

## CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOQUÍMICA DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne* spp. EM CAFEZEIROS NA ZONA DA MATA DE MINAS GERAIS

OLIVEIRA, D.S.<sup>1</sup>; LIMA, R.D.<sup>1</sup>; ROESE, A.D.<sup>1</sup> e SILVA, R.V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UFV, Av. P. H. Rolfs, s/n, 36571-000, Viçosa, MG; < ms40179@correio.cpd.ufv.br >

**RESUMO:** A ampla disseminação de nematóides do gênero *Meloidogyne* nas áreas cafeeiras de Minas Gerais requer o conhecimento da etiologia do patógeno para a escolha das medidas mais apropriadas para seu controle. O objetivo deste trabalho foi caracterizar populações de *Meloidogyne* spp. presentes em áreas de cultivo de cafeeiro na Zona da Mata Mineira, por meio de estudos morfológicos e bioquímicos. Todas as 53 populações estudadas foram identificadas como *Meloidogyne exigua*, tanto pelos padrões perineais como pelo fenótipo isoenzimático de esterase. Onze populações apresentaram padrões de esterase de uma banda (VF1), fenótipo típico para *M. exigua*, enquanto a maioria das populações, 79%, apresentou o fenótipo de duas bandas. Estudos mais detalhados das populações de *M. exigua* presentes nas lavouras cafeeiras de Minas Gerais e de outros Estados brasileiros devem ser realizados, em busca de possíveis raças.

**Palavras-chave:** *Meloidogyne exigua*, identificação, esterase.

### MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF MELOIDOGYNE SPP. POPULATIONS IN COFFEE PLANTATIONS OF ZONA DA MATA OF MINAS GERAIS

**ABSTRACT:** The correct identification of the species and/or race of *Meloidogyne* spp. is an area extremely importance of the decision of measures adapted in the control of this pathogen. This study was carried out in order to characterize populations of *Meloidogyne* spp. from coffee crops in the through morphologic studies and isohyets phenotypes. All the 53 populations studied were identified as *Meloidogyne exigua* considering the perineal pattern. This characterization was confirmed by the esterase phenotypes. Eleven populations presented the typical esterase phenotype showed by one band (VF1), while most of the populations (79%) exhibit a phenotype showing two bands. Further studies of the *M. exigua* populations from Minas Gerais coffee crops should be carried out to identify additional races.

**Key words:** *Meloidogyne exigua*, identification, esterase.

## INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café (FAO, 2000). O Estado de Minas Gerais lidera a produção, com 1,71 milhão de toneladas numa área de 921 mil hectares, contribuindo assim com cerca de 50% da produção nacional. Das regiões cafeeiras do Estado, vale salientar a importância da Zona da Mata, pela sua significativa participação, possuindo uma área cultivada de 244,6 mil hectares, com um número de 26.900 propriedades e 4.700.900 pés de café (IBGE, 2000). Dentre as diversas limitações à produtividade do cafeeiro nessa região e em outras áreas produtoras, merecem especial atenção os danos causados por fitonematóides, sendo o gênero *Meloidogyne* o mais importante para a cultura, devido à sua ampla distribuição nos cafezais e sua alta capacidade reprodutiva. Os nematóides desse gênero são de difícil controle, sendo quase impossível erradicá-los quando presentes nas lavouras (Campos & Lima, 1986). Atualmente, a principal forma de controle de *Meloidogyne* spp. em cafeeiro é o uso de porta-enxertos resistentes, o que torna imprescindível o conhecimento de espécies e, em alguns casos, de raças presentes na área de cultivo. A taxonomia tradicional, baseada em caracteres morfológicos, especialmente configuração perineal, tem suscitado dúvidas nos resultados e, por isso, técnicas bioquímicas, por meio de eletroforese de isoenzimas, vêm sendo exploradas para dirimir tais dúvidas. Logo, o objetivo do presente trabalho foi caracterizar populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de áreas de cultivo de cafeeiro na Zona da Mata mineira, por meio de estudos morfológicos e isoenzimáticos.

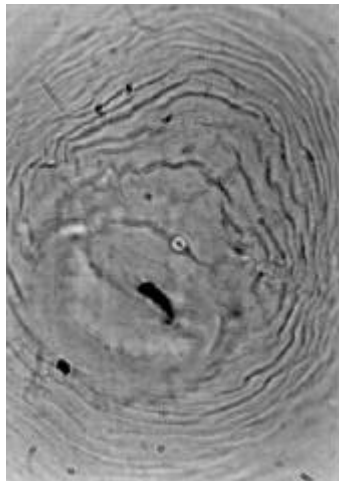
## MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das populações de *Meloidogyne* spp. foi feita em municípios selecionados de acordo com o tamanho do seu parque cafeeiro. As amostras de solo e raízes foram coletadas em cafezais com conhecida existência de problemas causados por *Meloidogyne* spp. e encaminhadas para o Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Viçosa. Os ovos de *Meloidogyne* spp. foram extraídos das raízes, segundo Hussey & Barker (1973), e posteriormente inoculados em mudas de cafeeiro ‘Catuaí’ ou ‘Mundo Novo’, para multiplicação em casa de vegetação. Para obtenção dos dados morfológicos, cerca de 10 fêmeas de cada população multiplicada em casa de vegetação foram preparadas para estudos da configuração perineal, conforme Taylor & Netscher (1974), em que as fêmeas tiveram sua

região posterior cortada, limpa em ácido láctico 45% e montada em glicerina, para avaliação em microscópio óptico. Na caracterização bioquímica das populações foram utilizados os padrões da isoenzima esterase. Para isso, fêmeas adultas, branco-leitosas, foram removidas do interior das galhas das mudas de cafeeiro e colocadas em microtubos de 0,2 mL contendo 3  $\mu$ L de solução-tampão, para extração de proteínas (Dalmaso & Bergé, 1978). Após a trituração das fêmeas com o auxílio de um bastão de vidro, fez-se a aplicação do extrato em fitas de papel-filtro Whatman 3 MM (1,5 x 4,0 mm), localizadas no interior das cavidades do gel de poliacrilamida. A corrida eletroforética e o preparo do gel foram feitos conforme proposto por Carneiro et al. (1996). A revelação da enzima esterase foi realizada segundo Alfnas et al. (1991).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A caracterização morfológica por meio de padrões perineais mostrou que a maioria das populações apresentou configuração típica de *M. exigua* (Figura 1). Por outro lado, as fêmeas das populações provenientes do município de São João do Manhuaçu apresentaram padrões tendendo a *M. arenaria* em mistura com *M. exigua*, mas isso não foi confirmado pelos estudos isoenzimáticos de esterase (Tabela 1), visto que todas as populações estudadas apresentaram fenótipo de *M. exigua*.



**Figura 1** - Padrão perineal típico de *Meloidogyne exigua*.

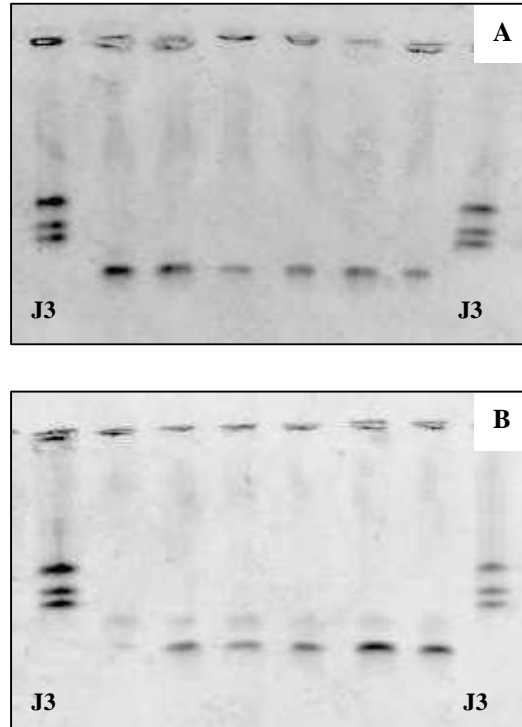
**Tabela 1** - Relação dos municípios produtores de café da Zona da Mata Mineira amostrados, número total de populações caracterizadas e fenótipo de esterase encontrado

Município	N <sup>o</sup> Pop.	Fenótipo	
		1 banda	2 bandas
Alto Jequitibá	3	1	2
Carangola	2	1	1
Divino	2	0	2
Espera Feliz	3	1	2
Farias Lemos	2	0	2
Fervedouro	2	0	2
Lajinha	2	0	2
Manhuaçu	7	2	5
Manhuaçu Mirim	1	0	1
Miradouro	1	0	1
Miraf	2	1	1
Muriaé	2	1	1
Realeza	4	1	3
São F. do Glória	2	1	1
Sant. do Manhuaçu	1	0	1
São J. do Manhuaçu	5	1	4
Outros	12	1	11
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>11</b>	<b>42</b>

O fenótipo de esterase típico para *M. exigua*, VF1, encontrado em 21% das populações estudadas (Figura 2-A), é semelhante ao de *M. naasi*. Esse fenótipo foi descrito por Esbenshade & Triantaphyllou (1985) e até então era o único padrão de esterase conhecido para essas duas espécies. Populações de *M. exigua* que apresentam este fenótipo estão amplamente disseminadas em áreas cultivadas com café no Brasil, inclusive no Estado de Minas Gerais. Naves et al. (2001), estudando a ocorrência de nematóides em cafezais do Sul de Minas Gerais, detectaram *M. exigua* de fenótipo VF1 de esterase em 50% das 538 amostras analisadas, resultados estes bastante diferentes dos encontrados no presente trabalho, pois a grande maioria das populações caracterizadas (79%) apresentou fenótipo de esterase de duas bandas (Figura 2B). Esse fenótipo de duas bandas foi descrito por Carneiro et al. (2000) em populações de *M. exigua* provenientes de cafeeiros da Zona da Mata de Minas Gerais. Na mesma ocasião, estes autores descreveram um outro fenótipo de duas bandas em populações de *M. exigua* coletadas em seringueira no Estado do Mato Grosso do Sul.

A presença exclusiva de *M. exigua* nas amostras estudadas evidencia a ampla disseminação desse patógeno nas áreas cafeeiras do Estado de Minas Gerais. Esse patógeno poderá se tornar uma séria ameaça à cafeicultura mineira na ocasião da substituição das lavouras velhas, pois, apesar da pouca agressividade apresentada em cafeeiros adultos, esse patógeno é extremamente danoso a mudas, principalmente em solos arenosos. Além disso, Carneiro et al. (2000) relataram a existência de

possíveis raças em *M. exigua*, uma vez que algumas populações têm a capacidade de se multiplicar em tomateiro e outras não. Dessa forma, torna-se imprescindível à realização de melhor caracterização das populações de *M. exigua* nas lavouras cafeeiras em busca de possíveis raças, pois essa informação é extremamente importante na escolha do método de controle.



**Figura 2** - Fenótipos de esterase encontrados para as populações de *Meloidogyne exigua*. **A:** fenótipo de uma banda (VF1); **B:** fenótipo de duas bandas; **J3:** fenótipo de esterase de *M. javanica* utilizado como padrão de comparação.

## CONCLUSÕES

*M. exigua* foi a única espécie de nematóides das galhas encontrada parasitando cafeeiros nos municípios avaliados da Zona da Mata Mineira, e esta apresentou dois diferentes fenótipos de esterase: o VF1, em 21%, e outro de duas bandas, em 79% das amostras.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALFENAS, A.C.; PETERS, L.; BRUNE, W. & PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa, Sociedade de Investigações Florestais, p.242. 1991.

- CAMPOS, V.P. & LIMA, R.D. Nematóides parasitas do cafeeiro. In: RENA, A.B., MALAVOLTA, E., ROCHA, M. & YAMADA, T. (ed.). **Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba, SP, p.379-389. 1986.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. & PATRICK QUÉNÉHERVÉ. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. Populations. *Nematology*, 2 (6): 645-654. 2000.
- CARNEIRO, R.M.D.; ALMEIDA, A.R.A. & CARNEIRO, R.G. Enzyme phenotypes of Brazilian isolates of *Meloidogyne* spp. **Fundamental and Applied Nematology**, 19: 555-560. 1996.
- DALMASSO, A. & BERGÉ, J.B. Molecular polymorphism and phylogenetic relationship in some *Meloidogyne* spp.: application to the taxonomy of *Meloidogyne*. **Journal Nematology**, 10: 323-332. 1978.
- ESBENSHADE, P.R. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species (Nematoda: Tylenchida). **Journal of Nematology**, 17: 6-20. 1985.
- FAO:<http://apps.fao.org/page/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&language=EM&hostname=apps.fao.org&version=default>>2000.
- HUSSEY, R.S. & BARKER, K.R. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, 57: 1025-1028. 1973.
- IBGE:<http://www.ibge.gov.br/estatistica/indicadores/agropecuaria/1spa/default.shtm>2000.
- NAVES, R.L.; CAMPOS, V.P.; DUTRA, M.R.; COIMBRA, J.L. & ANDRADE JUNIOR, V.C. Ocorrência de nematóides em cafezais do sul de Minas Gerais. In: Congresso Brasileiro de Nematologia, 23. Garça, 2001. **Resumos...** Garça, SP, 2001.
- TAYLOR, D.P. & NETSCHER, C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica*, 20: 268-269. 1974.