

BRAGANTIA

Revista Científica do Instituto Agrônômico do Estado de São Paulo

Vol. 36

Campinas, outubro de 1977

N.º 23

ESTUDO DE MÉTODOS DE INFESTAÇÃO PARA AVALIAÇÃO PRECOCE DA RESISTÊNCIA DO CAFEIEIRO A *MELOIDOGYNE EXIGUA* (1)

L. C. FAZUOLI, A. CARVALHO e RUBENS R. A. LORDELLO (2), *Seção de Genética, Instituto Agrônômico*

SINOPSE

Procurou-se desenvolver um método para avaliar a resistência de mudas novas de cafeeiros ao nematóide *Meloidogyne exigua*. Dois experimentos foram realizados, a fim de testar a eficiência de quatro métodos de infestação, em mudas do cultivar mundo novo de *Coffea arabica*, utilizando-se areia como substrato, em caixas de plástico. A avaliação do ataque pelo nematóide foi realizada subjetivamente, dando-se um ponto na ausência de galhas e cinco pontos na presença de elevado número de galhas nas raízes do cafeeiro.

Com base nos parâmetros estudados, verificou-se que 60 dias após a germinação das sementes, o sistema de infestação mais eficiente consistiu na colocação de pequenos pedaços de raízes de cafeeiro com galhas, misturados com o substrato das caixas de germinação, juntamente com uma suspensão em água, de ovos e larvas do nematóide.

Em leitura efetuada 150 dias após a germinação, não se verificou diferença significativa entre a infestação provocada através do uso de pequenos pedaços de raízes e com a suspensão contendo ovos e larvas ou a associação de ambos os métodos de infestação. Em todos estes tratamentos notou-se que as raízes dos cafeeiros possuíam elevado número de galhas.

Os dados obtidos indicam a possibilidade de realizar testes precoces de resistência ao nematóide *M. exigua*, o que é de particular interesse no plano geral de melhoramento visando resistência a esse parasita.

1 — INTRODUÇÃO

A espécie *Meloidogyne exigua* é uma das mais difundidas no Brasil e acarreta sensíveis danos a nossa ca-

feicultura. Estimativas de perdas na produção, resultantes da sua infestação em cafeeiros de três anos de ida-

(1) Trabalho parcialmente realizado com recursos do Instituto Brasileiro do Café. Recebido para publicação em 2 de janeiro de 1977.

(2) Com bolsas de suplementação do C.N.Pq.

de, mostraram ser significativas (1). Poucas informações existem em relação ao controle químico em condições de campo e os resultados obtidos demonstram, até o presente, restrições de ordem econômica à aplicação de nematicidas (9, 11, 13, 15). O desenvolvimento de seleções de cafeeiros com resistência a esse nematóide poderá reduzir consideravelmente os prejuízos causados. Fontes de resistência a *M. exigua* têm sido observadas em *Coffea canephora*, *C. congensis*, *C. eugenioides*, *C. racemosa* e em híbridos interespecíficos, principalmente entre *C. canephora* x *C. arabica* (5, 6, 7, 8, 16).

A verificação de resistência a *M. exigua* em geral é operação lenta e trabalhosa. No entanto, nos programas de melhoramento visando seleção de plantas resistentes há necessidade de tornar o processo rotineiro e rápido. Bailey (2), trabalhando com o tomateiro, indicou a possibilidade de se testarem plantas bem novas visando resistência a nematóides. Uma elevada população de plantas pode ser assim avaliada, aumentando-se a probabilidade de sucesso. Para avaliar a resistência a algumas moléstias tem-se também procurado abreviar o tempo de duração dos testes, utilizando plantas bastante jovens. Este método vem sendo adotado com sucesso para determinar a resistência de plantas jovens ao ataque de *Colletotrichum coffeanum* (4).

Barrons (3) usou escala de cinco classes para avaliar a resistência a nematóides-de-galhas em plantas novas de feijoeiro, sendo a classe 1 para plantas sem galhas e as classes 2 a 5 determinadas pelo aumento gradativo do número de galhas. Estabeleceram-se padrões para cada classe. Méto-

dos denominados "índice-de-galhas" e "índice-relativo-de galhas" foram utilizados por Smith e Taylor (18) para avaliar, em testes de campo, o grau de infecção pelos nematóides, nas pesquisas visando seleção de plantas resistentes. Outros processos para avaliar o grau de infecção foram utilizados por vários pesquisadores, com algumas modificações (12, 14, 17, 19).

Os resultados obtidos em alguns testes realizados com o cafeeiro, com o objetivo de acelerar o processo de avaliação da resistência ao nematóide *M. exigua*, são discutidos no presente trabalho.

2 — MATERIAL E MÉTODOS

Dois experimentos foram instalados em viveiros com o objetivo de abreviar o tempo para verificar a resistência do cafeeiro ao ataque de *M. exigua* e facilitar a leitura do dano causado ao sistema radicular. Utilizaram-se diversos métodos de infestação com o nematóide. Os experimentos foram conduzidos no Centro Experimental de Campinas e na Estação Experimental de Ribeirão Preto, ambos do Instituto Agrônomo.

Adotou-se, nos dois ensaios, o delineamento de blocos ao acaso com três repetições, sendo cada parcela constituída de plantas cultivadas em caixas de plástico. O substrato foi areia em três dos tratamentos e, em outro, utilizou-se uma mistura de areia com terra de local com nematóides. Os métodos de infestação foram os seguintes:

a) Incorporação de pequenos pedaços de raízes de cafeeiros com galhas do nematóide à areia da caixa de semeadão;

b) Irrigação da areia com suspensão em água, de ovos e larvas;

c) Irrigação da areia com suspensão de ovos e larvas, mais incorporação de pequenos pedaços de raízes de cafeeiros com galhas;

d) Plantio de cafeeiros em caixas de plástico contendo uma mistura de terra de local com nematóide e 30% de areia.

Nos três primeiros métodos efetuaram-se três infestações, espaçadas de 20 dias.

A suspensão com ovos e larvas de nematóides utilizada para efetuar a irrigação foi obtida com a trituração de pedaços de raízes de cafeeiros com galhas, em liquidificador, durante um minuto. Para melhor homogeneização a suspensão foi agitada antes de ser distribuída. Cada parcela submetida a este tipo de infestação foi uniformemente irrigada com elevada quantidade da suspensão.

Utilizou-se o cultivar mundo novo de *Coffea arabica*. Em um dos experimentos também foram feitas observações sobre a cultivar guarini de *C. canephora*, que se tem mostrado resistente (8). A primeira infestação em areia foi feita quando as sementes estavam em início de germinação, com apenas a radícula apontada. O tratamento utilizando terra de local com nematóides não sofreu outra infestação. A adição de 30 por cento de areia na terra utilizada teve o objetivo de facilitar o arrancamento de plantas com raízes intactas, para a observação da presença de galhas no sistema radicular.

Para avaliação da resistência retiraram-se, ao acaso, dois e cinco meses após a germinação dos cafeeiros, oito plantas de cada caixa, para de-

terminar o grau de infecção. Aos dois meses as plantas apresentavam-se com o primeiro par de folhas e, após cinco meses, com quatro a cinco pares. Ao analisar o grau de infecção atribuíram-se pontos, subjetivamente, para indicar o aspecto do sistema radicular, de acordo com ausência de galhas (1 ponto) ou com muitas galhas (5 pontos). Foram estabelecidos padrões para os valores intermediários de acordo com o aumento gradativo da infecção. Avaliou-se também a intensidade de infecção, contando o número de galhas formadas.

Para a análise estatística do número médio de galhas transformaram-se os dados obtidos, em $\sqrt{\bar{X} \mp I}$. Para os valores referentes ao grau de infecção, a análise foi feita com os dados originais. Utilizou-se o teste de Tukey, para a comparação das médias.

3 — RESULTADOS

Não se verificou a presença do nematóide nas parcelas com café mundo novo não infestadas, correspondentes ao tratamento testemunha dos experimentos. Também as plantas do cultivar guarini de *C. canephora* não apresentaram sintomas de ataque pelo nematóide. Isto vem confirmar a sua resistência a *M. exigua* (8).

Os valores obtidos nos dois experimentos, referentes aos pontos atribuídos às plantas, dois meses após a germinação dos cafeeiros, acham-se no quadro 1. A análise estatística mostrou diferenças significativas entre os métodos de infestação, sendo mais eficiente o que consistiu na colocação de pequenos pedaços de

QUADRO 1. — Média de pontos atribuídos subjetivamente ao sistema radicular de mudas de café infestadas com *M. exigua*, dois meses após a germinação, em duas localidades

Método de infestação	Médias de pontos *	
	Campinas	Ribeirão Preto
Testemunha (sem infestação)	1,0	1,0
Incorporação de pequenos pedaços de raízes com galhas	3,0	4,1
Irrigação com suspensão contendo ovos e larvas	2,5	3,2
Infestação com pedaços de raízes com galhas, mais suspensão contendo ovos e larvas	4,0	4,6
Infestação com terra de local com o nematóide e areia ..	1,7	2,7
Teste de Tukey (Δ 5%):	0,6	1,2
Coefficiente de variação:	9,1%	15,2%

* Pontos: 1 = isento; 5 = com muitas galhas

raízes em conjunto com a suspensão de ovos e larvas do nematóide. Nesse tipo de infestação, nos dois experimentos, o número médio de pontos dados às plantas variou de 4,0 a 4,6. Não se verificaram diferenças estatísticas significativas entre a infestação com pequenos pedaços de raízes e com suspensão de ovos e larvas. O pior método de infestação foi a utilização de terra de local com nematóides, acrescida de 30 por cento de areia. Entretanto, em um dos experimentos não houve diferença estatística entre este último método de infestação e a aplicação, em areia, da suspensão com ovos e larvas. Os coeficientes de variação obtidos foram de 9,1% e 15,2% nos experimentos de Campinas e Ribeirão Preto, respectivamente.

Os valores obtidos nos dois experimentos referentes ao número de galhas e os transformados, acham-se no quadro 2. A análise estatística destes dados transformados também revelou diferença significativa entre os métodos de infestação. Obteve-se

resultado semelhante ao determinar o método de infestação mais eficiente com a utilização do número médio de galhas em relação ao grau de infecção. Não se verificaram diferenças estatísticas entre a aplicação de pedaços de raízes com galhas e a infestação conjunta de raízes e de suspensão contendo ovos e larvas. De um modo geral, no experimento conduzido em Ribeirão Preto, o número médio de galhas foi relativamente maior em todos os métodos de infestação. O coeficiente de variação também foi maior em Ribeirão Preto (15,9%) do que em Campinas (11,9%).

No experimento de Campinas efetuou-se uma segunda leitura cinco meses após a germinação e os resultados obtidos acham-se no quadro 3.

Para os dois parâmetros estudados a análise estatística mostrou não haver diferença significativa entre três dos quatro tipos de infestação utilizados. A infestação com terra de local com nematóides mostrou-se como o pior método estudado. Em geral, cinco meses após a infestação,

QUADRO 2. — Número médio de galhas obtido e transformado em $\sqrt{x + 1}$, em mudas de cafeeiros infestadas com *M. exigua*, dois meses após a germinação, em duas localidades

Método de infestação	Número médio de galhas			
	Campinas		Ribeirão Preto	
	Obtido	Transfor.	Obtido	Transfor.
Testemunha (sem infestação)	0,0	1,0	0,0	1,0
Incorporação de pedaços de raízes com galhas ...	6,3	2,7	10,3	3,3
Irrigação com suspensão contendo ovos e larvas	5,3	2,4	6,6	2,7
Infestação com pedaços de raízes com galhas mais suspensão contendo ovos e larvas	10,6	3,3	15,8	4,0
Infestação com terra de local com o nematóide e areia	1,0	1,4	5,1	2,4
Teste de Tukey (Δ 5%):		0,7		1,1
Coefficiente de variação:		11,9%		15,9%

QUADRO 3. — Médias de pontos atribuídos subjetivamente ao sistema radicular, número médio de galhas obtido e transformado em $\sqrt{x + 1}$, em mudas de cafeeiros infestadas com *M. exigua*, cinco meses após a germinação, em Campinas

Método de infestação	Pontos *	N.º médio de galhas	
		Obtido	Transf.
Testemunha (sem infestação)	1,0	0,0	1,0
Incorporação de pequenos pedaços de raízes com galhas	4,5	99,1	10,0
Irrigação com suspensão contendo ovos e larvas ..	4,4	90,2	9,5
Infestação com pedaços de raízes com galhas mais suspensão contendo ovos e larvas	4,5	95,7	9,8
Infestação com terra de local com o nematóide e areia	2,1	13,1	3,7
Teste de Tukey (Δ 5%):	0,5		1,9
Coefficiente de variação:	6,2%		11,5%

* Pontos: 1 = isento; 5 = com muitas galhas

as plantas submetidas aos três melhores métodos de infestação estavam bem atacadas, recebendo, em média, graus de infecção em torno de 4,5, tendo de 90 a 99 galhas por planta.

O coeficiente de correlação entre pontos atribuídos às plantas e número médio de galhas nas observações efetuadas 60 dias após a germinação, nos dois experimentos, foi de 0,99,

havendo correlação positiva e significativa. Isto demonstra boa concordância entre os dois parâmetros estudados. Resultados semelhantes foram obtidos no experimento de Campinas, em observações efetuadas cinco meses após a germinação.

Amostras de raízes coletadas nos dois experimentos foram analisadas em laboratório, tendo-se verificado apenas a espécie **M. exigua** nas mesmas.

4 — DISCUSSÃO e CONCLUSÕES

Deve-se ressaltar que no presente trabalho não houve a preocupação de estimar a população de nematóide utilizada para a infestação. Apenas fizeram-se infestações em areia com elevado número de nematóides. O emprego de terra de local com nematóides, utilizada com sucesso anteriormente (7), não foi eficiente devido, provavelmente, ao pequeno tempo decorrido entre a infestação e a avaliação. Normalmente, quando se utiliza terra de local com nematóides é requerido um tempo maior para a avaliação do que aquele utilizado no presente trabalho. As infestações feitas através de emprego de pedaços de raízes contendo galhas ou associadas com suspensão de ovos e larvas foram, em geral, mais eficientes devido ao fato de ser a liberação das larvas mais gradativa, evitando que as mesmas fossem levadas para longe das

raízes pela água de irrigação, como quando a infestação era feita só com a suspensão de larvas e ovos. Haja vista que cinco meses após a germinação dos cafeeiros não se verificou diferença estatística significativa daqueles métodos de infestação com a utilização somente de suspensões de ovos e larvas. Provavelmente no espaço de três meses houve reinfestações próprias, devido ser em torno de 25 dias o ciclo de vida do nematóide, nas condições ambientes onde se encontravam os experimentos (10).

A boa concordância entre pontos atribuídos às plantas utilizadas para medir o grau de infecção e o número médio de galhas, com coeficiente de correlação 0,99, mostra que se pode utilizar o grau de infecção na seleção de plantas resistentes por ser mais rápida e fácil a sua determinação.

O presente trabalho indica a possibilidade de se efetuar a infestação de **M. exigua** em areia, facilitando sobremaneira o exame do sistema radicular das plantinhas analisadas. Outra indicação é a possibilidade de a leitura para avaliação da resistência poder ser feita dois meses após a germinação do cafeeiro. Estas informações são de interesse para os trabalhos de melhoramento visando resistência ao nematóide **M. exigua**, em vista de se poder abreviar, consideravelmente, o tempo para seleção de numeroso material em estudo.

EVALUATION OF FOUR SCREENING METHODS FOR RESISTANCE
TO MELOIDOGYNE EXIGUA IN COFFEE SEEDLINGS

SUMMARY

Four methods of infestation namely: a) sand infestation with small pieces of root-knots; b) irrigation of sand with nematode eggs and larvae; c) the combination of a and b, and d) soil infested plus sand, were compared to develop a screening method for the evaluation of resistance of coffee seedlings to *Meloidogyne exigua*.

Seedlings of Mundo Novo cultivar belonging to the *Coffea arabica* species were obtained by sowing seeds in plastic trays containing sand.

A five point scale was used to determine the intensity of the nematode attack with grades 1 and 5 indicating absence of the parasite and abundant gall formation, respectively.

The infestation of sand with small pieces of diseased roots plus the irrigation of the trays with a suspension of nematode eggs and larvae during the development of the seedlings resulted in abundant gall formation 60 days after the first sand infestation.

The evaluation made 150 days after the seed germination showed that methods a, b and c were effective in inducing a severe attack of the seedlings.

The data obtained indicate clearly the possibility of screening coffee seedlings for resistance to *M. exigua*, by using sand infested through small pieces of root-knots and irrigation with nematode eggs and larvae.

LITERATURA CITADA

1. ARRUDA, H. V. & REIS, A. J. Redução nas duas primeiras colheitas de café, devido ao parasitismo de nematóides. *Biológico* 28(12):349, 1962.
2. BAILEY, D. M. The seedling test method for root-knot nematode resistance. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 38:573-575, 1940.
3. BARRONS, K. C. A method of determining root-knot resistance in beans and cowpeas in the seedling stage. *J. agric. Res.* 57:363-370, 1933.
4. CARVALHO, A.; MONACO, L. C. & VAN DER VOSSSEN, H. A. M. Café icatu como fonte de resistência a *Colletotrichum coffeanum*. *Bragantia* 35:343-347, 1976.
5. CURI, S.M. *Coffea canephora* var. *Kouillou*, promissora fonte de resistência genética no controle de nematóide do cafeeiro, *Meloidogyne exigua*. *Biológico* 35(1):21-22, 1969.
6. ———; CARVALHO, A.; MORAES, F. P.; MONACO, L. C. & ARRUDA, H. V. Novas fontes de resistência genética de *Coffea* no controle do nematóide do cafeeiro, *Meloidogyne exigua*. *Biológico* 36(10):293-295, 1970.
7. FAZUOLI, L. C. Resistência de *Coffea racemosa* ao *Meloidogyne exigua*. *Ciência e Cult.*, S. Paulo 27(7):230, 1975. (Resumo)
8. ———; MONACO, L. C.; CARVALHO, A. & SCALI, M. H. Estudo da resistência de cafeeiros a nematóides. I Reunião de Nematologia. Sociedade bras. Nematologia 1:25-26, 1974.
9. HASHIZUME, H.; PAULINI, A. E.; ANDRADE, I. P. R.; MATIELLO, J. B. & ABREU, R. G. Aplicação de nematicidas na cova de plantio de café para controle do nematóide *Meloidogyne exigua*. In: Terceiro Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Curitiba, PR 3: 126-128, 1975.

10. LORDELLO, L. G. E. Nematóides das plantas cultivadas. 2.ª ed. S. Paulo, Livraria Nobel, 1973. 197p.
11. ———. Nematode pests of coffee. In: Webster, J. M. ed., Economic Nematology. New York, Academic Press, 1972. p.268-284.
12. NEWHALL, A. G. & STARK Jr., F. L. Chloropicrin and ethylene dichloride for root-knot nematode control. *Phytopathology* 32:626-630, 1942.
13. PAULINI, A. E.; ALVARENGA, G.; MATIELLO, J. B.; HASHIZUME, H. & MIGUEL, A. E. Teste de eficiência de nematicidas no controle de *Meloidogyne exigua* em cafezal adulto. In: Terceiro Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Curitiba, PR 3:279-281, 1975.
14. SASSER, J. N. Studies on control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) with Systox spray (E-1059) an organic phosphate insecticide. *Plant Dis. Reprtr* 36(6): 228-233, 1952.
15. SCHIEBER, E. Nematodos que atacan el café en Guatemala, su distribución, sintomatología y control. *Turrialba* 16(2):130-135, 1966.
16. ——— & SOSA, O. N. Nematodes on coffee in Guatemala. *Plant Dis. Reprtr* 44(9):722-723, 1960.
17. SMITH, A. L. The reaction of cotton varieties to fusarium wilt and root-knot nematode. *Phytopathology* 31:1099-1107, 1941.
18. ——— & TAYLOR, A. L. Field methods of testing for root-knot infestation. *Phytopathology* 37:85-93, 1947.
19. STARK Jr., F. L.; BERT, L. & NEWHALL, A. G. Comparison of soil fumigants for the control of the root-knot nematode. *Phytopathology* 34:954-965, 1944.