



# Avaliação dos danos causados a *Coffea arabica* por uma população de *Pratylenchus coffeae* não patogênica a cafeeiro

Melissa D. Tomazini, Luiz C.C.B. Ferraz & Mário M. Inomoto

Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Universidade de São Paulo, ESALQ, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil

Autor para correspondência: Mário M. Inomoto, e-mail: mminomot@esalq.usp.br

## RESUMO

Dois experimentos em casa de vegetação foram realizados com o objetivo de se avaliar os danos causados ao cafeeiro (*Coffea arabica*) pela população  $M_2$  de *Pratylenchus coffeae*, supostamente não patogênica a cafeeiros. Pelo experimento 1, com cafeeiro 'Catuaí Vermelho' em estágio de dois pares de folhas e utilizando as densidades iniciais de 0, 333, 1.000, 3.000 e 9.000 nematoides por planta, foi demonstrado que a população  $M_2$  causa danos a cafeeiros jovens, apesar de não ser capaz de se reproduzir em suas raízes. No experimento 2, mantendo a cultivar e as densidades populacionais do nematoide, mas com plantas em estágio de seis pares de folhas, evidenciou-se que  $M_2$  não é capaz de causar danos. Portanto, comprovou-se que  $M_2$  é uma população de *P. coffeae* não patogênica a cafeeiro arábico, por não se reproduzir em tal hospedeiro, mas que, em plantas jovens, provavelmente causa danos durante a primeira geração.

**Palavras-chave:** *Aglaonema*, densidades, diversidade, habilidade reprodutiva, penetração nas raízes, virulência.

## ABSTRACT

**Evaluation of damage caused on *Coffea arabica* by a population of *Pratylenchus coffeae* considered non-pathogenic on coffee**

Two greenhouse experiments were carried out in order to evaluate the damage caused on Arabica coffee (*Coffea arabica*) by an  $M_2$  population of *Pratylenchus coffeae*, apparently non-pathogenic to coffee. Experiment 1, with 'Catuaí Vermelho' coffee at stage of two leaf pairs and with the initial nematode densities ( $P_i$ ) of 0; 333; 1,000; 3,000; and 9,000 per plant, demonstrated that  $M_2$  can damage young coffee plants, although it is unable to reproduce on coffee roots. Experiment 2, with the same coffee cultivar and nematode densities, but with plants at stage of six leaf pairs, showed that the  $M_2$  population was unable to cause damage. Therefore, it was established that  $M_2$  is a population of *P. coffeae* without reproduction on Arabica coffee, which causes damage only in the first generation on young coffee below stages of six leaf pairs.

**Keywords:** *Aglaonema*, densities, diversity, reproductive fitness, root penetration, virulence.

Há indícios que *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & S. Stekhoven, 1941 seja composto por populações com elevada diversidade biológica, evento exemplificado pela resposta do próprio cafeeiro, sua planta hospedeira típica. No Brasil, ocorre a população  $K_5$  (Duncan et al., 1999), indubitavelmente patogênica a cafeeiros, pois apresenta habilidade reprodutiva (*reproductive fitness*) e alta virulência em *Coffea arabica* L. e *C. canephora* Pierre (Kubo et al., 2003; Tomazini et al., 2005). Por habilidade reprodutiva entende-se a capacidade de o nematoide reproduzir-se em uma planta e por virulência a quantidade de dano causada pelo nematoide à planta hospedeira (Shaner et al., 1992). Outra população comum no Brasil é  $M_2$  (Duncan et al., 1999), que possivelmente não é patogênica ao cafeeiro,

pois aparentemente não apresenta habilidade reprodutiva em *C. arabica* (Silva et al., 2002; Kubo et al., 2003). Dúvidas em relação à sua patogenicidade ao cafeeiro existem porque experimentos em casa de vegetação mostraram que altas densidades iniciais de  $M_2$  causam redução do crescimento de plântulas de *C. arabica* (Kubo et al., 2003). O objetivo do presente trabalho foi exatamente elucidar essa questão, por meio da avaliação do efeito de diferentes densidades iniciais de  $M_2$  no crescimento de plantas de *C. arabica* com duas diferentes idades (plântulas – com dois pares de folhas; mudas formadas – com seis pares de folhas).

A população  $M_2$ , morfologicamente indistinguível de outras populações de *P. coffeae* e isolada de raízes da arácea ornamental *Aglaonema* sp., foi multiplicada em laboratório em calos de alfafa (Riedel et al., 1973). O inóculo de  $M_2$  foi obtido a partir de calos com 45 a 90 dias (a contar da repicagem), processados para extração dos nematoides pelo método de Baermann modificado para recipiente raso

Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora. Universidade de São Paulo, ESALQ, Piracicaba SP, 2004.

(Hooper, 1986). A suspensão aquosa resultante foi calibrada sob microscópio óptico e com auxílio de lâmina de Peters.

Plântulas de *C. arabica* 'Catuaí Vermelho' foram obtidas de sementes germinadas em caixas plásticas de 40 L contendo areia desinfestada por calor úmido (120°C por 2 horas) e mantidas em casa de vegetação. Ao atingirem o estágio de "orelha de onça", cada uma delas teve as raízes podadas, deixando-se 7 cm da raiz principal, e foram transplantadas, à razão de uma para cada copo plástico de 500 cm<sup>3</sup> de capacidade e contendo 450 cm<sup>3</sup> de substrato desinfestado com brometo de metila (150 mL de CH<sub>3</sub>Br para 1 m<sup>3</sup> de substrato).

O experimento 1 foi realizado com plantas com dois pares de folhas verdadeiras (plântulas) e com delineamento inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos quantitativos [densidades iniciais (Pi) de 0, 333, 1.000, 3.000 e 9.000 nematoides, entre juvenis e adultos de *M<sub>2</sub>*, por copo contendo uma plântula] e oito repetições. A inoculação deu-se pela pipetagem do inóculo na rizosfera de cada planta, em dois orifícios abertos a 2 cm do caule; para as plantas que não receberam inóculo, adicionou-se água destilada nos orifícios. A avaliação deu-se 21 semanas após a inoculação, pela mensuração das variáveis (1) altura das plantas, (2) massa fresca das raízes, (3) massa seca da parte aérea das plantas e (4) fator de reprodução (FR) do nematoide. A altura foi determinada com auxílio de régua e considerada como a distância no caule entre a base e o ponto de emissão do último par de folhas. Depois de retiradas dos recipientes, as plantas tiveram as raízes separadas da parte aérea. Os órgãos aéreos foram colocados em sacos de papel e levados para estufa a 70°C, onde foram mantidos até se ter valores constantes de massa seca. Para obtenção dos valores de massa fresca das raízes, estas foram lavadas sob água corrente e deixadas para secar à sombra por 30 minutos. A densidade final (Pf) de *M<sub>2</sub>* foi estimada pela contagem dos exemplares extraídos das raízes (Coolen & D'Herde, 1972) e solo (Jenkins, 1964). Os dados obtidos foram analisados com auxílio do aplicativo computacional *Sanest* (ESALQ/USP, Piracicaba SP), procedendo-se inicialmente à análise de variância e, quando cabível, à análise de regressão entre as variáveis avaliadas em função das densidades iniciais (Pi).

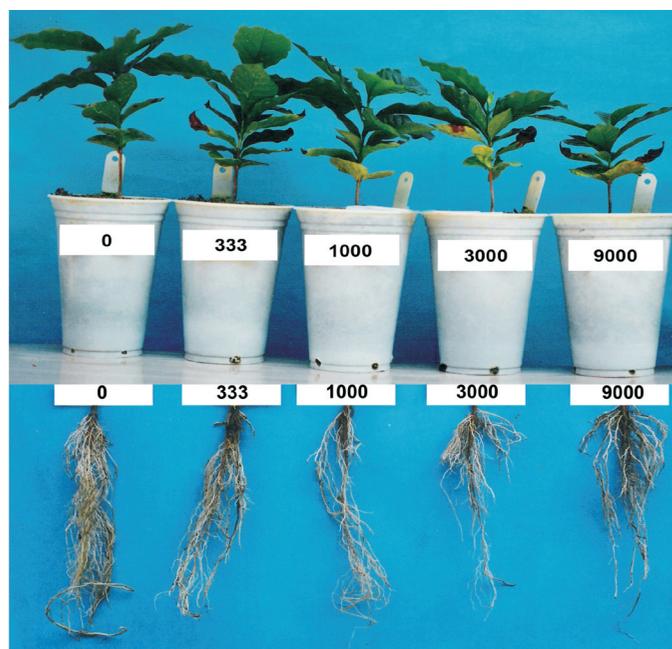
O experimento 2 foi realizado com plantas possuindo seis pares de folhas, correspondentes a mudas em idade de plantio no campo. O delineamento e os tratamentos foram como os do experimento 1, porém com 15 parcelas, que foram utilizadas em avaliações. A primeira foi dez semanas após a inoculação, baseando-se em sete repetições para as variáveis (1), (2) e (3), porém somente quatro para a determinação do FR. As oito parcelas restantes foram transferidas para vasos de plástico de 2,2 L contendo 1,6 L de substrato desinfestado, com a finalidade de observar a progressão dos efeitos causados pelos nematoides por período mais longo. A avaliação final do experimento deu-se 32 semanas após a inoculação, com base em oito repetições para as variáveis de crescimento da planta e quatro para a determinação do FR.

A densidade de *M<sub>2</sub>* decresceu durante o experimento 1 e os valores do FR variaram entre 0,13 (Pi = 9.000) e 0,54 (Pi = 333), indicando ausência ou baixa habilidade reprodutiva de *M<sub>2</sub>* em *C. arabica*. Porém, *M<sub>2</sub>* causou redução no crescimento dos cafeeiros (Figura 1). As equações  $y_H = 10,05 - 0,000281x$  ( $P = 0,0002$ ),  $y_R = 1,45 - 0,000092x$  ( $P = 0,0014$ ) e  $y_{PA} = 1,075 - 0,000039x$  ( $P = 0,019$ ) representam as relações lineares entre a altura dos cafeeiros em centímetros ( $y_H$ ), a massa fresca das raízes em gramas ( $y_R$ ) e a massa seca da parte aérea em gramas ( $y_{PA}$ ) em relação à densidade inicial de *M<sub>2</sub>* ( $x$ ) (Figura 2).

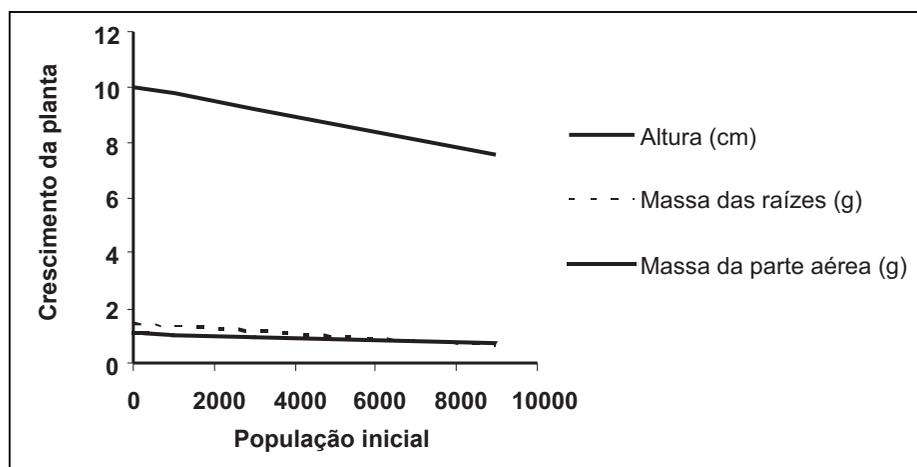
Na primeira avaliação do experimento 2, o FR variou entre 0,05 (Pi = 9.000) e 0,16 (Pi = 3.000); na segunda, entre 0,05 (Pi = 9.000) e 0,18 (Pi = 333). A redução na densidade de *M<sub>2</sub>* entre a inoculação do nematoide e a primeira avaliação, associada à manutenção da densidade entre a primeira e a segunda avaliação, reforçam a hipótese de ausência de habilidade reprodutiva de *M<sub>2</sub>* em *C. arabica*. Ao contrário do verificado no experimento 1, *M<sub>2</sub>* não causou nenhum efeito detectável sobre o crescimento das plantas (Figura 3).

Portanto, os resultados dos dois experimentos são concordes na ausência de habilidade reprodutiva de *M<sub>2</sub>* em *C. arabica*. Assim, *M<sub>2</sub>* não deveria causar efeitos negativos no crescimento das plantas, uma vez que as raízes não são colonizadas. Foi esse o resultado verificado no experimento 2, porém o contrário se deu no experimento 1. A provável explicação para a redução no crescimento de plântulas de *C. arabica* é que seja consequência de danos causados por *M<sub>2</sub>* nas raízes, na primeira e única geração do nematoide, na fase de penetração. Essa explicação também justifica a ausência de sintomas nos cafeeiros do experimento 2, haja vista que, em plantas com seis pares de folhas verdadeiras, provavelmente a quantidade de tecido radicular danificado pela penetração dos nematoides é, em termos proporcionais, menor que naquelas com dois pares de folhas. Provavelmente a emissão de novas raízes compense os danos causados pelos nematoides. De fato, ao final do experimento 1 (21 semanas após inoculação), as plantas que receberam Pi de 9.000 apresentaram raízes com 0,71 gramas e 1.207 nematoides por grama (médias de oito repetições). Por outro lado, na primeira avaliação do experimento 2 (dez semanas após inoculação), as plantas da Pi de 9.000 apresentaram raízes com 14,57 gramas (média de sete repetições) e somente 32 nematoides por grama (média de quatro repetições); na segunda avaliação (32 semanas após inoculação), as plantas da Pi de 9.000 tinham raízes com 51,22 gramas (média de oito repetições) e somente 3 nematoides por grama (média de quatro repetições).

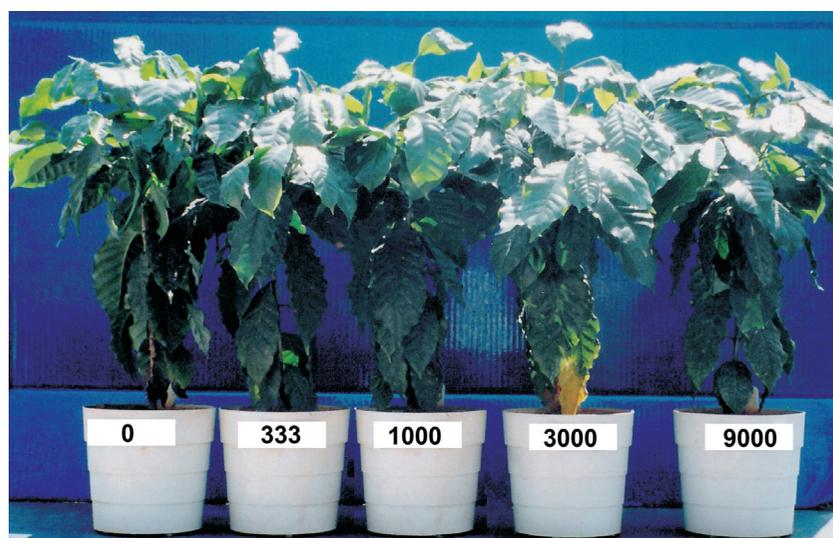
Em termos práticos, os presentes resultados são particularmente interessantes por demonstrarem que *M<sub>2</sub>* pode causar danos a cafeeiros muito jovens, na eventualidade de se utilizar solos infestados com o nematoide na preparação do substrato para mudas. Como *M<sub>2</sub>* apresenta habilidade reprodutiva em várias plantas cultivadas, por exemplo *Aglaonema* sp., abóbora, berinjala, gergelim, meloeiro



**FIGURA 1** - Experimento 1: aspecto da parte aérea e das raízes de cafeeiro arábico ao final de 21 semanas da inoculação, efetuada no estágio de dois pares de folhas (plântula) e com diferentes densidades da população  $M_2$  de *Pratylenchus coffeae* (0; 333; 1.000; 3.000 e 9.000 nematóides por plântula).



**FIGURA 2** - Representação gráfica do crescimento dos cafeeiros do experimento 1 ao final de 21 semanas da inoculação, efetuada no estágio de dois pares de folhas (plântula) e com diferentes densidades da população  $M_2$  de *Pratylenchus coffeae* (0; 333; 1.000; 3.000 e 9.000 nematóides por plântula).



**FIGURA 3** - Experimento 2: aspecto da parte aérea de cafeeiro arábico ao final de 32 semanas da inoculação, efetuada no estágio de seis pares de folhas (muda formada) e com diferentes densidades da população  $M_2$  de *Pratylenchus coffeae* (0; 333; 1.000; 3.000 e 9.000 nematóides por planta).

e soja (Silva & Inomoto, 2002), o uso de solo cultivado com tais plantas para a formação do substrato de mudas de café poderá resultar em atraso na liberação das mudas para plantio ou mesmo sua rejeição. Porém, o plantio de mudas bem desenvolvidas (a partir de seis pares de folhas) em solos infestados com  $M_2$  provavelmente não trará efeitos deletérios significativos.

É preciso destacar que a presença de populações de *P. coffeae* morfologicamente indistinguíveis, mas com propriedades biológicas altamente conflitantes, traz uma questão importante a ser resolvida, que é a necessidade do desenvolvimento de técnicas de laboratório acuradas que permitam sua rápida diferenciação. Por enquanto, a população  $K_5$ , que também ocorre no Brasil e se reproduz intensamente em *C. arabica* e *C. canephora*, causando elevadas perdas tanto em condições controladas como no campo, somente pode ser diferenciada de  $M_2$  a partir de testes de casa de vegetação, que demandam pelo menos três meses para sua conclusão.

#### AGRADECIMENTOS

A primeira autora agradece à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Coolen WA, D'Herde CJ (1972) A Method for the Quantitative Extraction of Nematodes from Plant Tissue. Editora Ghent. State Nematology and Entomology Research Station.

Duncan LW, Inserra RN, Thomas WK, Dunn D, Mustika I, Frisse LM, Morris K, Kaplan DT (1999) Molecular and morphological analyses of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely related species. *Nematropica* 29:61-80.

Hooper DJ (1986) Extraction of free-living stages from soil. In: Southey JF (Ed.) *Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes*. London UK. Her Majesty's Stationery Office. pp. 5-30.

Jenkins WR (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48:692.

Kubo RKK, Silva RA, Tomazini MD, Oliveira CMG, Mazzafera P, Inomoto MM (2003) Patogenicidade de *Pratylenchus coffeae* em plântulas de café cv. Mundo Novo. *Fitopatologia Brasileira* 28:41-48.

Riedel RM, Foster JG, Mai WF (1973) A simplified medium for monoxenic culture of *Pratylenchus penetrans* and *Ditylenchus dipsaci*. *Journal of Nematology* 5:71-72.

Shaner G, Stromberg EL, Lacy GH, Barker KR, Pirone TP (1992) Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. *Annual Review of Phytopathology* 30:47-66.

Silva RA, Inomoto MM (2002) Host-range characterization of two *Pratylenchus coffeae* isolates from Brazil. *Journal of Nematology* 34:135-139.

Tomazini MD, Silva RA, Oliveira CMG, Gonçalves W, Inomoto MM (2005) Resistência de genótipos de cafés a *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Brasileira* 29:193-198.

---

TPP 9070 - Recebido 26 Maio 2009 - Aceito 20 Novembro 2009  
Editor de Seção: Regina Maria D.G. Carneiro