

**ROSELI DOS REIS GOULART**

**DESENVOLVIMENTO E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE MUDAS DE  
CAFEIRO PARASITADO POR *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis***

**Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós- Graduação  
em Fitopatologia, para a obtenção do título  
de *Doctor Scientiae*.**

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2011**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

G694d  
2011

Goulart, Roseli dos Reis, 1979-  
Desenvolvimento e respostas fisiológicas de mudas de  
cafeeiro parasitado por *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis*  
/ Roseli dos Reis Goulart. – Viçosa, MG, 2011.  
x, 68f. : il. ; 29cm.

Orientador: Rosângela D'arc de Lima Oliveira.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Café – Doenças e pragas. 2. Fotossíntese.  
3. Carboidratos. 4. *Meloidogyne exigua*.  
5. *Meloidogyne paranaensis*. 6. *Coffea*. I. Universidade  
Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 633.7394

ROSELI DOS REIS GOULART

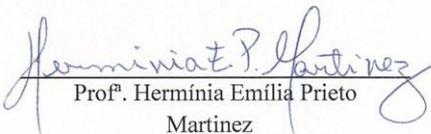
DESENVOLVIMENTO E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS DE MUDAS DE  
CAFFEEIRO PARASITADO POR *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis*

Tese apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
graduação em Fitopatologia, para  
obtenção do título de *Doctor Scientiae*

APROVADA: 27 de maio de 2011.

  
Prof. José Donizeti Alves  
(Co-orientador)

  
Prof. Fabrício de Ávila Rodrigues

  
Prof.ª Hermínia Emília Prieto  
Martinez

  
Dra. Sônia Maria de Lima Salgado

  
Pr.ª Rosângela D'arc de Lima Oliveira  
(Orientadora)

*Ao meu pai, João Justino  
Goulart, por me apoiar em  
tudo que faço na vida,*

*A minha querida mãe,  
Margarida Emília Goulart,  
que me deixou ensinamentos  
preciosos da vida,*

*As minhas irmãs, Claudisse,  
Glória, Rosane e Magnólia  
pelo companheirismo no dia  
a dia.*

*Ao Tiago, pela cumplicidade  
e paciência nos momentos  
difíceis.*

***Eu dedico.***

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por ter me dado forças durante essa jornada.

A toda minha família, por sempre me ajudar em todos os momentos da vida.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao setor de Fisiologia Vegetal e ao setor de Nematologia, por ter me dado a oportunidade de realizar este trabalho.

À Epamig de Lavras, especialmente a Dra Sônia Maria de Lima Salgado, pelo apoio e dedicação para realização dos ensaios.

Ao professor José Donizeti Alves pelos conhecimentos concedidos.

Aos pós-graduandos da Fisiologia Vegetal da Ufla, Meline, Herbert e Camila e ao pós-doutorando Darlan Einsten Livramento, pelo empenho nas atividades relacionadas a tese.

Ao professor Vicente Paulo Campos, que humildemente concedeu seu laboratório para a realização de parte dos trabalhos.

A todos do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais que me ajudaram de alguma forma para concretização deste trabalho.

Em especial, à professora Rosângela D'Arc de Lima Oliveira, pela paciência, dedicação e empenho.

À Universidade Federal de Viçosa pela oportunidade e apoio.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este sonho se tornasse realidade.

## **BIOGRAFIA**

ROSELI DOS REIS GOULART, filha de João Justino Goulart e Margarida Emília Goulart, nasceu em 05 de janeiro de 1979 na cidade de Muzambinho Minas Gerais.

Em março de 2000 ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), graduando-se em março de 2005.

Em março de 2005, iniciou o curso de Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa (UFV), defendendo sua dissertação em fevereiro de 2007.

Em março de 2007, iniciou o curso de Doutorado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa (UFV), defendendo sua tese em maio de 2011.

Em novembro de 2007 foi contratada como professoram efetiva do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia Sul de Minas Gerais.

## SUMARIO

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	3
REFERÊNCIAS.....	7
CAPÍTULO 1	
Respostas fisiológicas do cafeeiro ( <i>Coffea arabica</i> ) a diferentes concentrações de inóculo de <i>Meloidogyne paranaensis</i> e <i>M. exigua</i>	
1- Introdução.....	13
2-Material e métodos.....	15
3-Resultados .....	21
4-Discussão.....	33
4-Referências.....	40
CAPÍTULO 2	
Alterações fisiológicas causadas por <i>Meloidogyne exigua</i> e <i>M. paranaensis</i> ao cafeeiro sob condições de temperatura controlada	
1- Introdução.....	46
2-Material e métodos.....	48
3-Resultados .....	52
4-Discussão.....	57

5-Referências.....	63
CONCLUSÕES GERAIS.....	67

## RESUMO

GOULART, Roseli dos Reis, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2011. **Desenvolvimento e respostas fisiológicas de mudas de cafeeiro parasitado por *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis***. Orientadora: Rosângela D'Arc de Lima Oliveira. Co-orientadores: José Donizeti Alves e Leandro Grassi de Freitas.

Os nematóides do gênero *Meloidogyne* são responsáveis pelas maiores perdas na cultura do cafeeiro. *M. exigua* é a espécie mais disseminada nas lavouras cafeeiras, causando grandes prejuízos. *M. paranaensis* é altamente agressiva, e pode até inviabilizar o cultivo do café em áreas infestadas. Em condições de campo observa-se que o cafeeiro é mais tolerante ao parasitismo de *M. exigua* que *M. paranaensis*. Acredita-se que as alterações fisiológicas e bioquímicas causadas por ambas as espécies no cafeeiro sejam diferentes e influenciadas pelo nível populacional do nematóide. Por isso, investigou-se neste trabalho, o efeito do parasitismo de *M. exigua* e *M. paranaensis* nos processos fisiológicos, bioquímicos e no crescimento do cafeeiro em condições de casa de vegetação e em câmara de crescimento. Plantas de cafeeiro foram inoculadas com diferentes concentrações de inóculo de *M. exigua* (0, 4000, 8000, 16000 e 32000 ovos/planta) e de *M. paranaensis* (0, 8000 e 32000 ovos/planta) em casa-de-vegetação e em câmara de crescimento a 25°C, as plantas de cafeeiro foram inoculadas com 1500 J2 de cada espécie separadamente. Avaliou-se o crescimento das plantas (altura, número de folhas, ramos e diâmetro do caule), a massa da matéria seca (MMS), as taxas fotossintéticas, a condutância estomática, a transpiração, a concentração interna de carbono e nutrientes foliares. Nas raízes do cafeeiro quantificaram-se carboidratos solúveis (açúcares solúveis totais e redutores) e insolúveis (amido) no tecido da galha e em tecidos não infectados de plantas inoculadas, e o número de galhas e ovos de *M. exigua* e *M. paranaensis*. Em casa de vegetação as mudas de cafeeiro apresentaram redução na altura e no número de folhas com o aumento do nível de inóculo de *M. exigua*, a MMS das raízes não sofreu variações significativas entre os tratamentos. O efeito de *M. paranaensis* nestas mesmas variáveis foi mais pronunciado aos oito meses após a

inoculação (MAI). A MMS das raízes reduziu em 38,4% em relação à testemunha. Ambas as espécies de nematóide não interferiram na taxa fotossintética, na transpiração, na condutância estomática e no potencial hídrico do cafeeiro. A concentração dos açúcares solúveis totais, açúcares redutores e amido reduziram com o aumento do nível de inóculo de *M. exigua*. Nas plantas inoculadas com *M. paranaensis* alterações mais pronunciadas ocorreram aos oito MAI, quando as plantas inoculadas com 8000 ovos tinham maior quantidade destes carboidratos que a testemunha, o que não ocorreu naquelas com 32000 ovos. As duas espécies de nematóide interferiram na concentração foliar de alguns nutrientes, em que a concentração foi superior a testemunha. No ensaio em condições de temperatura controlada a 25°C, ambas as espécies provocaram redução na altura das plantas, na transpiração e na condutância estomática. Com relação à taxa fotossintética e a MMS das raízes somente as plantas inoculadas com *M. paranaensis* foram afetadas. Nos tecidos de galhas, as maiores concentrações de açúcares redutores foram observadas para *M. exigua*. Entretanto, ambas as espécies de nematóide reduziram a concentração de amido nos tecidos de galhas e até mesmo nos tecidos não infectados das plantas inoculadas. Para os açúcares solúveis totais, nenhuma alteração foi observada entre os tratamentos. Quanto à concentração foliar de nutrientes, as maiores alterações foram observadas na interação cafeeiro - *M. paranaensis*, com os menores valores para K, Ca, Mn e Fe comparado a testemunha. Para o S, a concentração foi superior nas plantas inoculadas com ambas as espécies de nematóide que a testemunha. Conclui-se que, ambas as espécies de nematóide interferiram no crescimento do cafeeiro, nos processos bioquímicos e na concentração de nutrientes. Entretanto, para as variáveis fisiológicas as alterações só puderam ser verificadas em condições de temperatura controlada.

## ABSTRACT

GOULART, Roseli dos Reis, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, may of 2011. **Development and physiological responses of seedlings of coffee parasitized by *Meloidogyne exigua* and *M. paranaensis***. Advisor: Rosângela D'Arc de Lima Oliveira. Co-advisors: José Donizeti Alves and Leandro Grassi de Freitas.

The nematodes of the genus *Meloidogyne* are responsible for the largest losses in coffee crop. *M. exigua* is the most widespread species in coffee area and causes large losses, but *M. paranaensis*, the most aggressive species, can derail the coffee crop in infested areas. Under field conditions has been observed that the coffee is more tolerant to *M. exigua* parasitism than *M. paranaensis*. It is believed that the physiological and biochemical alterations caused by both species on the coffee are different and can be influenced by the level of the nematode population. In this work we investigated the effect of *M. exigua* and *M. paranaensis* parasitism in physiological and biochemical processes, and on the growth of coffee plant in greenhouse and growth chamber conditions. Coffee plants were inoculated with different inoculum concentrations of *M. exigua* or *M. paranaensis* (0, 4000, 8000, 16000 and 32000 eggs/plant) in greenhouse and in growth chamber at 25 °C, coffee plants were inoculated separately with 1500 J2 of each species. Soluble carbohydrates (soluble sugars and reducing sugars) and insoluble (starch) in the gall tissue and in uninfected tissue of inoculated plants, and the number of galls and eggs of *M. exigua* and *M. paranaensis* were evaluated in the roots of the coffee plants. In the greenhouse, there were reduction in height and number of leaves on coffee seedlings with increasing inoculum level of *M. exigua*, and the DW roots did not change significantly between treatments. The effect of *M. paranaensis* in these same variables was more pronounced at eight months after inoculation (MAI). There were reduction of 38.4% on DW of the roots when compared with uninoculated roots of plants. Both nematode species did not affect the photosynthetic rate, transpiration, stomatal conductance and water potential of coffee. There were reduction in concentration of soluble sugars,

reducing sugars and starch with the increase in the level of inoculum of *M. exigua*. Most pronounced changes occurred at eight MAI in plants inoculated with 8000 eggs of *M. paranaensis*, where the plants showed higher amount these carbohydrates than the uninoculated plants, which did not occur in those plants inoculated with 32000 eggs. The two species of nematodes interfered on the foliar concentration of some nutrients and their concentration in inoculated plants was higher than in the not inoculated plants. In the experiment under controlled temperature at 25 °C, both species caused a reduction in plant height, transpiration and stomatal conductance. With respect to photosynthetic rate and DW only the roots of plants inoculated with *M. paranaensis* were affected. In the gall tissues, the highest concentrations of reducing sugars were observed for *M. exigua*. However, both nematode species reduced the concentration of starch in the tissues of the galls and even in uninfected tissues of inoculated plants. For soluble sugars, no change was observed between the treatments. With respect to foliar concentration of nutrients, major changes were observed in the interaction of coffee with *M. paranaensis*, with the lowest values for K, Ca, Mn and Fe compared to control. The concentration of S was higher in plants inoculated with both species of nematode than the uninoculated plants. We conclude that both species of nematode interfered in the growth of coffee plants, in the biochemical processes and in the concentration of nutrients. However, the alterations on the physiological variables could only be verified in controlled temperature conditions.

## INTRODUÇÃO GERAL

Os nematóides das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, atacam diversas culturas de interesse agrícola, causando perdas de cerca de 15% na produtividade mundial (Lordello, 1985).

Na cultura do cafeeiro, é considerado um dos principais fatores que contribuem para redução na produção, pois parasitam as raízes do cafeeiro durante praticamente todo o ciclo da cultura (Salgado & Resende, 2010).

As espécies de maior importância para o cafeeiro são *M. exigua*, *M. incognita*, *M. coffeicola* e *M. paranaensis* por causarem os maiores danos e estarem presentes com frequência nas áreas produtoras de café (Gonçalves & Silvarolla, 2004).

O primeiro relato de nematóide parasitando o cafeeiro foi feito por Jobert (1878), quando investigava uma severa doença ocorrendo nos cafezais do Rio de Janeiro. Poucos anos depois, em 1887, Goeldi identificou o nematóide causador da referida doença como *Meloidogyne exigua* (Moura, 1998). A partir daí esta espécie começou a ser disseminada e hoje está presente em praticamente todas as regiões produtoras de café, causando grandes prejuízos aos cafeicultores (Campos & Villain, 2005)

No final da década de 70, o estado do Paraná teve sua cafeicultura abalada pelas geadas e pelas perdas causadas pelos nematóides. Na época as perdas foram associadas a *M. exigua*, *M. incognita* e *M. coffeicola* (Santos, 2000). Sabe-se hoje, que durante muito tempo *M. paranaensis* foi incorretamente identificado como *M. incognita* (Carneiro *et al.*, 1996), o que significa que essa espécie também estava infectando os cafeeiros do Paraná. É fato que a distribuição de *M. paranaensis* está aumentando na região, atingindo cerca de 70% das ocorrências, enquanto *M. incognita* sofreu um decréscimo de 30% na sua distribuição (Carneiro & Almeida, 2000).

*Meloidogyne paranaensis* está presente no estado São Paulo (Campos & Villain 2005) e já foi detectada em Minas Gerais em 2003 na região do Alto Paranaíba (Castro *et al.*, 2003) e em Piumhi (Castro *et al.*, 2008), no Espírito Santo (Barros *et al.*, 2011) e Goiás (Silva *et al.*, 2009).

Mudas parasitadas por *M. exigua*, apresentam galhas típicas arredondadas localizadas nas radículas, mas raramente exibem destruição do sistema radicular. Por outro lado, *M. paranaensis* por ser altamente agressivo ao cafeeiro, constitui-se numa espécie limitante a implantação de lavoura cafeeira em áreas infestadas e a manutenção daquelas já instaladas (Gonçalves & Silvarolla, 2007). Teme-se a ampla disseminação de *M. paranaensis* nos cafezais mineiros devido sua capacidade destrutiva.

Poucos estudos estão disponíveis sobre a interação de *M. paranaensis* com o cafeeiro. Em virtude dos danos causados por esta espécie ser diferente daqueles causados por *M. exigua*, acredita-se que as respostas fisiológicas e bioquímicas de cafeeiros parasitados por estas duas espécies sejam diferentes. Neste contexto, é importante conduzir estudos para verificar tais respostas em cafeeiro suscetível ao parasitismo de *M. exigua* e *M. paranaensis*.

## REVISÃO DE LITERATURA

O café, originário da Etiópia, é cultivado desde o século XIV pelos árabes, mas somente chegou ao Brasil em 1727 (Abic, 2009). A partir daí se espalhou por diversos estados brasileiros se tornando um dos principais produtos agrícola de exportação.

Entretanto, o cafeeiro é atacado por diversas doenças, que têm afetado tanto a produtividade quanto a qualidade do café (Zambolim, 2000).

Dentre essas doenças, os nematóides fitoparasitas são um dos principais agentes patogênicos que afetam o desenvolvimento e a produção do cafeeiro, pois parasitam as raízes das plantas prejudicando a absorção e translocação de água e nutrientes (Salgado *et al.*, 2008).

Espécies de nematóide de diversos gêneros já foram encontradas associadas ao cafeeiro, entre estas, os nematóides pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematóide-das-galhas radiculares, são os mais disseminados nas áreas de plantio de café em todo o mundo (Campos & Villain, 2005). Aliado a sua ampla disseminação, este grupo de nematóides possui alta capacidade reprodutiva e agressividade (Lordello, 1985), gerando perdas em torno de 15% na agricultura mundial.

Das espécies que atacam o cafeeiro, as mais prejudiciais são *Meloidogyne exigua*, devido sua ampla distribuição nas áreas cafeeiras, e *M. incognita* e *M. paranaensis* por serem as mais danosas ao cafeeiro (Gonçalves *et al.*, 2004).

*Meloidogyne exigua* Goeld 1887, primeira espécie de nematóide identificada em cafeeiro no Brasil (Moura, 1998), encontra-se distribuída nas principais áreas produtoras de café do país, como Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Espírito Santo, Bahia, Rio de Janeiro e Distrito Federal (Salgado *et al.*, 2008).

No estado do Paraná tem-se verificado nas regiões produtoras de café um significativo aumento na distribuição de *M. paranaensis*, em torno de 70%, e decréscimo de 30% na ocorrência de *M. incognita* (Carneiro & Almeida, 2000). *M. paranaensis* também está presente em São Paulo e Minas Gerais (Campos & Villain, 2005).

Cafeeiros atacados por *M. exigua* podem ter sua produção reduzida em 30 a 45% (Campos & Villain, 2005; Barbosa *et al.*, 2004 b). Plantas jovens são mais prejudicadas, embora, dependendo do tipo de solo, plantas adultas sofram séria desfolha (Campos & Villain, 2005).

É importante salientar que os danos às plantas e a redução na produção pode ser variável em função da densidade populacional inicial, da espécie de nematóide envolvida (Barker, 1976), dos fatores ambientais e da fase de desenvolvimento da cultura (Webster, 1969).

Para cafeeiros com até cinco anos de idade, com adequada adubação e manejo de pragas, doenças e plantas daninhas, o nível populacional de 10 a 15 juvenis de segundo estágio (J2)/100 cm<sup>3</sup> de solo de *M. exigua* causou perdas de 13% na produção de café arábica (Barbosa *et al.*, 2004 b). Quando a população foi superior a 40 J2/100 cm<sup>3</sup> de solo as perdas tenderam a 30%.

Além de *M. exigua*, *M. paranaensis* também merece atenção na cultura do café, pois tem causado danos severos em extensas áreas de cultivo no Brasil (Carneiro *et al.*, 1996).

Os juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* ao penetrarem nas raízes das plantas se localizam na região do tecido vascular (Huang, 1985), preferencialmente, no xilema primário ou tecido adjacente (Dropkin *et al.*, 1969), induzindo as células das raízes hospedeiras a transformarem-se em células nutridoras ou gigantes, capazes de supri-los com nutrientes necessários ao seu desenvolvimento e reprodução (Moritz *et al.*, 2008).

Quando as raízes de cafeeiro são parasitadas por *M. exigua*, formam galhas típicas, arredondadas, de diâmetro pequeno, principalmente, nas radículas e raízes mais finas (Salgado *et al.*, 2008). Já no parasitismo do cafeeiro por *M. paranaensis*, não há a formação de galhas típicas, as raízes apresentam engrossamentos, seguida de rachaduras e desprendimento do córtex (descorticamento) (Campos & Villain, 2005).

A alta atividade metabólica da célula gigante durante a alimentação do nematóide estimula a mobilização dos fotoassimilados da parte aérea para as raízes (Carneiro *et al.*, 1999), principalmente na fase de reprodução do nematóide,

quando as fêmeas adultas de *Meloidogyne* demandam consideráveis quantidades de nutrientes para a produção de ovos (Hussey, 1985).

Estudos anatômicos da raiz de cafeeiro parasitado por juvenis de *M. exigua* mostraram alterações celulares, como citoplasma denso, rico em organelas como retículo endoplasmático, ribossomos, mitocôndrias e alguns proplastídeos contendo grânulos de amido, provavelmente para o suprimento do nematóide (Rodrigues *et al.*, 2000).

Bird & Lovey (1975) observaram em galhas e massas de ovos de *M. javanica* 6 vezes mais  $^{14}\text{C}$ , após serem expostas a  $\text{CO}_2$ , que o tecido adjacente não infectado. Os autores concluíram que os compostos orgânicos requeridos pelo nematóide são produtos da fotossíntese, dessa forma, o nematóide funciona como um dreno metabólico. Dorhout *et al.* (1993) fizeram aplicação de carboxifluoresceína em folhas de tomateiro infectadas por *M. incognita* para acompanhar o processo de translocação no floema, e observaram que o corante moveu-se via floema até as raízes, acumulando-se nas células gigantes. Acredita-se que os nematóides assumiram a condição de dreno metabólico, pois houve o transporte dos nutrientes orgânicos formados na parte aérea para pontos distantes, no caso, as raízes.

Wang & Bergeson (1974) observaram aumento na concentração de açúcares em raízes de tomateiro infectadas com 10.000 J2 de *M. incognita*, porém, redução na concentração do açúcar quando a população do nematóide foi de 100.000 J2/planta. A partição dos carboidratos entre raiz e parte aérea de tomateiro inoculado com 1000 J2 de *M. incognita* foi acompanhada, semanalmente, durante 49 dias (Anwar, 1995). Deste estudo concluiu-se que o aumento do período de infecção nas plantas resultou em menor desenvolvimento radicular, redução progressiva na expansão da área foliar, assim como redução no conteúdo de glicose, amido e sacarose nas folhas e nas raízes. Este e outros trabalhos mostram que os efeitos do parasitismo dos nematóides-das-galhas estão ligados ao nível populacional do nematóide (Boneti *et al.*, 1982; Hussey, 1985). A infecção por nematóides causa alteração na fisiologia das plantas parasitadas em vários níveis conforme relatado por Melakeberhan *et al.* (1986) em feijoeiro parasitado por *M. incognita*. Eles observaram decréscimos significativos na taxa

fotossintética, no teor de clorofila a+b e, conseqüentemente, na produção. Estes efeitos se intensificaram com o aumento do nível de inóculo e a duração da infecção.

Bird (1974) levantou a hipótese de que a redução na atividade fotossintética da planta esteja relacionada ao fechamento parcial dos estômatos, que ocorre para evitar perdas de água, em resposta aos danos provocados pelo nematóide nas raízes, resultando em diminuição na entrada de CO<sub>2</sub>.

Entretanto, resultados divergentes podem ser encontrados na literatura. Pois plantas de algodoeiro suscetíveis inoculadas com 5000 ovos de *M. incognita* raça 3 tiveram aumento na fotossíntese, no teor de clorofila e na biomassa seca das raízes. Em contrapartida, houve redução na matéria seca da parte aérea (Abrão & Mazzafera, 2001).

As variações encontradas entre os resultados pode estar relacionada ao tipo de inóculo empregado, ovos ou juvenis, uma vez que, os ovos podem estar em diferentes estágios de desenvolvimento embrionário e eclodirem em momentos diferentes, a densidade de inóculo e o tempo decorrido entre a inoculação e a avaliação (Abrão & Mazzafera, 2001).

Uma vez que as raízes da planta está parasitada, a composição mineral de plantas infectadas e não infectadas é diferente (Boneti *et al.*, 1982). Di Vito *et al.*, (2000) observou que raízes de cafeeiro parasitadas por *M. exigua* tinham desorganização e ruptura nos elementos do xilema. Outros autores verificaram que raízes de café arábica CV Bourbon parasitada por *M. incognita*, apresentavam sinais de compressão mecânica nos vasos do xilema e nas células próximas à fêmea, o que possivelmente obstruiu a translocação de água e dos nutrientes (Negrón & Acosta, 1987).

Em mudas de cafeeiro infectadas por *M. exigua* os teores de Cu, Fe, Mn, B e Zn foram diminuídos no sistema radicular, embora na parte aérea estes elementos não tenham sofrido redução (Boneti *et al.*, 1982). Além destes elementos observou-se reduções crescentes na absorção de N e Ca conforme o nível de inóculo foi aumentado (Santos *et al.*, 1981).

## REFERÊNCIAS

- ABRÃO, M. M.; MAZZAFERA, P. 2001. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. *Bragantia*, 60 (1):19-26.
- ANWAR, S. 1995. Influence of *Meloidogyne incognita*, *Paratrichodorus minor* and *Pratylenchus scribneri* on root/shoot growth and carbohydrate partitioning in tomato. *Pakistan Journal of Zoology*, Lahore, 27:105-113.
- ABIC. Associação Brasileira da Indústria do café. História do café: Origem e trajetória. Disponível na Internet via [www.abic.com.br/scafe\\_historia.html](http://www.abic.com.br/scafe_historia.html). Última atualização em 30 de junho de 2009.
- BARBOSA, D. H. S. G.; VIEIRA, H. D.; SOUZA, R. M.; VIANA, A. P.; SILVA, C. P. 2004 b. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira*, 28(1):49-54.
- BARKER, K. R. 1976. Relationships between nematode population densities and crop responses. *Annu. Rev. Phytopathol*, 14:327-353.
- BARROS, A. F; OLIVEIRA, R. D. L.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. O.; COUTINHO, R. R. 2011. *Meloidogyne paranaensis* attacking coffee trees in Espírito Santo State, Brazil. *Australasian Plant Dis*.
- BIRD, A. F.; LOVEYS, B. R. 1975. The incorporation of photosynthates by *Meloidogne javanica*. *Journal of Nematology*, 7 (2): 111-113.
- BIRD, A. F. 1974. Plant response to root-knot nematode. *Annu. Rev. Phytopathol*, 12: 69-85.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S.; BRAGA, J. M.; OLIVEIRA, L. M. 1982. Influência do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção de

micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn e B) e sobre o vigor de mudas de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 7:197-206.

CAMPOS, V. P.; VILLAIN, L. 2005. Nematodes Parasites of coffee and Cocoa. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (2<sup>nd</sup> Edition). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Wallingford UK: CAB International, p. 529-579.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. 2000. Distribution of *Meloidogyne spp.* on Coffee in Brazil: identification, characterization and intraspecific variability. In: *Mejoramiento sostenible del café arabica por los recursos genéticos, asistido por los marcadores moleculares, com énfasis en la resistencia a los nemátodos*, Turrialba. Publicación Especial. CATIE / IRD, Turrialba, p. 43-48.

CARNEIRO, R. G.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L. C. C. B. 1999. Carbon Partitioning in Soybean Infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. *Journal of Nematology* 31(3):348–355.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; ABRANTES, I. M. O. ; SANTOS, M. S. N. A.; ALMEIDA, M. R. A. 1996. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-Knot nematode parasitizing coffee in Brazil. *Journal of Nematology*, 28 (2):177-189.

CASTRO, J. M. C.; CAMPOS, V. P; NAVES, R. L. 2003. Ocorrência de *Meloidogyne paranaensis* na região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. *Notas fitopatológicas. Fitopatologia Brasileira*, 28(5):565.

CASTRO, J. M. C.; CAMPOS, V. P.; POZZA, E. A.; NAVES, R. L.; JÚNIOR, W. C. A.; DUTRA, M. R; COIMBRA, J. L.; MAXIMINIANO, C.; SILVA, J. R. C. 2008. Levantamento de fitonematóides em cafezais do Sul de Minas Gerais. 32 (1): 56-64.

DI VITO, M.; CROZZOLI, R.; VOVLAS, N. 2000. Pathogenicity of *Meloidogyne exigua* on coffee (*coffea arabica* l.) in pots. *Nematropica*, 30 (1): 55-62.

DORHOUT, R.; GOMMERS, F. J.; KOLLOFFEL, C. 1993. Phloem transport of carboxifluorescein through tomato roots infected with *Meloidogyne incognita*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 43:1-10.

DROPKIN, V. H.; HELGESON, J. P.; UPER, C. D. 1969. The hypersensitivity reaction of tomatoes resistant to *Meloidogyne incognita*: Reversal by cytokinins. *J. Nematol*, 1: 55-61.

GONÇALVES, W; SILVAROLLA, M. B. 2007. A luta contra a doença causada pelos nematóides parasitos do cafeeiro. *O Agrônomo*, Campinas, 59 (7): 54-56.

GONÇALVES, W.; RAMIRO, D. A.; GALLO, P. B.; GIOMO, G. S. 2004. Manejo de nematóides na cultura do cafeeiro. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO – CAFÉ, 10. Mococa. Anais ... São Paulo: Instituto Biológico, p. 48-66.

HUANG, C. S. 1985. Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In: Sasser, J. N., Carter, C. C. (eds). *An advanced treatise on Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p. 155-164.

HUSSEY, R. S. 1985. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: Sasser, J. N., Carter, C. C. (eds). *An advanced treatise on Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p. 143-153.

LORDELO, L. G. E. 1985. Nematóide das plantas cultivadas. 8 ed. São Paulo, Nobel, 314p.

MELAKEBERHAN, H.; BROOKE, R. C.; WEBSTER, J. M. 1986. Relationship between physiological response of French beans of different age to *Meloidogyne incognita* and subsequent yield loss. *Plant Pathology*, 35: 203-213.

MORITZ, M. P.; CARNEIRO, R. G.; SANTIAGO, D. C.; MEDRI, M. E.; CORREA, A.; NAKAMURA, K. C.; PIGNONI, E.; GOMES, J. C. 2008. Histopatologia comparada das raízes de cultivares suscetível e resistente de soja inoculadas com *Meloidogyne paranaensis*. *Nematologia Brasileira*, 32(1): 41-49.

MOURA, R. M. 1998. Relatório sobre a moléstia do cafeeiro na província do Rio de Janeiro pelo Dr. Emílio Augusto Gold (1887). Recife, UFRPE, Fadurpe. 121 p.

NEGRÓN, J. A.; ACOSTA, N. 1987. Studies on host-parasite relationships of *Meloidogyne incognita* and *Coffea arabica* CV. Bourbon. *Nematropica*, 17(1):71-78.

RODRIGUES, A. C. F. O. , ABRANTES, I. M. O. , MELILLO, M. T. and BLEVE-ZACHEO, T. 2000. Ultrastructural response of coffee roots to root-knot nematodes, *Meloidogyne exigua* and *M. megadora*. *Nematropica*, 30 (2). 201-210.

SALGADO, S. M. L.; OLIVEIRA, R. D. L.; SILVA, R. V.; CAMPOS, V. P. 2008. Aspectos importantes dos fitonematóides do cafeeiro. *Informe Agropecuário*, 29(247): 42-50.

SALGADO, S. M. L.; RESENDE, J. C. 2010. Manejo de fitonematóides em cafeeiro. In: Reis, P. R.; Cunha, R. L. *Café arábica do plantio a colheita*. Vol.1. Epamig – Lavras - MG, p.757-804.

SANTOS, J.; FERRAZ, S. ; OLIVEIRA, L. M. 1981. Efeito do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção e translocação de nutrientes em mudas de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6:333-340.

SANTOS, J. M. 2000. Café – Excluindo os nematóides. Revista Cultivar Grandes culturas, nº14.

SILVA, R. V.; OLIVEIRA, R. D. L.; ZAMBOLIM, L. 2009. Primeiro relato da ocorrência de *M. paranaensis* em cafeeiro no estado de Goiás. Nematologia Brasileira. 33(2):187-190.

WANG, E. L. H.; BERGESON, G. B. 1974. Biochemical changes in root exudate and xylem sap of tomato plants infected with *Meloidogyne incognita*. Journal of Nematology, 6 (4):194-202.

WEBSTER, J. M. 1969. The host-parasite relationships of plant parasitic nematodes. Advances in *Parasitology*, 7:1-40.

ZAMBOLIM, L. 2000. Café: Produtividade, qualidade e sustentabilidade, 295 p.

## Capítulo 1

Respostas fisiológicas do cafeeiro (*Coffea arabica*) a diferentes concentrações de inóculo de *Meloidogyne paranaensis* e *M. exigua*.

## INTRODUÇÃO

Entre os principais fatores que afetam o crescimento e a produção do cafeeiro estão os nematóides fitoparasitas (Salgado & Resende, 2010). Diversos gêneros de nematóides já foram encontrados associados ao cafeeiro, mas os nematóides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são os mais importantes, pois estão distribuídos em todas as áreas produtoras de café (Campos & Villain, 2005).

Para o cafeeiro, *Meloidogyne exigua* é uma das espécies de maior importância (Gonçalves *et al.*, 2004), embora seja menos danosa, é responsável pelas maiores perdas, devido a sua ampla disseminação nas regiões produtoras de café. *M. paranaensis*, bastante disseminada no estado de São Paulo e no Paraná (Gonçalves & Silvarolla, 2007), é altamente danosa ao cafeeiro, pois é capaz de destruir o sistema radicular, apresenta alta persistência no solo e as cultivares produtivas de cafeeiro são suscetíveis a ela (Gonçalves & Silvarolla, 2007). Raízes de cafeeiro atacadas por esta espécie apresentam descorticamento, rachaduras e pontos necróticos ao longo das raízes mais velhas, ocasionando queda de folhas na planta, redução de crescimento e até morte (Campos & Villain, 2005).

Quando os juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* sp. penetram na raiz do hospedeiro, eles se locomovem até a região do cilindro vascular e liberam secreções esofágeas, o que induz a formação de células multinucleadas e hipertrofiadas, conhecidas como células gigantes (Huang, 1985). A célula gigante, devido a sua alta atividade metabólica, estimula a mobilização dos fotoassimilados da parte aérea para as raízes (Carneiro *et al.*, 1999), atuando como um dreno metabólico.

Além das modificações na partição dos carboidratos, muitos trabalhos associam o parasitismo do nematóide a alterações em processos fisiológicos da planta. Tomateiros com alto grau de infecção, acima de 30.000 J2 de *M. javanica*, apresentaram declínio na taxa fotossintética 22 dias após a inoculação (Loveys & Bird, 1973). Por outro lado, na soja, o aumento gradativo do nível de inóculo de *M. javanica* (de 1200 a 97200 J2) pouco influenciou a fotossíntese da planta, a condutância estomática e a fluorescência da clorofila (Asmus & Ferraz, 2001).

Mudas de Mundo Novo inoculadas com *M. incognita* e *M. exigua* (0 a 8000 ovos/planta) apresentaram redução na altura e na massa seca da parte aérea com o aumento nos níveis de inóculo. Entretanto, *M. incognita* causou efeito mais drástico nas plantas que *M. exigua* (Gonçalves *et al.*, 1996).

Outra manifestação nas plantas parasitadas pelos nematóides das galhas é a alteração na composição mineral das plantas (Boneti *et al.*, 1982). Esta alteração, em parte é devido aos nematóides se alojarem na região vascular da raiz e formarem sítios especializados de alimentação, e também por causa da redução no crescimento das raízes, o qual ocorre após vários ciclos de reprodução do nematóide (Carneiro & Mazzafera, 2001). Mas, segundo Kirkpatrick *et al.* (1964), a interferência na composição mineral das plantas não segue um padrão rígido, podendo ocorrer diminuição, acúmulo ou até mesmo não haver alterações. Hurchanik *et al.* (2004) observaram decréscimos na concentração de Ca, Mg, P e B, e aumento na de Mn, Cu e Zn nas raízes de cafeeiro infectadas com *M. konaensis*. No estudo feito por Bonetti *et al.* (1982), o teor de Zn nas raízes diminuiu a medida que o nível de inóculo aumentou, mas os teores de Cu, Fe e Mn na parte aérea mantiveram-se inalterados.

A grande variação nos resultados pode ser função da espécie de nematóide utilizada, da planta utilizada, da intensidade de ataque, do tipo de tecido analisado ou do estado nutricional das plantas avaliadas (Carneiro & Mazzafera, 2001). De um modo geral, é evidente que o nematóide das galhas interfere em processos fisiológicos, na partição dos carboidratos, na absorção e translocação dos nutrientes, acarretando redução no crescimento das plantas e, conseqüentemente, na produção. Na interação *Meloidogyne* - cafeeiro, principalmente no que se refere a *M. paranaensis*, os estudos são escassos.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar as alterações fisiológicas e bioquímicas em plantas de cafeeiro (*Coffea arabica*) infectadas por *M. exigua* e *M. paranaensis* em diferentes níveis populacionais.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Obtenção e multiplicação do inóculo

Para a multiplicação do inóculo de *M. exigua*, os ovos foram extraídos segundo o método Boneti & Ferraz (1981). A extração dos ovos foi feita a partir de raízes de cafeeiro infectadas cultivadas em casa de vegetação, as quais foram lavadas, cuidadosamente, sob água corrente para a retirada das partículas de solo, picadas em pedaços de aproximadamente 1 a 2 cm, trituradas em liquidificador com uma solução de NaOCl na concentração 0,5% por 15 a 20 segundos. O material triturado foi passado por uma peneira de “200 mesh” (abertura de 0,074 mm) acoplada a outra peneira de “500 mesh” (abertura de 0,0254 mm) onde os ovos ficaram retidos. A suspensão de ovos desta peneira foi recolhida e calibrada para concentração de 1000 ovos/mL utilizando câmara de Peters.

Após esta etapa, plantas de cafeeiro no estágio de três pares de folhas foram utilizadas para multiplicação do inóculo. Estas mudas foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade para 5 litros, contendo uma mistura de solo e areia na proporção de 2:1, previamente biofumigada com óleo de mostarda (Oliveira *et al.*, 2011). Decorrida uma semana do transplante, foi feita a inoculação adicionando-se 5 mL da suspensão de ovos obtida anteriormente, com o auxílio de uma pipeta, em quatro orifícios feitos ao redor de cada planta com aproximadamente 3 cm de profundidade.

Para a multiplicação do inóculo de *M. paranaensis* foram utilizadas plantas de tomateiro cultivar Santa Clara. A população do nematóide utilizada foi obtida a partir de raízes de cafeeiros contaminados em campo. A extração dos ovos e a inoculação das plantas de tomateiro foi feita da mesma forma que para *M. exigua*.

As plantas utilizadas para a multiplicação do nematóide foram mantidas em casa de vegetação na Fazenda Experimental da Epamig, do município de Lavras, recebendo os tratamentos culturais necessários de acordo com as recomendações técnicas para a cultura do cafeeiro.

## 2. Delineamento experimental

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação na Fazenda Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), localizada no município de Lavras, MG.

No primeiro ensaio, mudas de cafeeiro da variedade IAC 144 – Catuaí Vermelho no estágio de quatro a cinco pares de folhas, foram transplantadas para vasos com capacidade de 5 L contendo uma mistura de terra e areia na proporção de 2:1, previamente biofumigado com óleo de mostarda (Oliveira *et al.*, 2011). Após uma semana do transplante as mudas foram inoculadas com 4000, 8000, 16000 e 32000 ovos.planta<sup>-1</sup> de *M. exigua*, plantas não inoculadas representaram a testemunha. A inoculação das plantas foi feita da mesma forma descrita no item 1 (Obtenção e multiplicação do inóculo).

No segundo ensaio, mudas de cafeeiro da mesma variedade e estágio fenológico que as utilizadas no ensaio anterior foram inoculadas com 8000 e 32000 ovos.planta<sup>-1</sup> de *M. paranaensis*. As testemunhas constaram de plantas não inoculadas.

Após esta etapa, as plantas de ambos os ensaios permaneceram em casa de vegetação em condições de sombreamento, uma vez que sobre a cobertura plástica da casa de vegetação foi colocado sombrite 50%. As plantas receberam os tratamentos necessários ao seu desenvolvimento, conforme recomendação para a cultura. Durante a condução do ensaio a média das temperaturas mínimas foi de 18,4°C e a média das máximas, 26,9°C.

O delineamento experimental utilizado em ambos os ensaios foi o inteiramente casualizado, sendo o primeiro com cinco tratamentos (0, 4000, 8000, 16000 e 32000 ovos. planta<sup>-1</sup>) e quatro repetições e o segundo ensaio, com três tratamentos (0, 8000, 32000 ovos.planta<sup>-1</sup>) e oito repetições.

### **3. Avaliações**

#### **3.1 Análise nematológica**

Aos 4 e 8 meses após a inoculação (MAI) procedeu-se a contagem de galhas e ovos. No sistema radicular de cada planta inoculada foi feita a contagem do número de galhas para *M. exigua* e *M. paranaensis*. O número de galhas de *M. paranaensis* foi composto pela soma do número de galhas e o número de engrossamentos nas raízes infectadas (sintoma típico desta espécie). Após a extração dos ovos (Boneti & Ferraz, 1981), contabilizou-se o número de ovos para ambas a espécies em câmara de Peters.

#### **3.2 Crescimento vegetativo**

O crescimento vegetativo do cafeeiro foi avaliado mensalmente registrando-se o número de ramos por planta, o número de folhas, a altura das plantas (medida do colo da planta até o meristema apical) e o diâmetro do caule (medido com paquímetro na região abaixo do primeiro par de folhas cotiledonares). A massa da matéria seca (MMS) das raízes foi determinada aos quatro e oito MAI. Para obtenção da massa seca utilizou-se 1g de raiz fresca, a qual foi seca em estufa a 60°C até atingir peso constante.

#### **3.3 Quantificação de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e amido em raízes.**

Após quatro e oito MAI das plantas retirou-se amostras de 0,3 g de tecidos de galhas e 0,3 g de tecido não infectado das plantas inoculadas com *M. exigua* e *M. paranaensis*. Do sistema radicular das plantas testemunhas (isentas de nematóide) foram retiradas amostras de 0,3 g de raiz. Para todos os tratamentos foram utilizadas quatro repetições. As amostras foram acondicionadas em papel alumínio e submersas em nitrogênio líquido, imediatamente após a coleta, com o objetivo de paralisar o metabolismo celular da raiz. Posteriormente, as mesmas

foram encaminhadas ao laboratório para a determinação das concentrações de AST, AR e amido.

Para tal, amostras de 0,3 g foram maceradas em almofariz com 5 ml de tampão fosfato de potássio 0,1 molar, pH 7,0 e colocadas em banho-maria a 40 °C, por 30 minutos. O extrato obtido foi centrifugado a 11.000 g por 20 minutos à temperatura de 18 °C. Em seguida, o sobrenadante foi recolhido e o pellet ressuspenso em 5 mL do mesmo tampão e centrifugado nas mesmas condições citadas anteriormente. Após este procedimento, o sobrenadante foi coletado e adicionado ao sobrenadante da primeira coleta e armazenado a – 20 °C para as quantificações de AST e AR.

Os pellets resultantes da centrifugação foram ressuspenso em 8 mL de tampão acetato 0,1 molar pH 4.8, e mantidos em banho-maria a 100 °C durante 5 minutos. Em seguida foram acrescentados 2 mL do preparado da enzima amiloglucosidase, totalizando 12,6 unidades da enzima em cada amostra e, novamente foram colocados no banho-maria por duas horas a 40°C. Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 11.000 g, por 20 minutos à temperatura de 18 °C, o sobrenadante foi coletado e o seu volume ajustado para 15 mL com água destilada. A solução resultante foi congelada para posterior quantificação do amido.

Para a quantificação dos açúcares redutores, foi utilizado o método do ácido dinitrosalicílico (DNS), descrito por Miller (1959). E para a quantificação dos AST e do amido foi utilizado o método de antrona (Yemm & Cocking, 1954).

### **3.4 Potencial hídrico e trocas gasosas**

Aos quatro e oito MAI das plantas foi quantificado o potencial hídrico de antemã ( $\psi_w$  máximo) às 6 horas da manhã, com o auxílio de uma câmara de pressão do tipo Scholander (Soil Moisture - modelo 3005).

Concomitantemente, foi feita também a medição da fotossíntese líquida ( $A$ ), da condutância estomática ( $g_s$ ), da transpiração ( $E$ ) e da concentração interna

de CO<sub>2</sub> ( $C_i$ ) por meio de um analisador portátil de gás ao infravermelho (IRGA) modelo ADC LCA 4 (Roddesdon, UK).

Para estas medições foram utilizadas folhas completamente expandidas (Alfonsi, 2003), localizadas no terço superior da planta, posicionada no terceiro par do ápice para a base da muda de cafeeiro. As medições foram feitas em quatro repetições no ensaio com *M. exigua*, e oito repetições no ensaio com *M. paranaensis*.

A determinação de  $A$ ,  $g_s$ ,  $E$  e  $C_i$  foram realizadas em dias claros, por volta de 10:00 e 11:00 com o objetivo de se detectar possíveis variações sazonais destas características.

### **3.5 Análise foliar de macro e micronutrientes**

Aos quatro e oito MAI, folhas localizadas entre o 3° e o 4° par do ápice para base da planta foram coletadas para a determinação da concentração de macro e micronutrientes. As amostras de folhas de quatro repetições de cada tratamento foram coletadas e acondicionadas separadamente em sacos de papel, devidamente etiquetados e levadas para a secagem em estufa de circulação forçada de ar, a temperatura de 60°C até peso constante. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley e as análises de macro e micronutrientes feitas conforme Malavolta *et al.* (1989).

### **3.6 Análise estatística**

Os dados de crescimento das plantas (altura, diâmetro do caule, número de folhas e de ramos) foram utilizados para calcular a área abaixo da curva relativa do crescimento (AACRC). O cálculo foi feito de acordo com a expressão:  $AACRC \{ \sum [(y_i + y_{i+1})/2] \cdot (t_{i+1} - t_i) \} / n$ , onde  $y_i$  e  $y_{i+1}$  são os valores de crescimento observados em duas avaliações consecutivas e  $t_{i+1} - t_i$  o intervalo entre avaliações e  $n$  a duração do período de avaliação (Fry, 1978). Os dados de crescimento também foram utilizados para calcular as taxas de crescimento, as quais foram estimadas pelo parâmetro  $b$  da equação de regressão linear simples, tendo a proporção diária do crescimento ( $y$ ) (dados originais) como variável dependente e

o tempo em dias após a inoculação (x) como variável independente (Campbell & Madden, 1990).

Os valores referentes ao número de galhas e número de ovos foram transformados para raiz de  $X+0,5$ .

Os dados de crescimento (AACRC e taxa de crescimento) e das demais avaliações foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de homogeneidade de variância de Bartlett. Os dados do primeiro ensaio foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e análise de regressão a fim de selecionar os modelos com melhores ajustes, com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e no quadrado médio do resíduo. E os do segundo ensaio submetidos à ANOVA e a comparação das médias pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ). Em ambos os casos utilizou-se o programa de análises estatísticas Sisvar (Ferreira, 2000).

## RESULTADOS

### 1- Análise nematológica

Para as variáveis número de galhas e números de ovos de *M. exigua* a equação de regressão foi significativa, linear e positiva aos quatro MAI, ou seja, o número de galhas e ovos aumentou linearmente com o aumento da concentração de inóculo (Tabela 1). Aos oito MAI não houve efeito significativo do aumento da concentração de inóculo nestas variáveis pelo teste F ( $P \leq 0,05$ ).

Em relação a *M. paranaensis* apenas o número de ovos diferiu significativamente ( $P \leq 0,05$ ) entre os tratamentos aos quatro MAI (Tabela 2). Aos oito MAI não houve diferença entre os tratamentos quanto ao número de galhas e de ovos.

Tabela 1 - Número de galhas e de ovos em raízes de mudas de cafeeiro aos quatro e oito meses após a inoculação (MAI) com diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne exigua*, em duas épocas de avaliação

Variáveis nematológicas	Época de avaliação		
		4 MAI	8 MAI
Nº de Galhas	$Y=13,09+ 0,000522X$	$R^2= 0,88$	$\hat{y} = \bar{y} = 735,5$
Nº de Ovos	$Y= 34,97 + 0,0091X$	$R^2= 0,97$	$\hat{y} = \bar{y} = 21158,6$

Tabela 2 - Número de galhas e ovos em raízes de mudas de cafeeiro aos quatro e oito meses após a inoculação (MAI) com diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne paranaensis*, em duas épocas de avaliação

Inóculo	Época de avaliação			
	4 MAI		8 MAI	
	Galhas	Ovos	Galhas	Ovos
8000	89,75	13.294,5	326,7	89.583,7
32000	130,3	35.988,6	191,6	25.506,2

F= 0,06 (galhas 4 MAI); F = 0,049 (ovos 4 MAI), F= 0,3 (galhas 8 MAI); F= 0,1 (ovos 8 MAI)

## 2- Crescimento vegetativo

No primeiro ensaio, aos quatro MAI, as respostas da área abaixo da curva relativa de crescimento as concentrações crescentes de inóculo de *M. exigua* foram significativas, lineares e negativas para a altura e número de folhas e aos oito MAI para o diâmetro do caule (Tabela 3). Assim, à medida que a concentração de inóculo aumentou ocorreu redução nestas variáveis. Para as demais variáveis a concentração de inóculo não interferiu no crescimento do cafeeiro.

A massa da matéria seca aos quatro e oito MAI não foi alterada pelas diferentes concentrações de inóculo estudadas.

Tabela 3 - Equações de regressão para área abaixo da curva relativa de crescimento (AACRC) e para a taxa de crescimento de mudas de cafeeiro inoculadas com diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne exigua*, em duas épocas de avaliação

Crescimento	Época de avaliação			
	4 MAI		8 MAI	
<b>Altura</b>				
AACRC	$Y = 23,33 - 0,000146X^{**}$	$R^2 = 0,86$	$\hat{y} = \bar{y} = 26,3$	
Taxa	$Y = 4,83 - 0,000055X^*$	$R^2 = 0,76$	$Y = 2,72 - 0,000023X^*$	$R^2 = 0,90$
<b>Folhas</b>				
AACRC	$Y = 18,58 - 0,000205X^*$	$R^2 = 0,92$	$\hat{y} = \bar{y} = 28,9$	
Taxa	$Y = 7,15 - 0,00019X^{**}$	$R^2 = 0,96$	$\hat{y} = \bar{y} = 6,3$	
<b>Ramos</b>				
AACRC	$\hat{y} = \bar{y} = 1,72$		$\hat{y} = \bar{y} = 4,67$	
Taxa	$\hat{y} = \bar{y} = 1,42$		$\hat{y} = \bar{y} = 1,27$	
<b>Diâm. caule</b>				
AACRC	$\hat{y} = \bar{y} = 3,52$		$Y = 4,71 - 0,000026X^*$	$R^2 = 0,97$
Taxa	$\hat{y} = \bar{y} = 0,95$		$Y = 0,75 - 0,000010X^*$	$R^2 = 0,87$

Taxa: refere-se à taxa de crescimento das plantas.

No intervalo de 0 até 32000 ovos/planta a AACRC oscilou linearmente de 24,03 até 18,6 para altura e de 17,8 a 12,11 para o número de folhas aos quatro MAI. Para o diâmetro do caule a AACRC aos oito MAI variou de 4,7 a 3,9 nas referidas concentrações de inóculo.

Com relação à taxa de crescimento das plantas o efeito do nível de inóculo foi significativo, linear e negativo para as mesmas variáveis mencionadas para AACRC aos quatro MAI (Tabela 1). Aos oito MAI, além do diâmetro, a taxa de crescimento da altura das plantas foi afetada.

No segundo ensaio, aos quatro MAI não houve diferença significativa na AACRC pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) entre as concentrações de inóculo de *M. paranaensis* e as variáveis de crescimento analisadas (Tabela 4). Entretanto, aos oito MAI, a AACRC e a taxa de crescimento para as variáveis altura ( $p \leq 0,05$ ) e

número de folhas diferiram entre os tratamentos ( $P \leq 0,05$ ). Somente a taxa de crescimento do número de ramos foi reduzida aos oito MAI. Observa-se que o crescimento do cafeeiro foi afetado na concentração de 32000 ovos/planta. A AACRC da altura das plantas foi reduzida em 14,6% e a do número de folhas em 30%.

A massa da matéria seca das raízes não diferiu entre os tratamentos aos quatro MAI, porém aos oito MAI, plantas inoculadas com 32000 ovos apresentaram redução de 38,4% comparado às plantas não inoculadas ( $p \leq 0,01$ ), ou seja, a MMS das raízes reduziu de 7,44 g para 4,58 g.

Tabela 4 - Área abaixo da curva relativa de crescimento e taxa de crescimento de mudas de cafeeiro quatro e oito MAI de diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne paranaensis*, em duas épocas de avaliação

Crescimento	Época de avaliação			
	4 MAI		8 MAI	
	AACRC	Taxa	AACRC	Taxa
<b>Altura</b>				
0	30,7 ns	6,9 ns	38,8 a	3,0 a
8000	29,8	6,7	37,2 ab	2,4 ab
32000	27,4	5,9	33,1 b	2,1 b
<b>Folhas</b>				
0	31,0 ns	17,7 a	72,3 a	18,9 a
8000	29,0	12,3 b	66,6 ab	15,0 ab
32000	28,1	13,1 b	50,6 b	10,6 b
<b>Ramos</b>				
0	4,0 ns	3,5 ns	8,4 ns	1,7 a
8000	4,1	3,5	8,0	1,5 ab
32000	3,3	3,0	6,4	1,2 b
<b>Diâmetro do caule</b>				
0	4,0 ns	1,7 ns	5,9 ns	0,9 ns
8000	3,8	1,6	5,6	0,8
32000	4,0	1,8	5,1	0,7

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ). n.s = não significativo. Taxa: refere-se à taxa de crescimento das plantas.

### **3- Quantificação de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e amido em raízes.**

A infecção das raízes do cafeeiro por *M. exigua* provocou alterações significativas nos níveis de carboidratos nos tecidos de galha e em alguns casos em tecidos não infectados das raízes nas diferentes concentrações de inóculo estudadas (Tabela 5).

As equações de regressão foram significativas, lineares e negativas para os AR nos tecidos de galha aos quatro e oito MAI, nos tecidos não infectados da raiz somente aos quatro MAI. A concentração dos AR reduziu nos tecidos de galha com o aumento do nível de inóculo comparado às raízes de plantas não inoculadas. Nas raízes das plantas testemunhas aos quatro MAI a concentração de AR foi em média 19,76  $\mu\text{mol/g}$  de tecido e nas galhas das plantas inoculadas com 32000 ovos/planta 8,7  $\mu\text{mol/g}$  de tecido.

A equação de regressão que representa a concentração dos AST nos tecidos de galha em função dos diferentes níveis de inóculo aos quatro MAI é do tipo quadrática, com ponto mínimo de 35,32.

As menores concentrações dos AST foram encontradas nas plantas com os maiores níveis de infecção nas raízes. A concentração dos AST nos tecidos de galha e nos tecidos não infectados aos oito MAI estão representados pela equação de regressão do tipo linear, negativa. O aumento da concentração de inóculo provocou reduções consideráveis na concentração dos AST com aumento do tempo de infecção, de modo que nas plantas inoculadas com 32000 ovos a redução foi de 33,7% nos tecidos de galha aos quatro MAI e 69,07% aos oito MAI comparado as raízes das testemunhas.

A equação que representa a concentração de amido nos tecidos da galha em função do aumento do nível de inóculo é do tipo quadrática, com ponto de mínimo de 9,53 aos quatro MAI, e 10,81 aos oito MAI. A concentração de amido na galha das plantas inoculadas com 32000 ovos foi 33,8 e 65,9% menor que nas raízes da testemunha aos quatro e oito MAI, respectivamente.

Tabela 5 - Equações de regressão para a concentração de açúcares redutores, açúcares solúveis totais e amido em tecidos de galhas e tecidos não infectados de raízes de cafeeiro, aos quatro e oito meses após a inoculação (MAI) de diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne exigua*

4 MAI		
AR (tecido de galha)	$Y=19,24 - 0,000339X^{**}$	$R^2=0,98$
AR (tecido não infectado)	$Y=21,86 - 0,000167X^{**}$	$R^2=0,20$
8 MAI		
AST (tecido de galha)	$Y= 58,33 - 0,00225X + 0,000000055X^{2**}$	$R^2=0,78$
AST (tecido não infectado)	$\hat{y}=\bar{y}= 56$	
Amido (tecido de galha)	$Y= 16,13 - 0,00065X + 0,000000016X^{2**}$	$R^2=0,86$
Amido (tecido não infectado)	$Y= 15,69 - 0,00022X^{**}$	$R^2=0,85$
8 MAI		
AR (tecido de galha)	$Y= 33,51 - 0,000508X^{**}$	$R^2=0,84$
AR (tecido não infectado)	$\hat{y}=\bar{y}=32,36$	
AST (tecido galha)	$Y= 79,28 - 0,00172X^{**}$	$R^2=0,97$
AST (tecido não infectado)	$Y= 80,45 - 0,000591X^{**}$	$R^2=0,73$
Amido (tecidos de galha)	$Y= 30,35 - 0,00163X + 0,000000034X^{2**}$	$R^2=0,72$
Amido (raiz sadia)	$\hat{y}=\bar{y}=23,3$	

AR, AST e amido: Expresso em ( $\mu\text{mol/g}$ )

Com relação a *M. paranaensis*, houve diferença significativa entre os tratamentos pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) na concentração dos AR e AST nos tecidos de galha aos quatro MAI, para o amido não se observou diferença (Tabela 6). A concentração de AR aumentou com o aumento do nível de inóculo, embora para os AST isso tenha sido evidente somente nas plantas inoculadas com 8000 ovos. Nos tecidos de raiz não infectados das plantas inoculadas não se detectou diferenças nas concentrações de AR, AST e amido aos quatro MAI.

Tabela 6 - Concentração de açúcares redutores, açúcares solúveis totais e amido em tecido de galhas e em tecidos não infectados (t.n.i) de raízes de cafeeiro aos quatro e oito MAI de diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne paranaensis*

Inóculo	4 MAI		8 MAI	
	Carboidratos			
	AR (galha)	AR (t.n.i)	AR (galha)	AR (t.n.i)
0	23,1 c	23,1 ns	29,6 b	29,6 b
8000	35,4 b	24,3	49,7 a	76,4 a
32000	42,3 a	28,1	31,4 b	26,1 b
	AST (Galha)	AST (t.n.i)	AST (Galha)	AST (t.n.i)
0	46,3 b	46,3 ns	75,3 a	75,3 b
8000	67,7 a	51,9	70,3 ab	129,0 a
32000	56,5 ab	49,5	49,5 b	58,7 b
	Amido (Galha)	Amido (t.n.i)	Amido (Galha)	Amido (t.n.i)
0	15,2 ns	15,2 ns	15,5 b	15,5 b
8000	17,5	13,8	28,4 a	35,3 a
32000	14,9	11,4	7,3 c	11,4 b

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ). AR, AST e amido: Expresso em ( $\mu\text{mol/g}$ )

Por outro lado, aos oito MAI, as diferentes concentrações de inóculo afetaram significativamente as concentrações de AR, AST e amido nos tecidos das galhas e nos tecidos não infectados da raiz. De um modo geral, o aumento na concentração dos açúcares e amido ocorreu somente nas plantas inoculadas com 8000 ovos. Naquelas inoculadas com 32000 ovos, a concentração de amido e dos AST nos tecidos de galha apresentaram os menores valores, comparado aos demais tratamentos.

#### 4- Trocas gasosas e potencial hídrico

O potencial hídrico ( $\Psi$ ) das plantas aos quatro MAI de *M. exigua* diferiu entre os diferentes tratamentos (Tabela 7), entretanto, este efeito não foi observado aos oito MAI. As demais variáveis,  $A_{max}$ ,  $gs_{Max}$  e  $E_{max}$  não diferiram entre as diferentes concentrações de inóculo testadas.

Tabela 7 - Trocas gasosas e potencial hídrico de mudas de cafeeiro inoculadas com diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne exigua*, em duas épocas de avaliação

Variáveis fisiológicas	4 MAI	8 MAI
$A_{max}$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	$\hat{y}=\bar{y}= 4,16$	$\hat{y} = \bar{y} =2,44$
$gs_{max}$ ( $\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	$\hat{y} = \bar{y} = 0,0277$	$\hat{y} = \bar{y} =0,0205$
$E_{max}$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	$\hat{y} = \bar{y} = 0,502$	$\hat{y} = \bar{y} =0,408$
$\Psi$ (MPa)	$Y=4,4 - 0,000063X \quad R^2=0,55$	$\hat{y} = \bar{y} =5,36$

No segundo ensaio, as variáveis fisiológicas não diferiram significativamente pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) entre as diferentes concentrações de inóculo de *M. paranaensis* e a testemunha não inoculada (Tabela 8).

Tabela 8 - Trocas gasosas e potencial hídrico de mudas de cafeeiro inoculadas com diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne paranaensis*, em duas épocas de avaliação

	4 MAI	8 MAI
Inóculo	$A_{max}$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	
0	2,34 ns	1,85 ns
8000	1,94	2,40
32000	1,34	1,87
	$gs_{max}$ ( $\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	
0	0,022 ns	0,011 ns
8000	0,018	0,019
32000	0,018	0,013
	$E_{max}$ ( $\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )	
0	0,33 ns	0,27 ns
8000	0,26	0,36
32000	0,27	0,23
	$\Psi$ (MPa)	
0	-0,73 ns	-0,51ns
8000	-0,69	-0,51
32000	-0,63	-0,62

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ), n.s = não significativo.

## 5- Análise foliar de macro e micronutrientes

Nas mudas inoculadas com diferentes níveis de inóculo de *M. exigua* as concentrações de N, P, K, Mg e S nas folhas foram semelhantes a da testemunha aos quatro e oito MAI, assim como os micronutrientes B, Cu e Fe (Tabela 9). A concentração de Ca aumentou com o aumento do nível de inóculo nas duas épocas de avaliação, o Mn e o Zn tiveram comportamento semelhante somente na avaliação de quatro MAI.

Tabela 9 - Concentrações foliares de macro e micronutrientes em mudas de café inoculadas com diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne exigua*, em duas épocas de avaliação

	4 MAI	8 MAI
<b>N</b>	$\hat{y} = \bar{y} = 5,02$	$\hat{y} = \bar{y} = 3,79$
<b>P</b>	$\hat{y} = \bar{y} = 0,123$	$\hat{y} = \bar{y} = 0,084$
<b>K</b>	$\hat{y} = \bar{y} = 1,96$	$\hat{y} = \bar{y} = 2,65$
<b>Ca</b>	$Y = 0,63 + 0,000014X \quad R^2 = 0,89$	$Y = 1,02 - 0,000035X + 0,000000012X^2 \quad R^2 = 0,91$
<b>Mg</b>	$\hat{y} = \bar{y} = 0,239$	$\hat{y} = \bar{y} = 0,225$
<b>S</b>	$\hat{y} = \bar{y} = 0,233$	$\hat{y} = \bar{y} = 0,226$
<b>B</b>	$\hat{y} = \bar{y} = 17,33$	$\hat{y} = \bar{y} = 20,69$
<b>Cu</b>	$\hat{y} = \bar{y} = 1,98$	$\hat{y} = \bar{y} = 1,76$
<b>Mn</b>	$Y = 340,3 + 0,00406X \quad R^2 = 0,60$	$\hat{y} = \bar{y} = 569,8$
<b>Zn</b>	$Y = 9,98 + 0,00006X \quad R^2 = 0,57$	$\hat{y} = \bar{y} = 12,85$
<b>Fe</b>	$\hat{y} = \bar{y} = 127,6$	$\hat{y} = \bar{y} = 159,6$

Plantas infectadas por *M. paranaensis* avaliadas aos quatro e oito MAI não apresentaram alteração na concentração foliar dos macronutrientes P, Mg e S (Tabela 10). No entanto, nas plantas inoculadas com 32000 ovos detectaram-se os menores valores de N e os maiores valores de Ca comparados as plantas não infectadas aos quatro MAI. A concentração de Ca foi 45,8% maior que a

testemunha. O elemento K não apresentou um padrão definido entre os diferentes tratamentos aos oito MAI.

Quanto aos micronutrientes, nenhuma alteração foi observada na concentração de B, Cu, Mn, Zn e Fe entre os diferentes tratamentos aos quatro MAI (Tabela 12). A concentração de Mn e Zn nas plantas inoculadas foi maior que a das plantas testemunhas aos oito MAI. A concentração de Cu foi variável entre os diferentes tratamentos.

Tabela 10: Concentrações foliares de macronutrientes em mudas de cafeeiros inoculadas com diferentes concentrações de ovos de *M. paranaensis* aos quatro e oito meses após a inoculação (MAI)

Concentração de inóculo	N	P	K	Ca	Mg	S
g kg <sup>-1</sup>						
<b>4 MAI</b>						
0	54,5 a	1,4 ns	23,5 ns	5,3 b	2,7 ns	2,1 ns
8000	51,4 ab	1,5	24,3	5,2 b	2,6	2,1
32000	50,0 b	1,3	22,9	7,2 a	2,6	2,1
<b>8 MAI</b>						
0	38,3 ns	0,7 ns	22,0 ab	5,0 ns	2,5 ns	2,3 ns
8000	34,9	0,8	21,4 b	6,2	2,6	2,3
32000	36,8	0,7	24,5 a	6,0	2,7	2,8

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ), n.s = não significativo.

Tabela 12 - Concentrações foliares de micronutrientes em mudas de cafeeiros inoculadas com diferentes concentrações de ovos de *Meloidogyne paranaensis* aos quatro e oito meses após a inoculação (MAI)

Concentração de inóculo	<b>B</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>	<b>Fe</b>
g kg <sup>-1</sup>					
<b>4 MAI</b>					
0	24,6 ns	2,55 ns	313,27 ns	9,82 ns	108,3 ns
8000	26,8	1,75	297,07	9,97	95,96
32000	28,3	2,02	292,43	11,32	131,57
<b>8 MAI</b>					
0	14,06 ns	1,82 ab	620,4 a	6,97 a	122,1 ns
8000	17,17	2,20 a	692,7 b	7,33 b	139,2
32000	17,83	1,25 b	686,1 b	8,10 b	112,8

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ), n.s = não significativo.

## DISCUSSÃO

O aumento da reprodução, representado pelo número de ovos, com o aumento do nível de inóculo até quatro MAI e não aos oito MAI para ambos os nematóides, pode estar relacionado com a diminuição na disponibilidade de raízes com o prolongado período de parasitismo, haja vista que aos oito MAI a MMS das raízes infectadas por *M. paranaensis* foi menor em relação a testemunha, dado a agressividade desta espécie ao cafeeiro. Segundo Gonçalves *et al.* (1996) a diminuição na produção de ovos em plantas com altos níveis de inóculo, provavelmente, está relacionada à menor disponibilidade de raízes para a alimentação do nematóide, em função de um pobre crescimento radicular. Embora as raízes parasitadas por *M. exigua* não tenham sofrido redução na MMS, a limitação do aumento no número de ovos aos oito MAI pode ser devido ao alto grau de competição por alimento entre os nematóides, uma vez que se verificou redução na concentração dos carboidratos com o aumento do nível de inóculo. Além disso, a literatura mostra que em plantas com baixos níveis de infecção o crescimento da população do nematóide é exponencial por um curto período de tempo, e que com o aumento da competição e/ou por outro fator qualquer do ambiente as taxas de crescimento ficam cada vez menores (Carneiro *et al.*, 1999).

Quanto maior é o dano provocado pelo nematóide no sistema radicular mais comprometida fica a área foliar (Carneiro & Mazzafera, 2001) pois, com o parasitismo do nematóide a absorção de água e nutrientes fica prejudicada e, conseqüentemente o crescimento das folhas. No presente estudo isto se confirma, pois, quanto maior foi o grau de infecção por ambos os nematóides maior foi a redução na AACRC e na taxa de crescimento das plantas, principalmente para número de folhas e altura das plantas. A redução no crescimento das mudas de cafeeiro pode ter ocorrido não só em função da ineficiência do sistema radicular parasitado em absorver os nutrientes ou na diminuição no volume de raízes a explorar o solo, mas também em função do aumento do consumo de carboidratos na raiz com aumento do nível de inóculo.

Pois sabe-se que durante o crescimento das plantas os fotoassimilados são distribuídos de modo a manter um equilíbrio entre parte aérea e raiz (Alves, 2008). Contudo, na planta infectada a demanda do nematóide sedentário por energia para o crescimento e a sua reprodução nas raízes o torna um dreno metabólico (Carneiro & Mazzafera, 2001). Em tomateiro inoculado com 1000 J2 de *M. incognita*, o aumento do período de infecção nas plantas causou menor desenvolvimento radicular, redução progressiva na expansão da área foliar, assim como redução no conteúdo de glicose, amido e sacarose nas folhas e nas raízes (Anwar, 1995).

Diferentes trabalhos comprovaram a redução no crescimento do cafeeiro com o aumento do nível de inóculo do nematóide. Gonçalves *et al.*, (1996) verificaram reduções crescentes na altura e na matéria seca da parte aérea de cafeeiro infectado com *M. exigua* e *M. incognita*. No presente trabalho, apesar das duas espécies terem afetado o crescimento das mudas, vale ressaltar que somente *M. paranaensis* afetou o número de ramos e a MMS das raízes aos oito MAI. Em condições de campo, esta espécie provoca destruição do sistema radicular e sintomas de desnutrição na parte aérea (Salgado *et al.*, 2008). Os menores danos ocasionados por *M. exigua* pode ser porque o parasitismo deste nematóide no cafeeiro não provoca destruição do sistema radicular, por isso, muitas vezes a presença desta espécie no campo passa despercebida (Gonçalves & Silvarolla, 2007). Embora não tenha sido observada redução significativa na matéria seca das raízes das plantas inoculadas com *M. exigua*, Boneti *et al.* (1982) registraram redução de cerca de 47% no peso da matéria seca das raízes de cafeeiro inoculadas com  $2,0 \times 10^4$  e  $2,5 \times 10^4$  ovos. No entanto, o autor do trabalho utilizou mudas de cafeeiro da cultivar Mundo Novo com oito meses de idade e avaliou as raízes aos 140 dias após a inoculação. No presente trabalho utilizaram-se mudas com 4-6 pares de folhas do café Catuaí Vermelho IAC 144 avaliadas aos quatro e aos oito MAI.

Quanto aos aspectos fisiológicos das mudas inoculadas, apesar de vários trabalhos comprovarem o efeito danoso dos fitonematóides na fisiologia das plantas (Melakeberhan *et al.*, 1990; Mazzafera *et al.*, 2004; Asmus & Ferraz, 2002), não se verificaram alterações significativas nos processos fisiológicos do

cafeeiro, como fotossíntese, condutância estomática e transpiração, mesmo nos níveis mais elevados de inóculo de *M. exigua* e *M. paranaensis*. Da mesma forma, Souza (2008) não verificou relação entre o parasitismo de *M. exigua* e a taxa fotossintética, a condutância estomática, a transpiração e o potencial hídrico de plantas de café.

Apesar do parasitismo do nematóide não ter afetado diretamente a fotossíntese das plantas infectadas, indiretamente pode-se dizer que houve uma menor oferta de fotoassimilados, pois verificou-se redução no número de folhas, tanto nas plantas parasitadas por *M. exigua* quanto naquelas por *M. paranaensis* com o aumento do nível de inóculo. Adicionalmente, é importante considerar que a taxa fotossintética líquida obtida a partir da medição em uma pequena porção da folha não seria muito adequada para representar a fotossíntese líquida total de uma planta (Asmus & Ferraz, 2001).

Somente o potencial hídrico das plantas aos quatro MAI se mostrou alterado pelo parasitismo de *M. exigua*. Contudo, não seria pertinente afirmar que isso traria prejuízos à planta, pois a fotossíntese do cafeeiro começa a ser prejudicada por potenciais hídricos próximos a - 2,0 Mpa (Livramento, 2010), e no presente estudo os potenciais não ultrapassaram - 0,6 Mpa.

Muitos estudos da relação dos nematóide com o potencial de água da planta tem focalizado na relação causa-efeito. Entretanto, para entender de forma mais completa a redução na disponibilidade de água devido ao parasitismo de nematóide seria necessário avançar além da relação causa-efeito, separando o estresse biótico do abiótico e quantificar seu efeito aditivo ou interativo no crescimento da planta (Melakeberhan, 2004).

Ainda que não tenham sido detectados efeitos significativos da população do nematóide nos aspectos fisiológicos das mudas de cafeeiro, alterações na partição dos carboidratos ficaram evidentes. Nas mudas infectadas por *M. exigua* ocorreu redução na concentração dos carboidratos com o aumento do nível de inóculo inicial, provavelmente porque com o aumento do nível populacional do nematóide, também aumentou o consumo energético. As menores concentrações de amido e AST detectadas aos oito MAI comparadas quatro quatro MAI, se

justificam porque após oito meses de infecção nas raízes vários ciclos do nematóide já ocorreu, aumentando a demanda por alimento.

Com relação a *M. paranaensis*, as alterações provocadas na concentração dos carboidratos nas raízes tiveram comportamento diferente daquelas observadas com *M. exigua*. De um modo geral, com curto período de infecção, ou seja, quatro MAI, o parasitismo do nematóide induziu ao aumento na concentração dos AR e AST em relação a testemunha, não afetando os carboidratos nas raízes não infectadas das plantas inoculadas. Porém, com o aumento do tempo de parasitismo, oito MAI, o aumento da concentração dos AR e do amido persistiu apenas nas plantas com menores níveis de infecção, ou seja, 8000 ovos. Nas plantas com inóculo inicial de 32000 ovos a concentração de AR, AST e amido não aumentou, provavelmente devido ao alto nível populacional de nematóides se alimentado na raiz. O trabalho realizado por Abrão & Mazzafera, (2001) corrobora os resultados encontrados nestes ensaios. Em plantas de algodoeiro inoculadas com 500 ovos de *M. incognita* ocorreu aumento na concentração de açúcares nas folhas, porém naquelas inoculadas com 5000 ovos houve decréscimo na sua concentração. Os autores sugerem que isso ocorreu devido à drenagem preferencial dos carboidratos das folhas para as raízes.

Embora as duas espécies de nematóide tenham se comportado de forma diferenciada quanto às alterações na partição dos carboidratos, verificou-se que ambas afetaram os carboidratos nos tecidos não infectados das plantas inoculadas, demonstrando que o nematóide é capaz de atuar como dreno metabólico não somente na galha ou região de engrossamento, mas também nas áreas circunvizinhas. Os resultados do presente estudo sugerem que a alteração na partição dos carboidratos parece estar ligada a espécie do nematóide (Carneiro *et al.*, 1999) e ao nível populacional do nematóide.

Com relação ao aspecto nutricional das mudas inoculadas com *M. exigua*, embora a concentração de Ca tenha aumentado com o aumento do nível de inóculo, os valores ficaram abaixo da faixa crítica, a qual se refere aos teores foliares de nutrientes no cafeeiro que servem como padrão para identificação de deficiência ou excesso (Gontijo, 2007). A faixa crítica para o teor foliar de Ca em mudas de cafeeiro com um ano de formação é de 12,7 a 14,1 g/kg (Clemente,

2005), no presente trabalho o maior valor não superou 11,8 g/kg aos oito MAI, ou seja, a concentração de Ca estava muito próxima dos níveis adequados.

Já para o Mn plantas inoculadas e não inoculadas apresentaram concentrações elevadas desse elemento nas folhas, pois a faixa crítica para este elemento é de 127,1 a 178,6 mg/kg (Clemente, 2005). No caso, as plantas não infectadas apresentaram valores de 351,2 mg/kg e plantas inoculadas com 32000 ovos 500,5 mg/kg, o que excede a faixa crítica. De acordo com Carneiro *et al.* (2002) o aumento na concentração de nutrientes na parte aérea de plantas infectadas por nematóides pode estar ligado a redução no crescimento da planta e a redistribuição do nutriente das raízes para a parte aérea. A elevação na concentração de Zn nas folhas com o aumento do nível de inóculo de *M. exigua* atingiu o máximo de 12,02 mg/kg, o que não representa excesso, pois está bem próximo dos valores da faixa crítica exigida pelo cafeeiro (Clemente, 2005). Diferentemente, Boneti *et al.*, (1982) não observaram alteração nos níveis de Mn e Zn em plantas de cafeeiro inoculadas com diferentes concentrações de inóculo de *M. exigua*. No entanto, os autores trabalharam com café da cultivar Mundo Novo e com concentração de inóculo diferente das que foram utilizadas no presente ensaio, o que em parte pode justificar as diferenças encontradas entre os resultados.

As concentrações de N, P, K, Mg, B e Fe não diferiram nas folhas de plantas parasitadas ou não por *M. exigua*. Estes resultados se assemelham aos de Santos *et al.* (1981) que não encontraram relação do nível de inóculo com os teores de P, K, Mg e Ca na matéria seca da parte aérea de cafeeiro da Cultivar Mundo Novo.

No segundo ensaio, embora as mudas parasitadas por *M. paranaensis* tenham apresentado redução na concentração de N aos quatro MAI, isto não deve ser interpretado como deficiência pois está acima do nível crítico estabelecido para mudas de cafeeiro (Clemente, 2005). Mas vale ressaltar que a persistência deste comportamento em uma situação de prolongado período de parasitismo, poderia a longo prazo, resultar em deficiência nutricional. Da mesma forma, o aumento na concentração de Ca com aumento do nível de inóculo quatro MAI não

representou excesso, pois em todos os tratamentos a concentração de Ca estava abaixo do nível crítico, ou seja, as plantas estavam deficientes neste nutriente.

Para os micronutrientes, os maiores valores encontrados para o Mn aos oito MAI nas plantas inoculadas com ambas as espécies corresponderam a concentrações excessivas, uma vez que extrapolaram a faixa crítica. No caso do Zn, apesar da concentração ter sido maior nas mudas inoculadas comparadas a não inoculadas, esses valores estavam abaixo do nível crítico que é de 11,5 a 11,9 mg/kg para cafeeiros com um ano de formação (Clemente, 2005). Nenhuma alteração na concentração de micronutrientes foi detectada nas mudas inoculadas com *M. paranaensis* comparado às não inoculadas aos quatro MAI. Isto sugere que aos quatro MAI a população do nematóide não foi suficientemente alta para provocar distúrbios na concentração dos micronutrientes.

Conclui-se que os danos causados pelos nematóides na fisiologia e na distribuição dos carboidratos, foram dependentes da população de nematóide nas raízes do cafeeiro. No entanto, *M. paranaensis* mostrou-se mais agressivo, uma vez que, diferentemente de *M. exigua*, afetou a massa da matéria seca nas fases mais jovem das mudas, a emissão de ramos e provocou queda no teor de Cu.

Conclui-se que oito meses foi o período de tempo adequado para os estudos da interação de *Meloidogyne* com o cafeeiro, embora tenha havido limitação no crescimento populacional do nematóide. A concentração de 8000 ovos mostrou ser o pico máximo para se verificar efeitos do nematóide nas variáveis estudadas. *M. paranaensis* mostrou-se mais agressivo ao cafeeiro que *M. exigua*, uma vez que, somente ele afetou o número de ramos e a MMS das raízes. As alterações na partição dos carboidratos foram dependentes da espécie e do nível populacional do nematóide. Os nematóides atuaram como drenos metabólicos fortes, pois alteraram a concentração dos carboidratos nas regiões da raiz distante do ponto de infecção. A relação da reprodução do nematóide (ovos) com a intensidade dos danos causados não deve ser analisada de forma isolada, pois *M. paranaensis* apresentou o menor número de ovos, entretanto, foi mais danoso em alguns aspectos que *M. exigua* com elevado número de ovos. A relação do parasitismo do nematóide com a fisiologia do cafeeiro deve ser

investigada em condições ambientais controladas para que se possa isolar os efeitos abióticos na interação.

## REFERÊNCIAS

ABRÃO, M. M.; MAZZAFERA, P. 2001. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. *Bragantia*, 60 (1):19-26.

ALVES, J. D. 2008. Morfologia do cafeeiro. In: CARVALHO, C. H. S. (Ed.). Cultivares de café – Origem, características e recomendações. Brasília: Embrapa café, p. 35-58.

ALFONSI, E. L. 2003. Avaliação do potencial para porta-enxerto de genótipos de *Coffea* por meio de características fisiológicas de crescimento, trocas gasosas, fotossintéticas e nutrição mineral. Dissertação de mestrado apresentada ao Instituto Agrônômico de Campinas. 87p.

ANWAR, S. 1995. Influence of *Meloidogyne incognita*, *Paratrichodorus minor* and *Pratylenchus scribneri* on root/shoot growth and carbohydrate partitioning in tomato. *Pakistan Journal of Zoology*, Lahore, 27:105-113.

ASMUS, G. L.; FERRAZ, L. C. C. B. 2001. Relações entre a densidade populacional de *Meloidogyne javanica* e a área foliar, a fotossíntese e os danos causados a variedades de soja. *Nematologia Brasileira*. 25 (1): 1-13.

ASMUS, G. L.; FERRAZ, L. C. C. B. 2002. Effect of population densities of *Heterodera glycines* race 3 on leaf area, photosynthesis and yield of soybean. *Fitopatol. Bras*, 27(3): 273-278.

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S.; BRAGA, J. M.; OLIVEIRA, L. M. 1982. Influência do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção de micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn e B) e sobre o vigor de mudas de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 7:197-206.

BONETI, J. I.S.; FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, 6: 553.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. 1990. Crop loss assessment and modeling. In: Campbell, C.L. & Madden L.V. Introduction to plant disease epidemiology. New York, John Wiley & Sons, Cap. 14, p. 393-422.

CAMPOS, V. P.; VILLAIN, L. 2005. Nematodes Parasites of coffee and Cocoa. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. ( 2<sup>nd</sup> Edition). Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture. Wallingford UK: CAB International, p. 529-579.

CARNEIRO, R. G.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L. C. C. B. 1999. Carbon Partitioning in Soybean Infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. Journal of Nematology 31(3):348–355.

CARNEIRO, R. G.; MAZZAFERA, P. 2001. Relação fonte-dreno e absorção e transporte de minerais em plantas infectadas por nematóide. In: Ferraz, L. C. C. B; Asmus, G. L.; Carneiro, R. G.; Mazzafera, P.; Silva, J. F. V. Relações parasito-hospedeiro nas *Meloidogynoses* da soja. 127 p.

CARNEIRO, R. G.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L. C. C. B; MURAOKA, T.; TRIVELIN, P. C. O. 2002. Uptake and translocation of nitrogen, phosphorus and calcium in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*. Fitopatologia Brasileira, Fortaleza, 27(2): 141-150.

CLEMENTE, F. M. V. T. 2005. Faixas críticas de teores foliares de macro e micronutrientes no cafeeiro (*Coffea arabica* L.) no primeiro ano de formação da lavoura. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, 63 p.

FERREIRA, D. F. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45. São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCar, p. 255-258.

FRY, W.E. 1978. Quantification of general resistance of potato cultivars and fungicide effects for integrated control of potato late blight. *Phytopathology*, 68: 1650-1655.

GONÇALVES, W.; FERRAZ, L. C. C. B.; LIMA, M. M. A.; SILVAROLLA, M. B. 1996. Patogenicidade de *M. exigua* e *M. incognita* raça 1 a mudas de cafeeiro. *Bragantia* – Campinas. 55(1): 89-93.

GONÇALVES, W.; RAMIRO, D. A.; GALLO, P. B.; GIOMO, G. S. 2004. Manejo de nematóides na cultura do cafeeiro. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO – CAFÉ, 10. Mococa. Anais ... São Paulo: Instituto Biológico, p. 48-66.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M. B. 2007. A luta contra a doença causada pelos nematóides parasitos do cafeeiro. *O Agrônomo*, Campinas 59 (1):54-56.

GONTIJO, R. A. N.; CARVALHO, J. G.; GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; ANDRADE, W. E. B. 2007. Faixas críticas de teores foliares de micronutrientes em mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). *Coffee Science*, Lavras, 2(2):135-141.

HUANG, C. S. 1985. Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In: Sasser, J. N., Carter, C. C. (eds). *An advanced treatise on Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p. 155-164.

HUSSEY, R. S. 1985. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: Sasser, J. N., Carter, C. C. (eds). *An advanced treatise on*

*Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p. 143-153.

HURCHANIK, D.; SCHMITT, D. P.; HUE, N. V.; SIPES, B. S. 2004. Plant Nutrient Partitioning in Coffee Infected with *Meloidogyne konaensis*. Journal of Nematology, 36(1): 76-84.

KIRKPATRICK, J. D.; VAN GUNDY, S. D; MAI, W. F. 1964. Interrelationships of plant nutrition, growth, and parasitic nematodes. Plant Analysis and Fertilizer Problems, 4: 189-25.

LIVRAMENTO, D, E. 2010. Morfologia e fisiologia do cafeeiro. In: Reis, P. R.; Cunha, R. L. Café arábica do plantio a colheita. Vol.1. 87-161.

LOVEYS, B. R.; BIRD, A. F. 1973. The influence of nematodes on photosynthesis in tomato plants. Physiological Plant Pathology, 3:525–529.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVIERA, S. A. 1989. Avaliação do estado nutricional de plantas. Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 201 p.

MAZZAFERA, P.; KUBO, R. K.; INOMOTO, M. M. 2004. Carbon fixation and partitioning in coffee seedlings infested with *Pratylenchus Coffeae*. European Journal of Plant Pathology 110: 861–865.

MELAKEBERHAN, H.; FERRIS, H.; DIAS, J. M. 1990. Physiological response of resistant and susceptible *Vitis vinifera* cultivars to *Meloidogyne incognita*. Journal of Nematology, 22(2): 224-230.

MELAKEBERHAN, H. 2004. Physiological interactions between nematodes and their host plant. In: Chen, Z. X.; Chen, S. Y.; Dickson D. W. Nematology: Advance and Perspectives. 771-794.

MILLER, G. L. 1959. Use dinitrosalicílico acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Biochemistry. Washington, 31 (3).

OLIVEIRA, R. D. L.; DHINGRA, O. D.; LIMA, A. O.; JHAM, G. N.; BERHOW, M. A.; HOLLOWAY, R. K.; VAUGHN, S. F. 2011. Glucosinolate content and nematicidal activity of Brazilian wild mustard tissue against *Meloidogyne incognita* in tomato. Plant Soil, 341:155-164.

SALGADO, S. M. L.; PEREIRA, T. B.; ABREU, F. A. 2008. Cafeicultor: Cuidado com os nematóides que parasitam o cafeeiro. Circular Técnica, n.37. EPAMIG.

SALGADO, S. M. L.; RESENDE, J. C. 2010. Manejo de fitonematóides em cafeeiro. In: Reis, P. R.; Cunha, R. L. Café arábica do plantio a colheita. Vol.1. Epamig – Lavras - MG, p.757-804.

SANTOS, J.; FERRAZ, S.; OLIVEIRA, L. M. 1981. Efeito do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção e translocação de nutrientes em mudas de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, 6:333-340.

SOUZA, R. M. 2008. Plant Parasitic Nematodes of coffee. UENF. Editora Springer. 340 p.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C. 1954. The stimulation of carbohydrates in plant extracts by antrone. The Biochemistry journal, 57.

## Capítulo 2

Alterações fisiológicas causadas por *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis* ao cafeeiro sob condições de temperatura controlada

## INTRODUÇÃO

Diversos fatores afetam o crescimento e a produção do cafeeiro, entre eles os nematóides merecem atenção, pois parasitam as raízes da planta durante períodos prolongados no campo (Salgado & Resende, 2010), causando sérios prejuízos. Os nematóides de maior importância para a cultura pertencem ao gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematóides das galhas radiculares, pois ocorrem nas principais regiões produtoras de café do Brasil e causam perdas na produtividade, as quais variam com a espécie de nematóide, a densidade populacional e a suscetibilidade da cultivar (Salgado & Resende, 2010). As espécies de maior ocorrência são *M. exigua*, *M. incognita*, *M. paranaensis* e *M. coffeicola* (Campos & Villain, 2005).

Quando os juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne* penetram nas raízes das plantas se localizam na região do tecido vascular (Huang, 1985), preferencialmente, no floema primário ou tecido adjacente (Byrne *et al.*, 1977). Para manter o parasitismo estável neste local, o nematóide injeta secreções esofageanas, por meio do estilete, que induz a formação do sítio de alimentação, formado geralmente por 3-6 células. Estas células metabolicamente modificadas, também chamadas de células gigantes (Hussey, 1985), apresentam o citoplasma denso com muitos núcleos, numerosos plastídeos e ribossomos, pequenos vacúolos, dentre outros (Abad *et al.*, 2003).

A formação das células gigantes na região vascular altera diversos processos fisiológicos e bioquímicos na planta (Carneiro *et al.*, 1999; Melakeberhan, 2004), assim como prejudica a absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular (Hussey, 1985).

A alta atividade metabólica da célula gigante durante a alimentação do nematóide estimula a mobilização dos fotoassimilados da parte aérea para as raízes (Carneiro *et al.*, 1999), principalmente na fase de reprodução do nematóide, quando as fêmeas adultas de *Meloidogyne* necessitam de consideráveis quantidades de nutrientes para a produção de ovos (Hussey, 1985). Dessa forma, os nematóides atuam como drenos metabólicos afetando a partição do carbono na

planta (Carneiro *et al.*, 2002). Entretanto, essas alterações são dependentes da espécie de nematóide e da planta.

Dos fotoassimilados, a sacarose é o principal açúcar translocado no floema das plantas (Taiz & Zeiger, 2004). Para um equilíbrio entre parte aérea/raiz é necessário a divisão coordenada dos carboidratos (Alves, 2008). A sacarose, carboidrato solúvel, é primordial para o metabolismo da célula e para o crescimento e desenvolvimento da planta (Gardin, 2006) e o amido, carboidrato insolúvel, é a principal forma de armazenamento de carbono na planta.

Entretanto, nas plantas infectadas por nematóides do gênero *Meloidogyne*, a sacarose translocada no floema é exportada ou difundida no apoplasto da galha, e posteriormente, é importada para a célula gigante. Antes da entrada da sacarose na célula gigante, a mesma pode ser parcialmente clivada em frutose + glicose (Hammes *et al.*, 2005).

No presente trabalho, objetivou-se avaliar alterações fisiológicas e bioquímicas em cafeeiros inoculados com *M. exigua* e *M. paranaensis* em condições controladas de temperatura.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Obtenção e multiplicação do inóculo

A multiplicação do inóculo de *M. exigua* e *M. paranaensis* foi realizada como descrita no item 1 do capítulo 1.

A extração dos ovos de *M. exigua* de raízes de cafeeiro infectadas e de *M. paranaensis* a partir de raízes de tomateiro infectadas foi feita segundo a metodologia de Boneti & Ferraz (1981). A suspensão de ovos obtida nesta etapa foi recolhida e colocada em câmara de eclosão por 48 h, após este período os juvenis de segundo estágio (J2) obtidos foram recuperados e a suspensão calibrada para 300 J2/mL.

### 2. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento com temperatura controlada para  $25^{\circ}\text{C}\pm 1,0$ . Mudanças de cafeeiro da variedade IAC 144 Catuaí Vermelho com quatro pares de folhas foram transplantadas para vasos de 1 L de capacidade contendo uma mistura de solo e areia (2:1), previamente, tratado com óleo de mostarda (Oliveira *et al.*, 2011). Após o transplante, as mudas permaneceram na câmara por uma semana para aclimação. Após esse período inocularam-se as mudas com 1500 J2 de *M. exigua* ou *M. paranaensis* colocando-se 5 mL da suspensão de J2 em quatro orifícios ao redor do colo da planta. As plantas testemunhas não receberam inóculo. Mudanças inoculadas e não inoculadas foram mantidas nesta condição por cinco meses. Durante este período as plantas foram irrigadas manualmente e receberam os tratamentos culturais necessários.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos (plantas inoculadas com *M. exigua*, com *M. paranaensis* e sem inoculação) e com 8 repetições cada tratamento.

### **3- Avaliações**

#### **3.1 Análise nematológica**

Cinco meses após a inoculação (MAI), a parte aérea das plantas foi removida e as raízes das plantas avaliadas quanto ao número de galhas de *M. exigua* e *M. paranaensis*. O número de galhas de *M. paranaensis* se refere à soma do número de galhas e o número de engrossamentos (sintoma típico desta espécie). Após essa etapa, os ovos foram extraídos segundo a metodologia de Boneti & Ferraz (1981) e contabilizados em câmara de Peters. A contagem foi realizada em oito repetições.

#### **3.2 Crescimento vegetativo**

Mensalmente foi feita a avaliação do crescimento vegetativo das mudas registrando-se a altura (medição do colo da planta até o ápice da região meristemática), número de folhas e o diâmetro do caule das plantas (medição com paquímetro na região abaixo do par de folhas cotiledonares) em oito repetições. Ao final dos cinco meses, determinou-se a massa da matéria seca (MMS) das raízes em quatro repetições. Para obtenção da massa seca utilizou-se 1g de raiz fresca, a qual foi colocada para secar em estufa a 60°C até atingir peso constante.

#### **3.3 Quantificação de açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e amido em raízes.**

Para a quantificação dos carboidratos, foram usadas amostras de 0,3 g de tecido de galhas com *M. exigua* ou *M. paranaensis*, e de tecido não infectado de raiz de plantas inoculadas aos cinco MAI. Imediatamente após, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido para a paralisação do metabolismo das raízes. A quantificação da concentração dos açúcares solúveis totais (AST), açúcares redutores (AR) e amido seguiu a metodologia do item 3.3 do capítulo 1. Para cada tratamento utilizaram-se 8 repetições.

### **3.4 Potencial hídrico e trocas gasosas**

Aos cinco MAI, foi mensurado o potencial hídrico de antemanhã ( $\psi_w$  máximo) às 6 horas, com o auxílio de uma câmara de pressão do tipo Scholander (Soil Moisture - modelo 3005).

Concomitantemente, foi feita também a medição da fotossíntese líquida (A), da condutância estomática (gs), da transpiração (E) e da concentração interna de CO<sub>2</sub> (Ci) por meio de um analisador portátil de gás ao infravermelho (IRGA) modelo ADC LCA 4 (Roddson, UK).

Para estas medições foram utilizadas folhas completamente expandidas (ALFONSI, 2003), localizadas no terço superior da planta, posicionada no terceiro par do ápice para a base da muda de cafeeiro, totalizando-se oito repetições.

### **3.5 Análise foliar de macro e micronutrientes**

Cinco meses após a inoculação das plantas, folhas localizadas entre o 3° e o 4° par do ápice para base da planta foram coletadas para a determinação da concentração de macro e micronutrientes. Amostras de folhas de quatro repetições de cada tratamento foram coletadas e acondicionadas separadamente em sacos de papel, devidamente etiquetados e levadas para a secagem em estufa de circulação forçada de ar, a temperatura de 60°C até peso constante. Após a secagem as amostras foram moídas em moinho tipo Wiley e as análises de macro e micronutrientes foram feitas conforme Malavolta *et al.* (1989).

### **3.6 Análise estatística**

Os dados de crescimento das plantas (altura, diâmetro do caule e número de ramos) foram utilizados para calcular o incremento no crescimento das mudas, obtidos a partir do crescimento final (última avaliação, 5 MAI) menos o crescimento inicial (1ª avaliação, 1 MAI).

As variáveis, número de galhas e ovos, foram transformadas para  $\ln(x)$ .

Os dados de crescimento (incremento) e das demais variáveis foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e de homogeneidade de variância de Bartlett. Posteriormente, foram submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ). Em ambos os casos utilizou-se o programa de análises estatísticas Sisvar (Ferreira, 2000)

## RESULTADOS

### 1- Análise nematológica

O número de galhas e ovos diferiu significativamente entre os tratamentos pelo teste F ( $P \leq 0,01$ ), ou seja, o número de galhas e ovos foi diferente quando as mudas de cafeeiro mantidas a 25°C era inoculada com *M. exigua* ou *M. paranaensis* (Tabela 1).

O número de galhas e ovos de *M. exigua* foi 94,5% e 87,4% maior que o de *M. paranaensis*, respectivamente.

Tabela 1: Número médio de galhas e ovos em mudas de cafeeiro inoculadas com juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis*

Tratamentos	Galhas	Ovos
<i>M. exigua</i>	988,3	126.256
<i>M. paranaensis</i>	54,3	15.806

F= 0,0000\* (galhas); F= 0,0005\* (ovos)

### 2- Crescimento vegetativo

Não houve efeito significativo entre os tratamentos no incremento de folhas e no diâmetro do caule das mudas de cafeeiro cinco meses após a inoculação pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) (Tabela 2). Entretanto, nematóides de ambas as espécies provocaram redução na altura das plantas (de 36 a 43,6 %) quando comparada com as plantas não inoculadas.

A menor massa da matéria seca (MMS) das raízes foi observada nas plantas infectadas por *M. paranaensis* ( $P \leq 0,05$ ). A MMS das raízes de mudas parasitadas por *M. exigua* não diferiram da testemunha (Tabela 3).

Tabela 2: Altura, número de folhas e diâmetro de caule de mudas de café inoculadas com juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* ou *M. paranaensis*

Tratamentos	Variáveis de crescimento
	<b>Altura (Cm)</b>
Testemunha	5,02 a
<i>M. exigua</i>	3,21 b
<i>M. paranaensis</i>	2,83 b
	<b>Número de folhas</b>
Testemunha	5,25 ns
<i>M. exigua</i>	4,12
<i>M. paranaensis</i>	5,12
	<b>Diâmetro do caule</b>
Testemunha	2,43 ns
<i>M. exigua</i>	2,32
<i>M. paranaensis</i>	2,61

Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ). ns = não significativo.

Tabela 3: Massa da matéria seca de raízes de café parasitadas por *Meloidogyne exigua* ou *M. paranaensis* em câmara de crescimento a 25°C.

Tratamentos	Massa da matéria seca de raízes
Testemunha	1,97 a
<i>M. exigua</i>	1,61 ab
<i>M. paranaensis</i>	1,26 b

Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ).

### 3- Quantificação de açúcares solúveis totais (AST), redutores (AR) e amido em raízes.

Observou-se que a concentração de AR nos tecidos de galhas induzidas por *M. exigua* diferiu dos demais tratamentos pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) (Tabela 4), nos quais foram detectadas as maiores concentrações. Nos segmentos de raízes não infectados das plantas inoculadas nenhuma alteração foi verificada comparada a testemunha. Para os AST não houve nenhuma alteração na sua concentração nos tecidos de galha ou nos tecidos não infectados comparado aos níveis de AST na testemunha. A concentração de amido foi menor nas galhas induzidas por *M. exigua*, no entanto, quando se analisa o amido nas raízes não infectadas, ambas as espécies provocaram redução na concentração, comparado a testemunha.

Tabela 4: Concentração de açúcares redutores (AR), açúcares solúveis totais (AST) e amido em tecidos de galhas e segmentos de raízes sem nematoides de mudas de cafeeiro inoculadas com juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* ou *M. paranaensis*

Inóculo	Tecido de galha	Tecido não infectado
	AR	AR
Testemunha	25,8 a	25,8 ns
<i>M. exigua</i>	39,3 b	29,1
<i>M. paranaensis</i>	31,3 a	26,0
	AST	AST
Testemunha	69,7 ns	69,7 ns
<i>M. exigua</i>	66,1	74,6
<i>M. paranaensis</i>	71,5	68,5
	Amido	Amido
Testemunha	20,2 a	20,2 a
<i>M. exigua</i>	13,8 b	15,6 b
<i>M. paranaensis</i>	16,1 ab	12,6 b

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ). n.s = não significativo.

#### 4- Potencial hídrico e trocas gasosas

Houve efeito dos tratamentos nas variáveis fisiológicas pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) (Tabela 5). As menores taxas fotossintéticas foram observadas nas plantas inoculadas com *M. paranaensis*. No entanto, ambas as espécies de nematóide reduziram as taxas transpiratórias da planta e a condutância estomática comparado as plantas não inoculadas. O potencial hídrico das plantas não foi afetado pelos nematóides. A concentração de  $C_i$  foi menor na interação cafeeiro/*M. paranaensis*.

Tabela 5: Trocas gasosas e potencial hídrico de mudas inoculadas com juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis* em câmara de crescimento a 25°C

Tratamentos	Variáveis fisiológicas
	$A$ ( $\mu\text{mol. CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{S}^{-2}$ )
Testemunha	4,39 a
<i>M. exigua</i>	3,65 ab
<i>M. paranaensis</i>	2,97 b
	$g_s$ ( $\text{mol H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{S}^{-2}$ )
Testemunha	0,096 a
<i>M. exigua</i>	0,050 b
<i>M. paranaensis</i>	0,035 b
	$E$ ( $\mu\text{mol. CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{S}^{-2}$ )
Testemunha	1,90 a
<i>M. exigua</i>	1,05 b
<i>M. paranaensis</i>	0,77 b
	$\Psi$ (MPa)
Testemunha	-0,48 ns
<i>M. exigua</i>	-0,51
<i>M. paranaensis</i>	-0,64
	$C_i$
Testemunha	275,74 a
<i>M. exigua</i>	241,11 ab
<i>M. paranaensis</i>	218,09 b

$A$  = fotossíntese,  $g_s$  = condutância estomática,  $E$  = transpiração,  $C_i$  = concentração interna de  $\text{CO}_2$ . Médias seguidas pelas mesmas letras, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ).

#### 4- Análise foliar de macro e micronutrientes

Não houve diferença na concentração de N, P, Mg, B, Cu e Zn pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ) entre plantas inoculadas e não inoculadas. Mas, plantas inoculadas com *M. paranaensis* apresentaram menor quantidade de K e Ca (Tabela 6), Mn e Fe (Tabela 7) nas folhas comparado as plantas não parasitadas. A concentração de enxofre foi maior nas plantas infectadas (Tabela 6).

Tabela 6: Teores foliares de macronutrientes em mudas de cafeeiro inoculadas com juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis*

	<b>N</b>	<b>P</b>	<b>K</b>	<b>Ca</b>	<b>Mg</b>	<b>S</b>
	<b>g kg<sup>-1</sup></b>					
Testemunha	27,4 a	2,4 a	16,1 a	23,7 a	4,4 a	2,1 b
<i>M. exigua</i>	28,3 a	1,7 a	13,2 ab	25,5 a	4,2 a	3,7 a
<i>M. paranaensis</i>	27,9 a	1,5 a	12,8 b	20,4 b	4,1 a	3,4 a

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ).

Tabela 7: Teores foliares de micronutrientes em mudas de cafeeiro inoculadas com juvenis de segundo estágio de *M. exigua* e *M. paranaensis*

	<b>B</b>	<b>Cu</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>	<b>Fe</b>
	<b>mg kg<sup>-1</sup></b>				
Testemunha	68,55 a	6,22 a	336,7 b	13,6 a	563,7 b
<i>M. exigua</i>	64,87 a	5,35 a	199,9 b	13,2 a	202,1 b
<i>M. paranaensis</i>	68,55 a	5,32 a	162,9 a	12,8 a	190,2 a

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $\alpha = 5\%$ ).

## DISCUSSÃO

O número de ovos reflete a capacidade de reprodução do nematóide que por sua vez, é reflexo da resposta do sistema radicular ao ataque. No presente caso, verificou-se que *M. exigua* reproduziu mais que *M. paranaensis*, pois as plantas parasitadas por ele apresentaram maior número de ovos. Entretanto, há de se considerar que normalmente, o ataque de *M. exigua* é menos severo, uma vez que os juvenis atacam preferencialmente as radículas (Salgado *et al.*, 2008). No caso de *M. paranaensis*, os danos que este nematóide provoca no sistema radicular são evidenciados por rachaduras e descorticamento, principalmente em raízes mais grossas, o que pode levar a destruição de parte dos feixes vasculares do floema prejudicando a translocação de fotoassimilados. Assim, como na fase inicial da muda há maior proporção de radículas, há também mais juvenis interagindo com elas e, bem sucedidamente, evoluindo para a fase adulta, o que resulta numa maior reprodução das fêmeas, como observado em *M. exigua*.

De maneira geral, a infecção das raízes, independentemente do tipo de nematóide, não diminuiu o número de folhas nem reduziu o diâmetro do caule quando se comparou as mudas parasitadas com as não parasitadas. Por outro lado, a altura das mudas foi significativamente diminuída com o parasitismo, sem, no entanto, haver diferença entre os nematóides. A matéria seca das raízes foi influenciada quando as mudas foram parasitadas por *M. paranaensis*. Já sob o ataque do *M. exigua*, observou-se que a massa da matéria seca das raízes foi semelhante a da testemunha.

A menor massa seca das raízes das mudas parasitadas por *M. paranaensis* sugere que a severidade de dano provocada por esse nematóide foi mais intensa. Sintomas do tipo necroses e apodrecimento de raízes mais finas, principalmente, próximas ao colo das plantas infectadas, também foram observados. Esses resultados, em conjunto, mostram que o menor número de ovos presentes nas raízes das mudas parasitadas por *M. paranaensis* se deveu aos danos causados por esse nematóide em função de sua agressividade de infecção. Neste caso, é possível que muitos ovos não tenham sido contabilizados por ter se perdido juntamente com as raízes que se desintegraram no solo.

De maneira geral as plantas buscam um equilíbrio entre parte aérea e raízes (Alves, 2008). Neste aspecto, pode-se inferir que os danos normalmente provocados no floema pelo *M. paranaensis*, em virtude do descorticamento e rachaduras na raiz (Campos & Villain, 2005) podem ter causado uma diminuição no transporte de fotoassimilados para as raízes e como consequência provocado a morte parcial do sistema radicular. Plantas com menor sistema radicular têm a absorção de água e de nutrientes comprometidas, o que deve ter afetado o crescimento das plantas em altura.

No caso das plantas parasitadas por *M. exigua*, observou-se que a massa seca das raízes foi tão abundante quanto à da testemunha. Na literatura há registros de que o aumento do nível de inóculo de *M. exigua* em mudas de cafeeiro resultou em redução na altura das plantas (Gonçalves *et al.*, 1996), na massa da matéria seca da parte aérea e da raiz (Boneti *et al.*, 1982), entretanto, estes autores utilizaram cafeeiro da variedade Mundo Novo, e no presente trabalho o Catuaí Vermelho IAC 144. Estes e outros fatores podem ter influenciado nos resultados, uma vez que, as perdas causadas por estes fitoparasitas na lavoura cafeeira depende da espécie de nematóide envolvida, da densidade populacional e da suscetibilidade da cultivar de café (Salgado & Campos, 2010).

Plantas parasitadas por nematóides têm sua fisiologia alterada, a qual ocorre em função da extensão dos danos que estes podem causar (Hussey, 1985). Neste experimento, foi observado que a fotossíntese foi menor nas mudas que se desenvolveram em solo com nematóide, e esse decréscimo foi mais intenso nas mudas parasitadas por *M. paranaensis* que *M. exigua*. A análise do comportamento estomático revelou que os estômatos das mudas parasitadas por ambos nematóides, que não diferenciaram entre si, apresentavam-se mais fechados que os da testemunha. Esse padrão de resposta refletiu diretamente na transpiração, ou seja, plantas parasitadas pelos nematóides, por estarem com seus estômatos mais fechados, transpiraram menos que aquelas não parasitadas. Por outro lado, os dados da concentração interna do CO<sub>2</sub> mostraram que nas folhas das mudas parasitadas por *M. paranaensis*, os seus valores estavam menores que os da testemunha que no caso, não diferiu daqueles das mudas onde *M. exigua*

estava presente em suas raízes. Ainda que a condutância estomática não explicasse as alterações fotossintéticas, o parasitismo de *M. paranaensis*, de alguma forma, afetou a fase fotoquímica da fotossíntese. De um modo geral, um menor rendimento da fase assimilatória do CO<sub>2</sub> se deveu aos danos no aparato fotossintético ou a inibição da síntese ou atividade da rubisco (Taiz & Zeiger, 2004).

No caso do parasitismo de *M. exigua*, essas hipóteses não podem ser consideradas haja vista que a Ci, quando comparada com a da testemunha, não variou. De qualquer modo, pesquisas relacionadas com a fisiologia do cafeeiro parasitado por *M. exigua* não detectaram relação do nematóide com a taxa fotossintética, a condutância estomática, transpiração e o potencial hídrico das plantas (Souza, 2008).

Na análise de carboidratos, observou-se que nas galhas induzidas por *M. exigua* houve um aumento nos teores dos AR. No caso de AST a variação nos teores nas plantas parasitadas não diferiu da testemunha. Já os teores de amido foram menores nas plantas parasitadas que naquelas isentas de nematóides.

Com relação aos carboidratos no sistema radicular das plantas deve-se levar em consideração a fotossíntese, translocação, armazenamento e uso desses carboidratos pelas raízes (Rena & Maestri, 1986). No caso de raízes parasitadas por nematóides é necessário considerar ainda sua utilização pelo próprio parasita. Portanto, a maior concentração nas galhas sugere que os mesmos foram translocados mais fortemente para essa região, a fim de suprir a alimentação dos nematóides (Carneiro *et al.*, 1999).

No presente caso, observou-se que a fotossíntese decresceu, na ordem, quando as mudas foram parasitadas por *M. exigua* e *M. paranaensis*. Quando se analisa os carboidratos, observou-se que os maiores teores de AR foram obtidos a partir das galhas de *M. exigua*. Esses resultados sugerem que nas raízes parasitadas por *M. exigua*, deve ter havido uma maior mobilização de sacarose para esse órgão e uma vez lá estabelecida, ela sofreu degradação aumentando assim, os níveis dos açúcares redutores glicose e frutose. No caso, este acúmulo sugere uma menor utilização desses açúcares como fonte de energia e carbono para seu crescimento e desenvolvimento. Ao se considerar o maior número de

ovos em raízes parasitadas por *M. exigua*, essa hipótese parece não se confirmar. Por outro lado, a menor concentração de amido nas galhas e na região não infectada das plantas inoculadas com *M. exigua* e também *M. paranaensis* é resultado de uma maior atividade metabólica por parte do nematóide em relação a este carboidrato.

As semelhantes concentrações de AST nas galhas de raízes parasitadas por ambos nematóides e a testemunha, mostram, ainda que indiretamente, uma provável maior mobilização de sacarose para as raízes parasitadas. Essa constatação decorre do fato de que, apesar do maior consumo de amido por parte de ambos os nematóides, existe ainda uma maior reserva de sacarose (açúcar não redutor, responsável pela quase totalidade dos AST) ainda disponível nas galhas e raízes induzidas pelos nematóides.

Embora, a concentração dos AR nas galhas induzidas por *M. paranaensis* tenham sido semelhantes a testemunha, sugere-se que após a mobilização deste açúcar para o sítio de alimentação do nematóide o mesmo tenha sido rapidamente consumido, e por isso não se acumulou nas galhas como ocorreu com *M. exigua*. Além disso, ao se observar que as mudas parasitadas pelo *M. paranaensis* apresentavam-se com menor sistema radicular, é possível que boa parte dos carboidratos translocado para esse órgão, estava sendo preferencialmente direcionada para as galhas ou regiões engrossadas da raiz em benefício do nematóide. Essas estruturas, no caso, parecem funcionar como drenos metabólicos preferenciais, reforçando a hipótese de que a região parasitada por ele altera o padrão normal de distribuição dos carboidratos na planta.

Apesar de *M. exigua* ter tido o comportamento semelhante a *M. paranaensis* em relação aos AST e amido, os carboidratos translocados para suas galhas parecem ser utilizados de forma mais lenta, já que os AR apresentaram-se em maior concentração. Neste caso, esse estoque de AR pode garantir, em longo prazo, um parasitismo prolongado sem maiores danos às raízes. No entanto, há que se considerar que os níveis de carboidratos em uma planta correlacionam-se com a população do nematóide que parasitam as raízes (Abraão & Mazzafera, 2001).

Quanto ao aspecto nutricional das mudas, àquelas inoculadas com *M. paranaensis* apresentaram as menores concentrações de K, entretanto, se considerarmos o nível crítico para este elemento, plantas infectadas por ambos os nematóides estavam com a concentração de K abaixo do nível crítico exigido. A maior deficiência de K nas mudas infectadas por este nematóide por ser devido à maior agressividade desta espécie ao cafeeiro o que resultou na redução da MMS das raízes, reduzindo a sua capacidade de absorção. Com relação ao Ca, Mn e Fe, embora as menores concentrações tenham sido observadas nas mudas infectadas por *M. paranaensis*, somente o Fe estava abaixo da faixa crítica. Contudo, este comportamento leva a crer que o parasitismo prolongado por esta espécie no cafeeiro poderia resultar em deficiências, pois no campo os danos causados são associados as deficiências nutricionais (Salgado *et al.*, 2008). Em cafeeiro infectado por *M. konaensis*, por exemplo, foi observado menor concentração de Ca nas folhas (Hurchanik *et al.*, 2004).

A concentração de S foi maior nas mudas infectadas comparado as não infectadas, no entanto, em todos os tratamentos a concentração foi superior ao nível crítico estabelecido para mudas de cafeeiro com um ano de formação (Clemente, 2005). Com exceção do S, todos os demais nutrientes foram semelhantes nas plantas inoculadas com *M. exigua* e as não inoculadas, o que pode estar relacionado aos menores danos provocados ao cafeeiro, visto que, as MMS das raízes infectadas não foram afetadas. Boneti *et al.* (1982) não observaram alteração nos níveis de Fe e Mn na parte aérea de cafeeiros infectados por *M. exigua*, no entanto, observou redução nestes elementos no sistema radicular das plantas infectadas.

Conclui-se que o menor número de ovos observados nas raízes parasitadas por *M. paranaensis* pode ter sido devido à destruição que o mesmo provocou no sistema radicular, uma vez, que a MMS das raízes foi menor. Os efeitos de *M. paranaensis* na fisiologia do cafeeiro foram mais danosos, uma vez que as plantas parasitadas por este apresentaram as menores taxas fotossintéticas. *M. exigua* parece armazenar AR como fonte extra de energia, garantindo o parasitismo do nematóide por tempo prolongado sem maiores danos. Ambas as espécies de nematóide atuaram como drenos metabólicos, principalmente em relação ao

amido, o qual sofreu alterações em tecidos de galhas e tecidos não infectados distantes do ponto de infecção (galha). Em relação aos nutrientes, *M. paranaensis* mostrou uma tendência mais forte a provocar deficiência nutricional.

## REFERÊNCIAS

- ABRÃO, M. M.; MAZZAFERA, P. 2001. Efeitos do nível de inóculo de *Meloidogyne incognita* em algodoeiro. *Bragantia*, 60 (1):19-26.
- ABAD, P.; FAVERY, B; ROSSO, M. N.; SERENO, P. C. 2003. Root-knot nematode parasitism and host response: Molecular basis of a sophisticated interaction. *Molecular Plant Pathology*, 4 (4):217–224.
- ALVES, J. D. 2008. Morfologia do cafeeiro. In: CARVALHO, C. H. S. (Ed.). *Cultivares de café – Origem, características e recomendações*. Brasília: Embrapa café, p. 35-58.
- BYRNE, J. M.; PESACRETA, T. C.; FOX, J. A. 1977. Vascular pattern change caused by a nematode, *Meloidogyne incognita* in the lateral root of *Glycine max* (L). *Merr. Am. J. Bot.* 64: 960-965.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. 1981. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6: 553.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S.; BRAGA, J. M.; OLIVEIRA, L. M. 1982. Influência do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção de micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn e B) e sobre o vigor de mudas de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 7:197-206.
- CAMPOS, V. P.; VILLAIN, L. 2005. Nematodes Parasites of coffee and Cocoa. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (2<sup>nd</sup> Edition). *Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture*. Wallingford UK: CAB International, p. 529-579.

CARNEIRO, R. G.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L. C. C. B. 1999. Carbon Partitioning in Soybean Infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. *Journal of Nematology* 31(3):348–355.

CARNEIRO, R. G.; MAZZAFERA, P.; FERRAZ, L. C. C. B.; MURAOKA, T.; TRIVELIN, P. C. O. 2002. Uptake and translocation of nitrogen, phosphorus and calcium in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*. *Fitopatologia Brasileira, Fortaleza*, 27(2): 141-150.

CLEMENTE, F. M. V. T. 2005. Faixas críticas de teores foliares de macro e micronutrientes no cafeeiro (*Coffea arabica* L.) no primeiro ano de formação de formação da lavoura. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 63 p.

GARDIN, J. P. P. 2006. Desenvolvimento reprodutivo do cafeeiro: Anatomia de vasos do xilema e dinâmica de carboidratos. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras – MG. 105 p.

GONÇALVES, W.; FERRAZ, L. C. C. B.; LIMA, M. M. A.; SILVAROLLA, M. B. 1996. Patogenicidade de *M. exigua* e *M. incognita* raça 1 a mudas de cafeeiro. *Bragantia – Campinas*. 55(1): 89-93.

HAMMES, U. Z.; SCHACHTMAN, D. P.; BERG, R.H; NIELSEN, E.; KOC, W.; MCINTYRE, L. M; TAYLOR, C. G. 2005. Nematode-induced changes of transporter gene expression in *Arabidopsis* root. *Mol. Pla. Microbe Interac.* 18: 1247-1257.

HUANG, C. S. 1985. Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In: Sasser, J. N., Carter, C. C. (eds). *An advanced treatise on Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p. 155-164.

HURCHANIK, D.; SCHMITT, D. P.; HUE, N. V.; SIPES, B. S. 2004. Plant Nutrient Partitioning in Coffee Infected with *Meloidogyne konaensis*. Journal of Nematology, 36(1): 76-84.

HUSSEY, R. S. 1985. Host-parasite relationships and associated physiological changes. In: Sasser, J. N., Carter, C. C. (eds). An advanced treatise on *Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, Raleigh, p. 143-153.

MELAKEBERHAN, H. 2004. Physiological interactions between nematodes and their host plant. In: Chen, Z. X.; Chen, S. Y.; Dickson D. W. Nematology: Advance and Perspectives. p. 771-794.

OLIVEIRA, R. D. L.; DHINGRA, O. D.; LIMA, A. O.; JHAM, G. N.; BERHOW, M. A.; HOLLOWAY, R. K.; VAUGHN, S. F. 2011. Glucosinolate content and nematicidal activity of Brazilian wild mustard tissue against *Meloidogyne incognita* in tomato. Plant Soil, 341:155-164.

RENA, A. B.; MAESTRI, M. 1986. Fisiologia do cafeeiro. In: RENA, A. B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, T. Cultura do cafeeiro: Fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: Associação Brasileira para pesquisa da potassa e do fosfato.

SALGADO, S. M. L.; RESENDE, J. C. 2010. Manejo de fitonematóides em cafeeiro. In: Reis, P. R.; Cunha, R. L. Café arábica do plantio a colheita. Vol.1. Epamig – Lavras - MG, p.757-804.

SALGADO, S. L. M; CAMPOS, V. P. 2010. Sintomas do parasitismo de fitonematóides em cafeeiro. In: Guimaraes, R. J.; Mendes, A. N. G; Baliza, D, P. Semiologia do cafeeiro: Sintomas de desordens nutricionais, fitossanitárias e fisiológicas. Editora UFLA – Lavras - MG. p.143-168.

SALGADO, S. M. L.; OLIVEIRA, R. D. L.; SILVA, R. V.; CAMPOS, V. P. 2008. Aspectos importantes dos fitonematóides do cafeeiro. Informe Agropecuário. 29(247): 42-50.

SALGADO, S. M. L. S.; PEREIRA, T. B.; ABREU, F. A. 2008. Cafeicultor: Cuidado com os nematóides que parasitam o cafeeiro. Circular Técnica, n.37. EPAMIG.

SOUZA, R. M. 2008. Plant Parasitic Nematodes of coffee. UENF. Editora Springer. 340 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2004. Fisiologia vegetal. Porto Alegre: Artmed, p. 171-192.

VAN GUNDY, S. D. 1985. Ecology of *Meloidogyne* spp.- emphasis on environmental factors affecting survival and pathogenicity. In: Sasser, J.N. & Carter, C.C. An advanced treatise on *Meloidogyne*. Raleigh North Carolina. 1:177-182

## CONCLUSÕES FINAIS

- 1- Oito meses foi um período tempo adequado para estudos da interação de *Meloidogyne* com o cafeeiro.
- 2- A concentração de 8000 ovos foi a que possibilitou observar os maiores efeitos do parasitismo de *M. exigua* e *M. paranaensis* nas mudas de cafeeiro oito MAI.
- 3- Na concentração de 32000 ovos por planta *M. paranaensis* mostrou maior agressividade ao cafeeiro que *M. exigua*, uma vez que, reduziu a MMS das raízes e número de ramos.
- 4- O número de ovos é uma variável que não deve ser analisada de forma isolada em relação aos efeitos de *M. paranaensis* no cafeeiro, em virtude dos severos danos que esta espécie causou nas raízes.
- 5- Ambos os nematóides atuaram como drenos metabólicos fortes alterando a partição dos carboidratos na planta, tanto nos tecidos de galhas como, em alguns casos, nos tecidos não infectados adjacentes à galha.
- 6- A forma com que os nematóides atuaram como dreno metabólico parece estar ligado à espécie do nematóide. Já que com o aumento do nível de inóculo houve redução gradativa nos níveis de carboidratos nas raízes parasitadas por *M. exigua* aos quatro e aos oito MAI, e naquelas infectadas com *M. paranaensis* aumento na concentração com baixo nível de inóculo e redução na concentração do carboidratos com alto nível de inóculo.
- 7- Nas condições ambientais de casa de vegetação não foi possível detectar relação do nematóide com a fisiologia do cafeeiro.
- 8- Nos ensaios de casa de vegetação as alterações observadas na concentração dos nutrientes, na maioria dos casos, não foram relevantes, pois estava dentro do nível crítico estabelecido para o cafeeiro.

- 9- A reprodução de *M. paranaensis* foi menor que a de *M. exigua* em condições de temperatura controlada, embora os danos provocados por *M. paranaensis* tenham sido maiores.
- 10- Em condições controladas de temperatura foi possível detectar o efeito do parasitismo do nematóide na fisiologia do cafeeiro, diferente do que ocorreu em casa de vegetação.
- 11- *M. paranaensis* foi mais danoso ao cafeeiro em condições de temperatura controlada, pois provocou reduções mais acentuadas na fotossíntese líquida e redução da MMS das raízes.
- 12- Na temperatura de 25°C o amido foi o carboidrato consumido com maior intensidade que os AST e AR.
- 13- *M. exigua* acumula carboidrato na galha na forma de AR.
- 14- Sob temperatura controlada, embora alguns nutrientes estivessem abaixo da faixa crítica e outros acima, os elementos K, Ca, Mn e Fe estavam em concentração menor nas plantas parasitadas por *M. pararanaenis* comparado a testemunha, o que não ocorreu com aquelas infectadas por *M. exigua*. Podendo ser um indicativo de uma deficiência nutricional futura.