

LEVANTAMENTO PARCIAL DE ESPÉCIES DE *Meloidogyne* EM CAFEEIROS NA REGIÃO DO ARENITO (NOROESTE) DO ESTADO DO PARANÁ¹

Dhalton Shiguer Ito²; Andressa Cristina Zamboni Machado²; Santino Aleandro da Silva³; Orazilia Franca Dorigo³; Cristiane Gonçalves Gardiano⁴; Danielle Mattei⁵

¹Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café.

²Pesquisadores, DSc, IAPAR, Londrina, PR. ito@iapar.br / andressa_machado@iapar.br;

³Agentes de Ciência e Tecnologia, IAPAR, Londrina, PR. santino@iapar.br; orazilia@iapar.br;

⁴Bolsista FAPEAGRO, DSc, IAPAR, Londrina, PR. cris_gardiano@yahoo.com.br;

⁵Discente, Mestrado em Agronomia, UEM, Umuarama, PR. dani.mattei@hotmail.com.

RESUMO: No Estado do Paraná, a região do arenito (noroeste) é importante na produção de café. Entretanto, os nematoides têm causado severos danos às lavouras, levando grandes prejuízos à cafeicultura. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento da distribuição dos nematoides nas lavouras cafeeiras da região noroeste do Paraná. 26 amostras de solo e raízes foram coletadas de cafezais localizados nos municípios de Altônia, Alto Paraná, Cianorte, Cambira, Esperança Nova, Munhoz de Melo, Lupionópolis, Perobal, Pérola, São Jorge do Patrocínio e São Tomé, em lavouras de café com sintomas da presença de nematoides. Do total de amostras analisadas, 19 (73,1%) continham *Meloidogyne paranaensis*, quatro (15,4%) *M. incognita*, uma (15,4%) a mistura de *M. paranaensis* e *M. incognita* e duas (7,7%) contendo a mistura de *M. incognita* e *M. javanica*. O principal nematoide presente na região do arenito do estado do Paraná é *M. paranaensis*. Estes resultados auxiliam no mapeamento da distribuição dos nematoides nas regiões cafeeiras do estado.

PALAVRAS-CHAVE: Cafeicultura, identificação, nematologia, nematoide de galhas.

PARTIAL LIST OF SPECIES OF *Meloidogyne* ON COFFEE IN THE REGION OF SANDSTONE (NORTHWEST) OF PARANA STATE

ABSTRACT: In Paraná State, Brazil, the sandstone region (northwest) is important in coffee production. However, nematodes have been causing great losses for the coffee crop. The aim of this study was to carry out a survey on the distribution of nematodes in coffee crops in the northwestern of Paraná. 26 samples of soil and roots were collected from coffee crops located in the towns of Altônia, Alto Paraná, Cianorte, Cambira, Esperança Nova, Munhoz de Melo, Lupionópolis, Perobal, Pérola, São Jorge do Patrocínio and São Tomé, in coffee with nematodes presence symptoms. In the total of samples analyzed, 19 (73.1%) contained *Meloidogyne paranaensis*, four (15.4%) *M. incognita*, one (15.4%) of the mixture *M. incognita* and *M. paranaensis* and two (7.7%) containing the mixture *M. incognita* and *M. javanica*. The main nematode present in the sandstone region of Paraná state is *M. paranaensis*. These results will help in mapping the distribution of nematodes in the coffee regions of the state.

KEY WORDS: Coffee crop, identification, nematology, root knot nematodes.

INTRODUÇÃO

O polígono do Arenito Caiuá, localizado no noroeste do Paraná, é uma importante região produtora de café do estado. Entretanto, o cultivo de café em diversas propriedades vêm sofrendo prejuízos pela presença de nematoides do gênero *Meloidogyne*, pois provocam envelhecimento precoce e morte prematura das plantas (ZAMBOLIM, et al., 1997).

Segundo Carneiro et al., (1992) os fitonematoides que causam mais danos ao café no estado são o *M. paranaensis* e as raças 1, 2, 3 e 4 de *M. incognita*, sendo observadas com maior frequência as espécie *M. paranaensis* e as raças 1 e 2 de *M. incognita*. Entretanto, também foram constatados *M. exigua* e *M. coffeicola* (CAMPOS; VILLAIN, 2005). Estudos realizados por Carneiro e Almeida (2000), indicaram um substancial aumento da distribuição de *M. paranaensis* (70%) e decréscimo de *M. incognita* (30%) no estado. Campos e Villain (2005) relatam que é observada frequentemente a predominância de misturas entre espécies e raças em várias propriedades infestadas por nematoides.

O objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento da distribuição dos nematoides nas lavouras cafeeiras da região noroeste do Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram em coletadas em cafezais localizados na região noroeste do Paraná, entre junho e agosto de 2012. As propriedades encontram-se nos municípios de Alto Paraná (01 amostra), Altônia (06), Cambira (01), Cianorte (01), Esperança Nova (01), Munhoz de Melo (01), Perobal (02), Pérola (01), São Jorge do Patrocínio (11) e Xambrê (01), totalizando 26 amostras (Tabela 1). Estas foram constituídas por raízes (entre 10 a 50 g) e solo (500 a 1000 g) extraídos

da rizosfera, obedecendo ao diâmetro das plantas. A profundidade foi de 0 a 30 cm, faixa onde os nematoides geralmente estão localizados (NORTON; NIBLACK, 1991).

Após a coleta, o material para análise foi acondicionado em sacos plásticos, contendo todos os dados necessários para identificação, sendo armazenado em caixas térmicas para manutenção da temperatura durante o transporte até o laboratório.

Para a extração dos nematoides, cada amostra de solo foi homogeneizada manualmente, obtendo-se alíquotas de 50 cc, segundo metodologia do Funil de Baermann (BAERMANN, 1917). Já as raízes, foram processadas em quantidades de 10 a 20 g, obedecendo ao protocolo de Bonetti e Ferraz (1981).

Para a constatação de *Meloidogyne spp.*, fêmeas de coloração branco leitosa foram extraídas em microscópio estereoscópico com auxílio de agulha histológica. A caracterização bioquímica das diferentes populações de *Meloidogyne spp.*, procedeu-se utilizando a isoenzima esterase (CARNEIRO; ALMEIDA, 2001; Alfenas et al., 2006). Deste modo, foram transferidas oito fêmeas do nematoide de cada amostra para tubos microematócritos, contendo 2 a 3 µl de tampão de extração (20 g de sacarose, 1 g de Triton X 100 e 100 ml de água destilada). As amostras foram maceradas, acrescidas de 2 a 3 µl de azul de bromofenol a 0,01% e, separadamente, aplicadas em gel concentrador de poliacrilamida. Em cada gel, uma amostra do macerado de *M. javanica* foi incluída como padrão de comparação dos fenótipos obtidos. Posteriormente, o gel foi acomodado em uma cuba, mantida em balcão frigorífico entre 4 a 8 °C, sendo a corrida eletroforética conduzida no sistema vertical e descontínuo (ALFENAS et al., 2006), cujas concentrações de bis-acrilamida foram de 7,5% e 4,0% nos géis separador e concentrador, respectivamente. A fonte foi calibrada, inicialmente, para 100V e, quando a linha frontal de azul de bromofenol atingiu o gel separador, foi regulada para 200V.

Terminada a eletroforese (aproximadamente 1,5-2 horas de migração) a fonte foi desligada, transferindo o gel para um recipiente de vidro contendo solução de revelação para enzima esterase (50 ml de solução tampão fosfato, 50 mg de Fast Blue RR Salt e 1,5 ml de α -naftilacetato 1%). O gel permaneceu incubado no escuro a 37 °C por 30 minutos, até revelação das bandas escuras, sendo transferido para solução fixadora (10% de ácido acético e 40% de solução de álcool metílico) por 30 minutos. Logo após, foi disposto entre papéis celofane molhados e colocados sobre placas de vidro para secagem. A identificação dos fenótipos esterásticos de *Meloidogyne spp.* foi realizada pelo cálculo da mobilidade relativa (Rm) das bandas polimórficas de cada população em relação à primeira de *M. javanica* (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990; CARNEIRO; ALMEIDA, 2001), cuja linha divisória entre os géis concentrador e separador foi a referência para as medições. Os fenótipos foram identificados por uma letra e um número que correspondem, respectivamente, à inicial do nome da cultura juntamente com o número de bandas (ESBENSHADE; TRAIANTAPHYLLOU, 1985, 1990).

Como metodologia complementar, 10 fêmeas de cada população foram utilizadas na preparação dos padrões perineais, pela técnica de Taylor e Sasser (1978).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de amostras analisadas, 19 (73,1%) continham *Meloidogyne paranaensis*, quatro (15,4%) *M. incognita*, uma (15,4%) a mistura de *M. paranaensis* e *M. incognita* e duas (7,7%) contendo a mistura de *M. incognita* e *M. javanica* (Tabela 2).

A presença de mistura entre espécies era esperada, pois levantamento semelhante realizado por Krzyzanowski et al. (2001) constataram que, dentre as amostras de solo e raízes coletadas em diversas regiões do estado do Paraná e positivas para nematóide de galhas, 22,8% eram misturas entre espécies e raças do gênero *Meloidogyne*.

Tabela 1. Municípios das lavouras cafeeiras onde foram coletadas as amostras e os nematóides identificados.

Nº da Amostra	Município	Nematóide
01	Alto Paraná	<i>M. paranaensis</i>
02	Altônia	<i>M. incognita</i>
03	Altônia	<i>M. paranaensis</i>
04	Cambira	<i>M. paranaensis</i>
05	Cianorte	<i>M. paranaensis</i>
06	Esperança Nova	<i>M. paranaensis</i>
07	Lupionópolis	<i>M. incognita</i>
08	Lupionópolis	<i>M. paranaensis</i>
09	Lupionópolis	<i>M. paranaensis</i>
10	Munhoz de Mello	<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>
11	Perobal	<i>M. incognita</i>
12	Perobal	<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>
13	Pérola	<i>M. paranaensis</i>
14	São Tomé	<i>M. paranaensis</i>

15	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
16	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
17	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
18	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
19	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
20	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
21	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
22	São Jorge do Patrocínio	<i>M. incognita</i> + <i>M. paranaensis</i>
23	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
24	São Jorge do Patrocínio	<i>M. paranaensis</i>
25	São Jorge do Patrocínio	<i>M. incognita</i>
26	Xambrê	<i>M. paranaensis</i>

Tabela 2. Quantidade e frequência de nematóides encontrados em 26 amostras oriundas da região noroeste do Paraná.

Nematóide	Quantidade	Frequência (%)
<i>M. paranaensis</i>	18	73.1
<i>M. incognita</i>	04	15.4
<i>M. incognita</i> + <i>M. paranaensis</i>	01	3.8
<i>M. incognita</i> + <i>M. javanica</i>	02	7.7

Em levantamento preliminar realizado por Souza et al.(2000) na região do Planalto de Vitória da Conquista e Chapada Diamantina, *Pratylenchus brachyurus* foi encontrado frequentemente junto à *M. exigua* e *M. incognita*, demonstrando possível associação estável entre esses nematóides. Portz et al. (2006), em um levantamento realizado na região Oeste do Paraná, encontrou *M. exigua* parasitando cafeeiros em dois municípios, com frequência de 40 e 45 %. Neste levantamento, não foram encontrados nematóides da espécie *M. exigua*, o que pode indicar que a disseminação na região noroeste do estado do Paraná ainda continua baixa. Também não foram encontrados *P. brachyurus* e *P. coffeae*, responsáveis por danos severos, semelhantes à infestação por *M. incognita* (INOMOTO et al., 2004), encontrados com maior frequência nos cafezais do estado de São Paulo.

Apesar de não causar danos significativos às raízes dos cafeeiros, não foi encontrado também *Rotylenchulus reniformes*, mesmo com sua ampla distribuição no Brasil (KUBO et al., 2009).

Novos trabalhos serão realizados com a finalidade de mapear a distribuição dos nematóides nas regiões cafeeiras do estado do Paraná.

CONCLUSÃO

Este levantamento parcial demonstra que *M. paranaensis* continua sendo o nematoide com maior presença em lavouras cafeeiras na região do arenito do estado do Paraná.

Os resultados permitem a realização de um mapeamento da distribuição dos nematóides nas regiões cafeeiras, podendo colaborar com outras metodologias e programas de melhoramento genético. Consequentemente, possibilitará o auxílio na indicação de cultivares de café melhor adaptadas e resistentes para o plantio em cada área.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAERMANN, G. Eine einfache method zur auffindung von ankvlostomum (Nematoden) larven in erdproben. **Nederlands-Indie**, 57: 131-137, 1917.
- BONETTI, J.I.; FERRAZ, S. Modificações no método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, 6: 533, 1981.
- CAMPOS, V.; VILLAIN, L. Nematode parasites of Coffee and Cocoa. In: M. LUC; R.A. SKORA; J. BRIDGE (eds). **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**, 2nd Edition. 2005. CABI Bioscience, Egham, Surrey, UK., p. 529-580.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, 25: 35-44, 2001.
- CARNEIRO, R. G.; ALTÉIA, A. A. K.; BRITTO, J. A. Levantamento da ocorrência e frequência de espécie e raças fisiológicas de *Meloidogyne* no Noroeste do Paraná 1: núcleo regional da Emater de Paranavaí. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 16., Lavras, 1992. **Anais...** Lavras: ESAL, 1992.
- ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Identification of major *Meloidogyne* species employing enzyme phenotypes as differentiating characters. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Eds.). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Volume I **Biology and Control**. North Carolina State University Graphics, 1985, pp. 135-140.

- ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, 22: 10-15, 1990.
- INOMOTO, M.M.; BELUTI, D.B.; SIQUEIRA, K.M.S.; KUBO, R.K. Efeito de *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne incognita* no crescimento de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho” **Nematologia Brasileira**, v.28, n.2, p143-147, 2004.
- KRZYZANOWSKI, A. A.; FIGUEIREDO, R.; SANTIAGO, D. C.; FAVORETO, L. Levantamento de espécies e raças de *Meloidogyne* em cafeeiros no Estado do Paraná. In: Simpósio de Pesquisas dos Cafês do Brasil, 2, Vitória, ES. **Anais...** Brasília – DF, Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café / EMBRAPA – Café. p. 81, 2001.
- KUBO, R. K.; FUZITA, A. T.; OLIVEIRA, C. M. G. Estudo do parasitismo do nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) em oito genótipos de cafeeiros. In: Simpósio de Pesquisas dos Cafês do Brasil, 6, Vitória, ES. **Anais...** Brasília – DF, Consórcio Pesquisa Café / EMBRAPA – Café, 2009.
- PORTZ, R. L.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; BALBI-PENA, M. I.; FURLANETTO, C. *Meloidogyne* spp. associadas à cafeicultura em municípios do oeste do Paraná. **Nematologia brasileira**, v. 30, n. 1, p. 23-27. 2006.
- SOUZA, S. E.; SANTOS, J. M.; MATOS, R. V.; RAMOS, J. A.; SANTOS, F. S.; FERRAZ, R. C. N.; CARVALHO, G. S.; OLIVEIRA, C. A. Levantamento preliminar de *Meloidogyne* em cafeeiros no estado da Bahia – Planalto de Vitória da Conquista e Chapada Diamantina. In: Simpósio de Pesquisas dos Cafês do Brasil, 1, Poços de Caldas, MG. **Resumos Expandidos**. Brasília – DF, Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café / EMBRAPA – Café, p. 167-170. 2000.
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. do.; PEREIRA, A. A.; CHAVES, G. M. Café (*Coffea arabica* L.). Controle de doenças causadas por fungos, bactérias e vírus. In: VALE, F. X. R. do.; ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV/Brasília - DF: Ministério da agricultura e do abastecimento, 1997. v. 1. p. 83-180.