. Plântulas de tomate cv. Santa Cruz e café cvs. Mundo Novo e Catuaí, com aproximadamente 15 cm de comprimento, foram inoculadas com 10.000 ovos/planta, sendo o delineamento inteiramente ao acaso, com seis repetições. Após três meses foram avaliadas as plantas de tomate e, após oito meses, as plantas de café. A multiplicação dos nematóides foi avaliada pelo índice de galhas ou ootecas e pelo fator de reprodução. Sobrevivência diferencial de indivíduos em populações de M. incognita e M. paranaensis foi observada nos dois cultivares de cafeeiros, quando essas plantas foram inoculadas com nematóides multiplicados em tomateiros. Essas duas populações de nematóides perderam significativamente a virulência ao cafeeiro após, aproximadamente, oito gerações em tomateiro. Tais populações são aparentemente polimórficas nos locus de virulência, de maneira que os alelos de virulência só podem ser detectados quando as populações multiplicadas em tomateiro são inoculadas em cafeeiro. As populações de nematóides das galhas multiplicadas em cafeeiro mostraram virulência intermediária quando inoculadas em tomateiro 'Santa Cruz'.

**Palavras-chave**: sobrevivência diferencial, nematóide de galhas, café, tomate, *Meloidogyne incognita, M. paranaensis*.

# PHYSIOLOGICAL SELECTIVITY OF Meloidogyne incognita AND Meloidogyne paranaensis POPULATIONS BY MULTIPLICATION OF SUCCESSIVE GENERATION ON TOMATO AND COFFEE

**ABSTRACT**: Differential survival of individuals within populations of *Meloidogyne incognita* and *M. paranaensis* was observed on coffee 'Mundo Novo' and 'Catuaí', when they were inoculated with these

two nematodes reared on susceptible tomato 'Santa Cruz' or on coffee 'Mundo Novo' for two years. These two populations of nematode from coffee lost significantly their virulence to this crop after eight generations on tomato. Such populations are apparently polymorphic at virulence loci, the virulence alleles can only be detected when the populations reared on tomatoes were inoculated on coffee crops. The populations of root-knot nematodes reared on coffee showed an intermediate frequency of virulence for tomato 'Santa Cruz'.

**Key words**: differential survival, root-knot nematodes, coffee, tomato, *Meloidogyne incognita*, *M. paranaensis*.

## INTRODUÇÃO

Sobrevivência diferencial ou seletividade fisiológica de indivíduos de uma determinada espécie ou população são o resultado da variabilidade genética dentro dessa população. Pesquisas realizadas nos últimos 15 anos demonstraram que populações de organismos contêm níveis nítidos de diversidade genética. Essa variação genética existe em todas as populações de nematóides, em muitos locus, tendo múltiplos alelos. A identificação dessa variação tem sido demonstrada de várias formas: preferência do hospedeiro ou raças fisiológicas do parasito, perfis de isoenzimas e proteínas e análises do DNA. Devido à praticidade da seleção de hospedeiros, uma das primeiras formas de variação a serem reconhecidas é a diferença inter ou intra-específica na preferência do hospedeiro Nas espécies partenogenéticas, como é o caso de *Meloidogyne* spp., a ocorrência de mutações deverá ser mantida nas gerações subseqüentes, se os hospedeiros e as condições climáticas forem favoráveis, sobretudo em climas amenos, que permitem várias gerações do parasito por ano. Mesmo densidades populacionais mínimas podem ser mantidas, pois para essas espécies não há necessidade do encontro de machos e fêmeas (Caswell & Roberts, 1987).

Os nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) estão amplamente distribuídos nas plantações de café do Brasil, onde causam grandes perdas para os produtores e para a economia do País. *Meloidogyne incognita* ( Kofoid & White) Chitwood, *M. paranaensis* (Carneiro et al., 1996), *M. exigua* Goeldi e *M. coffeicola* (Lordello & Zamith) têm sido reportados em plantações de café nos Estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais por muitos anos, havendo flutuações na predominância de uma espécie em relação a outras. Acredita-se que *M. coffeicola* tenha sido erradicada de várias plantações, embora ainda venha ocorrendo esporadicamente (Carneiro & Almeida, 2000). A utilização de populações de *Meloidogyne* spp. multiplicadas em tomateiros é normalmente empregada nos ensaios para seleção de resistência genética

em várias culturas, pois o tomateiro propicia alta reprodução da maior parte das espécies de *Meloidogyne*. A perda de virulência de *M. paranaensis* e *M. incognita* ao cafeeiro, quando multiplicados, sucessivamente, em plantas de tomateiros cv. Santa Cruz, tem sido relatada por nematologistas (Carneiro, R. e Gonçalves, W., informação pessoal).

O objetivo deste trabalho foi comprovar a seletividade fisiológica ou preferência de hospedeiros de duas espécies de *Meloidogyne*, em cafeeiro e tomateiro suscetíveis, quando inoculados com populações multiplicadas, durante dois anos consecutivos, nessas duas plantas.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizadas duas espécies de nematóides de galhas provenientes do cafeeiro, *M. paranaensis* e *M. incognita* raça 2, tendo sido ambas purificadas previamente pelo método descrito por Carneiro et al. (1996) e multiplicadas, durante dois anos, em tomateiros (*Lycopersicon esculentum*) cv. Santa Cruz e cafeeiros (*Coffea arabica*) cv. Mundo Novo.

Suspensões de ovos dessas duas espécies de nematóides foram extraídas pelo método de Hussey & Barker (1973), utilizando-se uma solução a 0,5% de NaOCl. Plântulas de tomate cv. Santa Cruz e cafeeiros cvs. Mundo Novo e Catuaí, com aproximadamente 15 cm de comprimento, foram inoculadas com 10.000 ovos/planta, sendo o delineamento inteiramente ao acaso, com seis repetições. Após três meses foram avaliadas as plantas de tomate e, após oito meses, as plantas de café. A reprodução dos nematóides foi avaliada pelo índice de galhas ou ootecas, segundo Hartman & Sasser (1985) e pelo número total de ovos e juvenis de segundo estádio (J2) no sistema radicular e no solo (NOJ), sendo os ovos extraídos pelo método acima mencionado, utilizando-se uma solução de 1,0% de NaOCl. Os J2 do solo foram extraídos através do método de Jenkins (1964). A partir dos valores de NOJ, calcularam-se os fatores de reprodução (FR), que são os valores de NOJ/10000.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise dos resultados (Tabela 1), pode-se observar que as plantas de cafeeiro infestadas com inóculo de *Meloidogyne* spp., proveniente do tomateiro, apresentaram um índice de galhas (IG) e um fator de reprodução (FR) significativamente inferiores aos das plantas com inóculo proveniente do cafeeiro. Embora tenha ocorrido adaptação seletiva de *M. paranaensis* e *M. incognita* raça 2 do cafeeiro ao tomateiro, foi no caso desta última espécie que a adaptação foi ainda mais intensa (Tabela 1). Embora o cv. Mundo Novo tenha apresentado fatores de reprodução superiores aos do cv. Catuaí, ocorreram poucas

diferenças estatísticas entre os dois cultivares de cafeeiros testados, mostrando que ambos são suscetíveis quando inoculados com populações provenientes do cafeeiro e praticamente resistentes quando inoculados com populações provenientes do tomateiro (Tabela 1). Ocorreu também redução significativa do FR em tomateiros cv. Santa Cruz, tanto para *M. incognita* como para *M. paranaensis*, quando se utilizou inóculo proveniente do cafeeiro, quando comparado com o inóculo proveniente do tomateiro (Tabela 1). Dessa maneira, pode-se comprovar neste trabalho que, embora a adaptação seletiva tenha ocorrido no cafeeiro e tomateiro, ela foi superior no tomateiro.

Um exemplo interessante de um fenômeno similar ao descrito é o comportamento de populações de *M. incognita, M. arenaria e M. javanica*, que se tornam virulentas ao longo do tempo aos cultivares de tomate resistentes, quebrando a resistência ao gene Mi. Tais populações são aparentemente polimórficas nos locus de virulência, de maneira que os alelos virulentos só podem ser detectados quando expostos aos cultivares de tomateiro resistentes (Prot, 1984). Isolados desses *Meloidogyne* spp. virulentos ao gene Mi podem ser selecionados ao longo de seis a doze gerações, com reinoculações sucessivas em plantas contendo o gene Mi (Netscher, 1977).

Populações de *M. incognita* e *M. paranaensis* do cafeeiro devem ser também polimórficas nos locus de virulência, de maneira que reinoculações sucessivas no tomateiro selecionaram, ao longo do tempo, indivíduos altamente virulentos a essa planta, restando poucos indivíduos virulentos ao cafeeiro, e para *M. incognita* a pressão de seleção no tomateiro foi mais acentuada do que para *M. paranaensis* (Tabela 1). Mais estudos são necessários no sentido de precisar o número de gerações necessárias para que as populações de *Meloidogyne* spp. se adaptem ao tomateiro, perdendo, significativamente, a sua virulência ao cafeeiro.

Esses resultados devem servir de alerta aos nematologistas e melhoristas quanto ao uso de inóculos provenientes de tomateiros para seleção de genótipos de cafeeiro com resistência a *Meloidogyne* spp.

Tabela 1 - Valores médios dos índices de galhas ou massas de ovos (IG) e fatores de reprodução (FR) de espécies de Meloidogyne do cafeeiro, após 90 dias no tomateiro (Lycopersicon esculentum) e após 210 dias no cafeeiro (Coffea arabica), quando inoculadas com 10.000 ovos multiplicados, sucessivamente, em tomateiros cv. Santa Cruz e em cafeeiros cv. Mundo Novo (durante dois anos)

Cultivar	M. incognita Raça 2 ¹		M. incognita Raça 2 <sup>2</sup>		M. paranaensis <sup>1</sup>		M. paranaensis <sup>2</sup>	
Cafeeiro	IG	FR <sup>3</sup>	IG	FR <sup>3</sup>	IG	FR <sup>3</sup>	IG	FR <sup>3</sup>
cv.Mundo Novo	1,0	0,42 F	5	26,2 C	2,2	3,57 E	5	18,5 D
cv. Catuaí	0,5	0,27 F	5	14,3 D	1,8	2,85 E	5	16,5 D
Tomateiro cv. Santa Cruz	5	55,8 A	5	28,4 C	5	38,7 B	5	15,5 D

Inóculo de nematóides provenientes de plantas de tomateiro.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Inóculo de nematóides provenientes de plantas de cafeeiro.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Fatores de reprodução médios seguidos das mesmas letras não diferem ente si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

### **CONCLUSÕES**

Populações de *M. incognita* raça 2 e *M. paranaensis* provenientes do cafeeiro, quando inoculadas em tomateiros cv. Santa Cruz por dois anos consecutivos, perderam significativamente a virulência a cafeeiros altamente suscetíveis. Essas duas espécies de nematóides das galhas multiplicadas em plantas de café mostraram uma virulência intermediária quando inoculadas em tomateiro 'Santa Cruz'.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A & CARNEIRO, R.G. Enzyme phenotypes of Brazilian populations of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and Applied Nematology**, v.19, n.6, p.555-560. 1996.
- CARNEIRO, R.M.D.G. & ALMEIDA, M.R.A. Distribution of *Meloidogyne* spp. on coffee in Brazil: identification, characterization and intraspecific variability. Mejoramiento sostenible del café Arabica por los recursos genéticos, asistido pôr los marcadores moleculares, com enfasis en la resistência a los nematodos. Publication Especial CATIE/IRD: 43-48. 2000.
- CASWELL, E.P. & ROBERTS, P.A. Nematode population genetics. Pp.390-396 *in* J. A. Veech & D. W. Dickson eds. **Vistas on Nematology**. De Leon Springs, Florida, USA:E. O. Painter Printing Co. 1987.
- HARTMAN, K.M. & SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. In: Carter, C. C. & Sasser, J. N. eds. **An advanced treatise on** *Meloidogyne*, vol. II, Methodology. Raleigh: North Carolina State University Graphics: p.69-77. 1985.
- HUSSEY, R. S. & BARKER, K.R. A comparison of methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v.57, p.1025-1028. 1973.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v.48, 692p. 1964.
- NETSCHER, C. Observations and preliminary studies on the occurrence of resistance breaking biotypes of *Meloidogyne* spp. on tomato. Cah. ORSTOM, **Ser. Biol.**, v.11, p.173-178. 1977.
- PROT, J.C. A naturally occurring resistance breaking biotype of *Meloidogyne arenaria* on tomato: Reproduction and pathogenicity on tomato cultivars Roma and Rossol. **Revue de Nématologie**, v.7,: p.23-28. 1984.