

***Pratylenchus coffeae* EM CAFEEIROS: EFEITO DE
DENSIDADES POPULACIONAIS DO NEMATÓIDE
E TESTES COM GENÓTIPOS**

MELISSA DALL'OGGIO TOMAZINI

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área de Concentração: Entomologia.

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Dezembro – 2003

***Pratylenchus coffeae* EM CAFEEIROS: EFEITO DE
DENSIDADES POPULACIONAIS DO NEMATÓIDE
E TESTES COM GENÓTIPOS**

MELISSA DALL'OGGIO TOMAZINI

Bióloga

Orientador: Prof. Dr. **LUIZ CARLOS C. B. FERRAZ**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de Mestre em
Ciências, Área de Concentração: Entomologia

P I R A C I C A B A

Estado de São Paulo - Brasil

Dezembro – 2003

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Tomazini, Melissa Dall'Oglio
Pratylenchus coffeae em cafeeiros: Efeito de densidades populacionais do nematóide e testes com genótipos / Melissa Dall'Oglio Tomazini. - - Piracicaba, 2003.
41 p. : il.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2003.
Bibliografia.

1. Café 2. Desenvolvimento vegetal 3. Genótipos 4. Linhagens vegetais 5. Nematóide parasita de planta 6. Resistência genética vegetal 7. Variação genética em plantas I. Título

CDD 633.73

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus pais, Mauro e Celina, pelo enorme incentivo;

A meus familiares, Tata, Henrique, Raíssa e Rafaela;

A Fause Abdo Maluf, pela paciência,

Com amor

DEDICO

A minha avó Cinira Augustini Dal'Oglio

Com carinho

OFEREÇO

Em memória da minha avó Maria Verginasi Tomazini,

com carinho

DEDICO

*“A mais bela coragem é a confiança que devemos ter
na capacidade do nosso esforço”.*

(Rui Barbosa)

AGRADECIMENTOS

À CAPES pelo suporte financeiro, através da bolsa de Mestrado.

Agradeço ao Prof. Dr. Luiz Carlos Camargo Barbosa Ferraz pela valiosa orientação, estímulo e profissionalismo.

Agradeço especialmente ao Prof. Dr. Mário Massayuki Inomoto pelos ensinamentos, confiança e compreensão.

Ao meu padrinho da Nematologia, Dr. Guilherme Lafourcade Asmus, pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados, MS.

Aos pesquisadores Dr. Wallace Gonçalves, do Instituto Agronômico de Campinas, Cláudio Marcelo G. de Oliveira e Roberto K. Kubo, do Instituto Biológico de Campinas pela confiança.

Aos Professores do Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola da ESALQ/USP pelos ensinamentos, especialmente ao “Mestre” Prof. Dr. Ailton Rocha Monteiro.

Aos amigos do Laboratório de Nematologia, Andressa, Kércya, Daniel e muitos outros que tanto alegraram nosso dia-a-dia.

Especialmente as amigas Sônia Regina Antedomênico e Rosangela Aparecida Silva pela imensa amizade, carinho, ensinamento e risos que tornaram meus dias de trabalho mais alegres.

Aos amigos e funcionários José Luiz F. Piedade e Vera L.Durrer F. de Aruda pela incessante ajuda.

Aos meus amigos de curso de graduação Mariana, Neto, Erik, José Antônio, Renato, Glauce, Daniela, Alysson: biólogos na profissão e na alma.

Aos meus amigos pós-graduandos Stella, Marcelo, Melissa, Gustavo, Edmilson e todos que passaram por essa fase juntos.

As amigas Melissa Faion e Márcia M. A. de Souza pela animada moradia.

E a todos aqueles que por esquecimento não citei, mas que de alguma forma também contribuíram em mais esta etapa de minha vida, agradeço.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1 Generalidades.....	4
2.2 Nematóides do cafeeiro.....	6
2.3 Importância dos nematóides das lesões no Brasil.....	7
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1 Obtenção dos inóculos.....	12
3.2 Experimentos com o isolado M ₂	13
3.2.1 Obtenção das plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’	13
3.2.2 Experimento 1. Efeito do isolado M ₂ no desenvolvimento de plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ com dois pares de folhas.....	14

3.2.3 Experimento 2. Efeito do isolado M ₂ no desenvolvimento de plantas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ com idade de plantio (com seis pares de folhas).....	16
3.3 Experimentos com o isolado K ₅ . Avaliação da resistência de genótipos de cafeeiros ao isolado K ₅ de <i>Pratylenchus coffeae</i>	17
3.3.1 Obtenção das plantas de café.....	17
3.3.2 Experimento 1, com cafeeiro ‘Mundo Novo’.....	18
3.3.3 Experimentos 2 e 3, com cafeeiros ‘Robusta’	19
3.3.4 Experimentos 4 e 5, com cafeeiros ‘Conilon’.....	19
3.4 Análises estatísticas	20
3.4.1 Experimentos com isolado M ₂ de <i>Pratylenchus coffeae</i>	20
3.4.2 Experimentos com isolado K ₅ de <i>Pratylenchus coffeae</i>	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1 Experimentos com o isolado M ₂ de <i>Pratylenchus coffeae</i>	22
4.1.1 Experimento com plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’.....	22
4.1.2 Experimento com plantas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’.....	23
4.2 Experimentos com o isolado K ₅ de <i>Pratylenchus coffeae</i>	28
4.2.1 Experimento 1, com cafeeiro ‘Mundo Novo’.....	28
4.2.2 Experimentos 2 e 3, com cafeeiro ‘Robusta’.....	29
4.2.3 Experimentos 4 e 5, com cafeeiro ‘Conilon’.....	30
5 CONCLUSÕES.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Produção de Café – Safra 2003/2004. Participação em porcentagem por estado.....	2
2 Altura das plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ inoculadas com diferentes densidades populacionais ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides/plântula) do isolado M_2 de <i>Pratylenchus coffeae</i>	23
3 Massa fresca do sistema radicular (MFSR) de plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ inoculadas com diferentes densidades populacionais ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides/plântula) do isolado M_2 de <i>Pratylenchus coffeae</i>	24
4 Massa seca da parte aérea (MSPA) de plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ inoculadas com diferentes densidades populacionais ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides/plântula) do isolado M_2 de <i>Pratylenchus coffeae</i>	25

LISTA DE TABELAS

Página

- 1 Médias de altura (ALT), massa fresca do sistema radicular (MFSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de cafeeiro 'Catuaí Vermelho' inoculadas com diferentes densidades populacionais (P_i) do isolado M_2 de *Pratylenchus coffeae* e valores de variação populacional (P_f/P_i) obtidos para os nematóides nos diversos tratamentos..... 27
- 2 Variação populacional (P_f/P_i) de *Meloidogyne incognita* raça 2 (M_i) e do isolado K_5 de *Pratylenchus coffeae* (K_5) nos diferentes genótipos de cafeeiros testados 32
- 3 Efeitos de *Meloidogyne incognita* raça 2 (M_i) e do isolado K_5 de *Pratylenchus coffeae* (K_5) na massa seca da parte aérea (MSPA) e massa fresca das raízes (MFR) dos cafeeiros após sete meses da inoculação..... 33

***Pratylenchus coffeae* EM CAFEEIROS: EFEITO DE DENSIDADES
POPULACIONAIS DO NEMATÓIDE E TESTES COM GENÓTIPOS**

Autora: MELISSA DALL'OGGIO TOMAZINI

Orientador. Prof. Dr. LUIZ CARLOS CAMARGO BARBOSA FERRAZ

RESUMO

O nematóide das lesões *Pratylenchus coffeae* é um dos principais parasitos do cafeeiro e de outras culturas e sua variabilidade biológica, que dificulta a adoção de métodos de controle, contribui para aumentar a sua importância no Brasil. Pela importância da cafeicultura e a falta de estudos com esse nematóide no Brasil, foram realizados experimentos com dois de seus isolados (K_5 e M_2), com os objetivos de correlacionar densidades populacionais do nematóide aos danos causados e estabelecer possíveis fontes de resistência de cafeeiros ao isolado K_5 . Foram testadas diferentes densidades populacionais iniciais do isolado M_2 em plantas (seis pares de folhas) e plântulas (dois pares de folhas) do cafeeiro arábico 'Catuaí Vermelho'. As densidades populacionais utilizadas foram de 0, 333, 1.000, 3.000 e 9.000 nematóides por plântula ou planta. A avaliação ocorreu aproximadamente cinco (plântulas) e sete (plantas) meses após a inoculação. Os resultados mostraram que houve uma acentuada redução do crescimento das plântulas, bem como massa fresca das raízes e massa seca da parte aérea, já a partir das densidades mais baixas. A variação populacional (P_f/P_i) foi menor que um (1,0) para todas as densidades de inóculo, indicando que esta cultivar, no estágio

de plântulas com dois pares de folhas, mostrou-se intolerante ao parasitismo. Em relação à inoculação das plantas, já com seis pares de folhas, não houve diferenças significativas nas variáveis analisadas e ocorreram decréscimos populacionais do nematóide, indicando que, nessas condições, 'Catuaí Vermelho' mostrou-se resistente ao isolado M₂. Em relação ao isolado K₅, foram realizados cinco experimentos, visando caracterizar as reações de genótipos de *Coffea canephora* ('Robusta' e 'Conilon'), além de *C. arabica* 'Mundo Novo', comparado às reações frente ao nematóide de galhas *Meloidogyne incognita* raça 2. No Experimento 1, foram utilizadas plantas de *C. arabica* 'Mundo Novo', inoculadas com 1.480 nematóides por planta (isolado K₅ e *M. incognita*). Após sete meses da inoculação foi feita a avaliação, mostrando que o crescimento populacional dos nematóides foi alto e a reação de suscetibilidade. Mesmo em mudas desenvolvidas de cafeeiro 'Mundo Novo', o isolado K₅ destacou-se como tão agressivo quanto *M. incognita*. Os outros genótipos testados, de *C. canephora*, foram inoculados com 3.000 nematóides por planta. Nos Experimentos 2 e 3, as linhagens IAC 4804 e IAC 4810 de 'Robusta' foram suscetíveis ao isolado K₅, mas em um deles (IAC 4804) ocorreu grande variação entre as repetições em relação à *M. incognita*. Apenas o isolado K₅ promoveu redução do crescimento do cafeeiro, evidenciado na variável massa fresca das raízes, em ambas as linhagens, sendo que IAC 4810 comportou-se como resistente a *M. incognita*. No caso de *C. canephora* 'Conilon', ambas as linhagens testadas (IAC 4764 e IAC 4765) foram resistentes ao isolado K₅ e suscetíveis a *M. incognita*.

***Pratylenchus coffeae* IN COFFEE PLANTS: EFFECT OF INITIAL POPULATION DENSITIES AND TESTS WITH GENOTYPES**

Author: MELISSA DALL'OGGIO TOMAZINI

Adviser: Prof. Dr. LUIZ CARLOS CAMARGO BARBOSA FERRAZ

SUMMARY

The lesion-nematode *Pratylenchus coffeae* is a major pest of coffee and other economic crops and its biological variability, which often makes difficult the adoption of control methods, contributes to increase the importance of this parasite in Brazil. Due to the importance of coffee production and the lack of studies involving this nematode species in Brazil, experiments were set with two of its available isolates (K₅ and M₂) to correlate initial population densities with the damage caused on coffee plants and to establish possible resistance sources in relation to the isolate K₅.

Different population densities of isolate M₂ were tested in plants (six pairs of leaves) and seedlings (two pairs of leaves) of *Coffea arabica* 'Catuaí Vermelho'. The population densities (P_i) were: 0, 333, 1.000, 3.000 and 9.000 nematodes per seedling or plant. The evaluation was done at approximately five (seedlings) and seven (plants) months after inoculation. The results showed that there was a marked reduction of the height, as well as root fresh weight and shoot dry weight of the seedlings, starting from the lower P_i values. The nematode population decreased (P_f/P_i < 1), indicating that this cultivar, at the seedling stage, was intolerant to parasitism. In relation to the inoculation

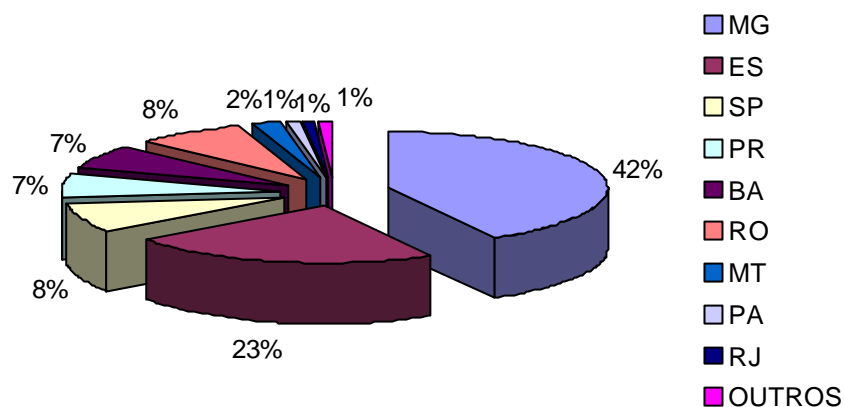
of older plants, there were no significant differences in the growth parameters and the nematode population also decreased allowing 'Catuaí Vermelho' to be rated as resistant to the isolate M₂. In relation to isolate K₅, five experiments (referred to as 1, 2, 3, 4, and 5) were set to characterize the reaction of different genotypes of *Coffea canephora* ('Robusta' and 'Conilon') and *C. arabica* 'Mundo Novo', as compared with their reaction to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* race 2. In Experiment 1, plants of *C. arabica* 'Mundo Novo' were inoculated with 1,480 nematodes per plant (K₅ and *M. incognita*). The final evaluation after seven months of the inoculation showed a high populational increase of the nematodes and that both were pathogenic at a same extent. The other genotypes tested, belonging to *C. canephora*, were inoculated with 3,000 nematodes per plant. The genotypes (IAC 4804 and IAC 4810) of 'Robusta' were susceptible to isolate K₅, but in one of them (IAC 4804) there was great variation among the repetitions in relation to *M. incognita*. The isolate K₅ caused marked reduction in the growth of coffee Robusta plants as evidenced particularly through the root fresh weight values in both tested genotypes; in addition, IAC 4810 was rated as resistant to *M. incognita*. With regard to *C. canephora* 'Conilon', both tested genotypes (IAC 4764 and IAC 4765) were resistant to isolate K₅ and susceptible to *M. incognita*.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o cafeeiro é cultivado comercialmente em 54 países, sendo Colômbia, Brasil, Vietnã e Indonésia, nessa ordem, os maiores produtores. O estado de Minas Gerais lidera a produção de café arábico (*Coffea arabica* L.) e o Espírito Santo é o principal produtor de *C. canephora* Pierre no Brasil (Figura 1). Nos últimos dez anos, houve expressivo aumento na produção brasileira de café, que passou de 18 milhões de sacas anuais, no período de 1992 a 1996, para 35 milhões de sacas no biênio de 2002 a 2003 (Dutra, 2003). Portanto a cultura do café ainda é uma das principais atividades econômicas do Brasil.

Os nematóides fitoparasitos são fatores limitantes da cultura do café, pelo seu potencial patogênico e difícil controle. No Brasil, estão disseminados em todas as regiões cafeeiras, principalmente *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp., causando perdas estimadas em 20 % (Lordello, 1976). Dada a baixa eficiência dos nematicidas no controle dos nematóides do cafeeiro, exceto *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1892, seu manejo é baseado no uso de genótipos resistentes. Nesse particular, deve-se destacar a cultivar ‘IAC Apatã’ de *C. canephora*, imune a *M. exigua* e resistente a *M. incognita* (Kofoid e White, 1919) Chitwood, 1949 (Gonçalves, 1993). Esse genótipo também é valioso para o controle de *M. exigua* e, principalmente, *M. incognita* em cafeeiro arábico, pois tem sido utilizado como porta-enxerto de *C. arabica* no Brasil. Entretanto,

Figura 1. Produção de Café – Safra 2003/2004: Participação por estado (em %)



[Elaboração: CONAB]

não há informações disponíveis sobre os cafeeiros cultivados no Brasil em relação a *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941, diferentemente do que ocorre em países da América Central, em que genótipos resistentes têm sido utilizados para o controle dessa espécie de nematóide das lesões (Villain *et al.*, 2002). A manutenção de tal situação não se justifica, pois há relatos de campo e trabalhos experimentais demonstrando a ocorrência e patogenicidade de *P. coffeae* no Brasil (Monteiro e Lordello, 1974; Inomoto *et al.*, 1998; Kubo *et al.*, 2001; 2003). Nesse particular, há de se destacar a variação biológica existente entre as

populações de *P. coffeae* em relação às plantas hospedeiras (Silva e Inomoto, 2002) e mesmo em relação à agressividade ao cafeeiro (Kubo *et al.*, 2003).

Em função do exposto e dentro da linha de pesquisa de comportamento e resistência de cafeeiros a *P. coffeae*, conduziu-se o presente estudo, dividido em duas partes. A primeira envolveu dois experimentos, em que foi avaliado o efeito de densidades populacionais de um isolado pouco agressivo (ao cafeeiro) de *P. coffeae* no crescimento de *C. arabica* 'Catuaí Vermelho'. A segunda parte foi um estudo visando avaliar a suscetibilidade de quatro genótipos de *C. canephora*, além de confirmar a suscetibilidade de *C. arabica* 'Mundo Novo', a um isolado muito agressivo (ao cafeeiro) de *P. coffeae*. Para que as informações obtidas nesse estudo fossem mais úteis e completas, os mesmos genótipos foram também testados em relação a *M. incognita*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Generalidades

Entre as aproximadamente 100 espécies descritas do gênero *Coffea*, somente duas produzem frutos com importância econômica no mercado mundial: *C. arabica* e *C. canephora*. Outras espécies, como *C. congensis* Froehner, *C. eugenioides* Moore, *C. liberica* Hiern., *C. dewevrei* De Wild et Dur., *C. racemosa* Lour., apesar de não serem cultivadas economicamente, por possuírem características importantes, como resistência a pragas, doenças e nematóides, tolerância a seca etc., são valiosas em programas de melhoramento (Fazuoli, 1986).

A espécie mais plantada no mundo é *C. arabica*, com 70 % dos cafeeiros cultivados. É favorecida por altitudes entre 500 e 1.000 m e temperaturas médias anuais entre 19 e 22 °C. Especula-se que a origem de *C. arabica* seja a hibridação natural entre *C. eugenioides* e *C. congensis* ou entre *C. eugenioides* e *C. canephora*. O primeiro genótipo de expressão no Brasil foi chamado de ‘Nacional’ ou ‘Típica’, que deu origem a cultivares importantes como ‘Maragogipe’ e ‘Amarelo de Botucatu’, mas manteve-se como o cafeeiro mais plantado até meados do século XIX, época da introdução da cultivar ‘Bourbon Vermelho’, proveniente da Ilha de Reunião. Outra importante cultivar introduzida foi a Sumatra, principalmente por ter originado, por hibridação natural com ‘Bourbon Vermelho’, a cultivar Mundo Novo, selecionada em 1931 e atualmente o

segundo genótipo mais cultivado de *C. arabica*. Outros genótipos que merecem ser citados, pela relevância nos dias de hoje, são ‘Acaiá’ e o mais importante deles, ‘Catuaí’, com suas variantes vermelha e amarela (Simon, 1999).

No Brasil, *C. canephora* passou a ser explorada comercialmente a partir da década de 60 do século passado, com o objetivo de cultivo de cafeeiro em áreas impróprias para *C. arabica*, ou seja, com temperaturas médias anuais acima de 22 °C ou altitudes abaixo de 500 m. O genótipo ‘Conilon’ é o mais plantado no Brasil atualmente, mas há outros que merecem ser citados: ‘Robusta’, ‘Guarani’, ‘Laurete’, ‘Oka’, ‘Bukobensis’, ‘Uganda’, ‘Crassifolia’ e ‘Ambriz’. Espírito Santo é o maior estado produtor brasileiro de *C. canephora*, com 70 % do total, seguindo-se Rondônia (23 %), Bahia (3,6 %) e Minas Gerais (1,3 %) (Matiello e Barros, 1998). A espécie *C. canephora* apresenta genótipos com ampla variação em características como ciclo, porte e arquitetura da planta, tamanho e forma dos frutos, folha e sementes. Em relação ao cafeeiro arábico, é mais tolerante a condições adversas, como seca e ataque de pragas, doenças e nematóides (Simon, 1999). Apesar de produzir bebida de qualidade inferior ao café arábico, o fruto de *C. canephora* é amplamente utilizado na indústria de café solúvel e também em “blends” (mistura) com arábico, pois possui maiores teores de sólidos solúveis e seu preço é mais baixo, barateando o custo do produto final (Fazuoli, 1986). Além disso, foi utilizada para a produção de vários híbridos com *C. arabica*, destacando-se ‘Icatu’, ‘Obatã’, ‘Tupi’ e ‘Iapar 59’, que herdaram de *C. canephora* a resistência à ferrugem.

2.2 Nematóides do Cafeeiro

Com importância freqüentemente subestimada devido ao pequeno tamanho, e conseqüente difícil visualização, além dos sintomas pouco específicos, os nematóides são considerados, desde a década de 70 do século passado até os dias de hoje, os principais agentes limitantes da cultura do café no Brasil. Segundo Campos *et al.* (1990), os principais nematóides do cafeeiro no Brasil são os nematóides de galhas [*Meloidogyne exigua*, *M. coffeicola* Lordello & Zamith, 1960, *M. incognita* e *M. hapla* Chitwood, 1949] e os nematóides das lesões radiculares [*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 e *P. coffeae*]. Mais recentemente, um biótipo de *M. incognita* foi elevado ao nível de espécie: *M. paranaensis* Carneiro, Carneiro, Abrantes, Santos e Almeida, 1996. O nematóide cavernícola [*Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949] e o nematóide reniforme [*Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940] já foram relatados em cafeeiro no Brasil, mas desconhece-se a patogenicidade para essa rubiácea. Em levantamento recente em cafezais do estado de São Paulo, *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. ocorreram em, respectivamente, 56 e 29 % de 195 amostras (Kubo *et al.*, 2001).

Como citado acima, o manejo do cafeeiro em áreas infestadas com fitonematóides é baseado no uso de cultivares resistentes. Moderada resistência a *M. incognita* era conhecida em genótipos de *C. canephora* e algumas linhagens de 'Icatu' (Fazuoli *et al.*, 1983). Por outro lado, trabalhos de campo mostraram que 52 linhagens de 'Icatu' eram suscetíveis e sensíveis a *M. incognita* raça 2 e nove eram suscetíveis e tolerantes, não podendo ser recomendadas em áreas infestadas com o nematóide (Carneiro, 1995). O

primeiro genótipo com níveis razoáveis de resistência a *M. incognita* foi a cultivar IAC Apoatã de *C. canephora* (Gonçalves *et al.*, 1996).

Há vários genótipos de *C. canephora* e híbridos de *C. arabica* com *C. canephora* resistentes a *M. exigua*. Segundo Morera e Lopez (1987), materiais como ‘Robusta T3759’ e ‘Sarchimor T5296’ são resistentes a *M. exigua*. Estudos no Brasil demonstraram que *C. canephora* ‘IAC Apoatã’ é imune a esse nematóide (Gonçalves, 1993). Todavia, o uso de genótipos resistentes a *M. exigua* não é corrente no Brasil, pois nematicidas propiciam controle satisfatório. Em cafeeiro arábico ‘Mundo Novo’, com 18 anos de idade e infestado com *M. exigua* e *M. coffeicola*, casudafós, carbofurano e carbosulfano foram eficientes no controle dos nematóides (Volpato *et al.*, 2001).

2.3 Importância dos nematóides das lesões no Brasil

No contexto mundial, *P. coffeae* é considerado o nematóide do gênero *Pratylenchus* mais patogênico ao cafeeiro, pois está amplamente disseminado em áreas cafeeiras, principalmente na Índia e em países da América Central (Badel & Ayala, 1980; Campos *et al.*, 1990; Kumar & Samuel, 1990; Schieber & Grullon, 1969). O Brasil constitui exceção, pois *P. brachyurus* está mais disseminado que *P. coffeae* em cafezais (Gonçalves *et al.*, 1987; Kubo *et al.*, 2001).

O primeiro relato de *P. coffeae* no Brasil foi feito por Monteiro e Lordello (1974), em raízes de cafeeiro coletadas em Marília, Estado de São Paulo, onde se encontraram cafeeiros subdesenvolvidos, com sintomas de deficiência de minerais e sistema radicular pobre, além de plantas mortas. Posteriormente, foi assinalado nos municípios de Presidente Prudente e Valinhos, Estado de São Paulo, e no município de Barra da

Guabiraba no Estado de Pernambuco (Kubo, 2002; Moura *et al.*, 2002). Em Pernambuco, os cafeeiros examinados, com 1,5 ano de idade, apresentavam, além de lesões do córtex das raízes, severas lesões no colo das plantas.

Estudos sobre *P. coffeae* devem levar em conta a variação biológica presente nesta espécie. Segundo Duncan *et al.* (1999), existem pronunciadas diferenças morfológicas e moleculares entre as populações de *P. coffeae*. Dois desses isolados provenientes do Brasil, um coletado de raízes de cafeeiro em Marília (nomeado K₅ por Duncan *et al.*, 1999) e outro de raízes da ornamental *Aglaonema* sp. (da família Araceae) do Rio de Janeiro (M₂ em Duncan *et al.*, 1999), foram estudados quanto aos hospedeiros por Silva & Inomoto (2002). Segundo esses dois trabalhos, as diferenças morfológicas e em relação às plantas hospedeiras verificadas entre K₅ e M₂ sugerem que pertençam a raças ou mesmo espécies distintas entre si. Embora plantas cítricas, bananeira e cafeeiro figurem as principais plantas hospedeiras de *P. coffeae*, Silva & Inomoto (2002) relataram limão-cravo (*Citrus limonia* Osbeck) e banana cv. Nanicão (*Musa acuminata* Colla grupo AAA) como imunes tanto a K₅ como M₂, enquanto o cafeeiro 'Catuaí Vermelho' foi hospedeiro pouco favorável de ambos os isolados. Aprofundando estudos sobre esses isolados com relação a cafeeiros, Kubo *et al.* (2003) verificaram que plântulas de cafeeiro 'Mundo Novo', com dois pares de folhas verdadeiras e inoculadas com uma população inicial (Pi) de 8.000 nematóides, apresentaram menor fotossíntese e crescimento. O isolado K₅ mostrou-se mais agressivo ao cafeeiro que o isolado M₂. O crescimento populacional de ambos os isolados foi negativo, comprovando que cafeeiro não é um bom hospedeiro desses isolados. No caso de K₅, tal fato pode ser atribuído à população inicial excessivamente alta junto com a agressividade desse isolado,

resultando em intensa destruição de raízes, como indicado pelos resultados de outro experimento dentro do mesmo trabalho, com diferentes densidades populacionais desse isolado ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides), onde nas densidades populacionais mais baixas o crescimento populacional foi elevado (para $P_i = 333$ e 252 dias depois da inoculação, $P_f/P_i = 10,1$). Recentemente, um dos isolados de *P. coffeae* que parasita citros no estado de São Paulo, estudado por Duncan *et al.* (1999) e que antes era conhecido como C1, foi elevado ao nível de espécie. Esse isolado mostrava-se mais agressivo em plantas de citros que outro isolado de *P. coffeae* da Flórida. Essa nova espécie foi comparada biológica, molecular e morfológicamente com *P. coffeae* e *P. loosi* Loof, 1960 e descrita como *P. jaehni* (Inserra *et al.*, 2001).

Embora M_2 seja menos agressivo aos cafeeiros que o isolado K_5 , pertence ao grupo que, segundo Duncan *et al.* (1999), provavelmente constitua o verdadeiro *P. coffeae*. Por enquanto esses dois isolados são considerados pertencentes à mesma espécie, mas necessitam, pelo exposto acima, serem estudados de maneira diferenciada em relação ao cafeeiro.

Por ser ainda pouco comum em cafezais do Brasil, medidas de prevenção seriam altamente eficientes para o controle de *P. coffeae* em cafeeiro. Entretanto, é importante se antecipar a problemas futuros que possam decorrer da inobservância desse cuidado e iniciar estudos básicos sobre o comportamento de outros genótipos de cafeeiros, que possam representar fontes de resistência ou tolerância a K_5 , ou ainda ser utilizados como porta-enxertos, no caso de *C. canephora*. Embora porta-enxertos resistentes já sejam utilizados em áreas infestadas por *P. coffeae* e espécies correlatas de *Pratylenchus* na Guatemala e outros países da América Central (Villain *et al.*, 2000; 2002), esses

resultados têm um valor restrito em nossas condições, dada a variabilidade existente dentro do chamado "grupo de *P. coffeae*".

Com a descoberta de que alguns cafeeiros poderiam ter genes resistentes aos nematóides que mais causam prejuízos para a cafeicultura, começaram estudos para o melhoramento das cultivares mais plantadas, pois geralmente o(s) gene(s) de resistência encontra(m)-se em espécies ou variedades que não possuem boa produtividade, não sendo economicamente rentáveis. No Brasil, o Programa de Melhoramento do Cafeeiro desenvolvido no Instituto Agrônomo, gerou, ao longo de 70 anos, inúmeras cultivares importantes e de ampla utilização pelos produtores nacionais. Até o presente, os métodos utilizados para o desenvolvimento de cultivares envolviam os tradicionais processos de cruzamento e seleção de genótipos superiores, sobretudo no que abrangessem as características agrônomicas desejáveis, entre elas resistência a pragas, doenças e nematóides. Cultivares como Mundo Novo, Catuaí, Icatu e Acaí são exemplos do potencial de melhoramento tradicional para a geração de genótipos bem sucedidos comercialmente. Mas, o desenvolvimento de cultivares esbarra em limitações e, especialmente no caso dos nematóides, a mais relevante é a existência de uma estreita base genética disponível na espécie *C. arabica*. Essa limitada variação genética é decorrente de vários fatores, tal como o pequeno número de acessos utilizados na introdução da espécie no Brasil, resultando que poucas plantas deram origem às populações cultivadas no presente. Além disso, o tipo de reprodução autógama favorece a manutenção de uniformidade genética em *C. arabica*. Nas últimas décadas, o desenvolvimento e a utilização de técnicas biomoleculares, que permitem uma avaliação mais complexa de genótipos cultivados e também a identificação e a caracterização de

genes relacionados com processos fisiológicos de importância agrônômica, vêm revolucionando o melhoramento genético (Maluf *et al.*, 2001).

No Brasil, as pesquisas visando à obtenção de cafeeiros resistentes a nematóides têm se concentrado em espécies de *Meloidogyne*, desconhecendo-se praticamente a reação da maioria dos genótipos em relação a *P. coffeae*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos relatados neste trabalho foram desenvolvidos sob condições de casa-de-vegetação na Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, *Campus* de Piracicaba, SP (ESALQ/USP).

3.1 Obtenção dos inóculos

Os isolados M₂ e K₅ de *Pratylenchus coffeae* foram isolados em 1998 e, desde então, têm sido mantidos em calos de alfafa (Riedel *et al.*, 1973), no laboratório de Nematologia da ESALQ/USP, Piracicaba, São Paulo. O isolado M₂ foi obtido de raízes de *Aglaonema* sp. (ornamental da família Araceae), coletadas no município do Rio de Janeiro, RJ, em propriedade denominada Sítio Morrinhos. O isolado K₅ foi obtido de raízes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) coletadas em Marília, SP, em fazenda denominada Santa Terezinha, que vem a ser o local em que foi feito o primeiro registro de ocorrência dessa espécie no Brasil (Monteiro & Lordello, 1974). Segundo os registros dos coletores (R.A. Silva e J.P. Pimentel), ambas as plantas apresentavam raízes muito lesionadas, indicando que os isolados eram patogênicos àqueles hospedeiros.

Para a produção dos inóculos, foram utilizadas culturas jovens (45-90 dias após a repicagem), das quais os nematóides foram extraídos pelo método de Baermann modificado para recipiente raso (Southey, 1986). As suspensões aquosas resultantes,

contendo adultos e juvenis de *P. coffeae*, foram calibradas com adição ou retirada de água, obtendo-se as concentrações desejadas, e assim preparadas para a utilização como inóculos nos experimentos.

O isolado de *Meloidogyne incognita* foi obtido a partir de raízes de cafeeiro (origem: Sítio do Trevo, Município de Oswaldo Cruz, Estado de São Paulo), através da técnica de multiplicação do nematóide a partir de uma massa de ovos, em 1999, e o nematóide assim isolado tem sido mantido em raízes de tomateiro, em casa-de-vegetação, na ESALQ/USP, Piracicaba, São Paulo. A aplicação do teste de hospedeiros diferenciais (Taylor & Sasser, 1978) revelou tratar-se de população da raça 2. O inóculo foi constituído de ovos e juvenis, obtido inicialmente pela trituração das raízes dos tomateiros infestados e extração pelo método de Coolen & D'Herde (1972).

3.2 Experimentos com o Isolado M₂

3.2.1 Obtenção das plântulas de cafeeiro 'Catuaí Vermelho'

As plântulas de cafeeiro *Coffea arabica* 'Catuaí Vermelho') foram obtidas de sementes germinadas em caixas plásticas de capacidade de 40 litros, contendo areia esterilizada em autoclave e mantidas em casa-de-vegetação. Quando as plântulas atingiram o estágio de "orelha de onça", ou seja, os cotilédones estavam totalmente expandidos, cada uma delas teve as raízes podadas, deixando-se apenas 7 cm da raiz principal, e foram transplantadas individualmente para recipientes plásticos de 500 ml de capacidade, contendo 450 ml de substrato (mistura de 1 parte de solo de textura média e 1 parte de areia média) desinfestado com brometo de metila (150 ml de CH₃Br /1.000

litros de solo). Posteriormente, os cafeeiros foram conduzidos segundo as técnicas agronômicas convencionais, com regas diárias ou quando necessário.

3.2.2 Experimento 1. Efeito do isolado M₂ no desenvolvimento de plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ com dois pares de folhas

Este experimento foi realizado com plântulas de cafeeiro, ou seja, quando estas apresentavam dois pares de folhas verdadeiras. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco densidades populacionais ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides/planta) e oito repetições, totalizando 40 parcelas. Na inoculação, para a densidade mais alta, a suspensão contendo os nematóides (juvenis e adultos) foi ajustada inicialmente para 3.000 nematóides por mililitro e cada plântula recebeu 9.000 nematóides através da pipetagem de 3 ml em dois pequenos orifícios no substrato com 2 cm de profundidade, próximo às raízes, sobre um pequeno pedaço de lenço de papel, visando minimizar perdas de inóculo. Para as outras densidades, as suspensões foram ajustadas por meio de adição de água para, respectivamente, 1.000, 333 e 111 nematóides por mililitro e o procedimento para a inoculação foi idêntico àquele utilizado para a maior dose. Plantas não inoculadas receberam apenas água destilada. A seguir, todas as plantas foram mantidas à sombra no laboratório, por 24 horas após a inoculação, para evitar possíveis danos aos nematóides causados pelo calor e, posteriormente, transferidas para a casa-de-vegetação.

A avaliação do experimento foi realizada aos 147 dias da inoculação, incluindo as seguintes variáveis: altura das plantas, massa fresca das raízes, massa seca da parte aérea e a variação populacional. A altura das plantas foi determinada com auxílio de régua,

considerada como a distância, no caule, entre a base e o ponto de emissão do último par de folhas. Após retiradas dos recipientes, as plantas tiveram o sistema radicular separado da parte aérea com auxílio de tesoura de poda. Os órgãos aéreos foram colocados em sacos especiais de papel, com aberturas circulares nos lados, que, depois de identificados com etiquetas, foram mantidos em estufa ajustada para 70°C até se ter valores constantes de massa seca. Para a obtenção dos dados de massa fresca de raízes, os sistemas radiculares foram lavados sob água corrente e depois deixados para secar à sombra por 30 minutos.

Os nematóides foram extraídos a partir de 10 g de raízes, segundo o método de Coolen & D'Herde (1972), as quais foram trituradas por 1 minuto em liquidificador comum contendo 250 ml de solução de hipoclorito a 0,5 % (Bonetti & Ferraz, 1981) e posteriormente passadas sucessivamente por uma peneira de 20 "mesh" (abertura da malha de 0,84 mm) e outra de 500 "mesh" (abertura da malha de 0,025 mm). O material retido nesta foi transferido para tubos de centrífuga de 100 ml e a ele foi adicionado caulim (1 ml /amostra), que acelera a decantação do material desintegrado contendo os nematóides. O material foi centrifugado a 1.800 rpm por cinco minutos, para a separação da água e do material desintegrado contendo os nematóides. Esse precipitado foi ressuspenso em solução de sacarose com densidade de 1,14 g/ml e novamente centrifugado a 1.800 rpm, desta vez por um minuto. O sobrenadante passou então por uma peneira de 500 "mesh", que reteve os nematóides. Estes foram transferidos para recipientes de vidros de 60 ml de capacidade, contendo aproximadamente 30 ml de amostra que foram fixados com 1,5 ml de formol 40 % (volume/ volume) para posterior

quantificação, com auxílio de lâmina de Peters sob microscópio óptico. Tomando-se os valores das massas totais das raízes, estimou-se a população final nas raízes.

Para a extração dos nematóides do substrato, utilizou-se o método proposto por Jenkins (1964). O substrato de cada parcela foi colocado em um balde plástico, ao qual se adicionaram 5 litros de água de torneira. Esse material foi misturado e mantido em suspensão por agitação manual, seguida por 30 segundos de repouso. A seguir, a suspensão foi sucessivamente vertida nas peneiras de 20 e 400 “mesh” (abertura de malha de 0,037 mm). O material retido na peneira de 400 “mesh” foi transferido para tubos de centrífuga, avaliados conforme citado anteriormente, exceto que nesta etapa não houve adição de caulim. Após a contagem dos nematóides assim extraídos, obteve-se a estimativa da população final no substrato. A soma das populações finais nas raízes e no substrato resultou na população final do nematóide (Pf), valor utilizado para a estimativa da variação populacional (Pf/ Pi) no experimento.

3.2.3 Experimento 2. Efeito do isolado M₂ no desenvolvimento de plantas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ com idade de plantio (com seis pares de folhas)

Este experimento foi realizado com plantas em idade de plantio, ou seja, com seis pares de folhas verdadeiras. O delineamento foi inteiramente casualizado, com cinco densidades populacionais ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides/planta) e dez repetições, totalizando 50 parcelas, sendo que cada vaso com uma planta foi considerado como unidade experimental. A inoculação das plantas seguiu procedimento semelhante ao descrito no experimento 1 (subitem 3.2.2) e as plantas testemunhas, não inoculadas, receberam apenas água destilada. Também como no caso anterior, as plantas ficaram 24

horas após a inoculação à sombra, para evitar possível dano causado pelo calor aos nematóides, e posteriormente foram transferidas para a casa de vegetação.

A avaliação do experimento foi realizada em duas etapas: a primeira, aos 68 dias da inoculação, baseando-se em quatro das dez repetições. Após 75 dias da inoculação, as plantas restantes foram transferidas a recipientes maiores contendo 1,6 l de substrato, de modo a permitir a observação da progressão dos danos provocados pelos nematóides por período mais longo. Aos 227 dias da inoculação, foi realizada a avaliação final do experimento. Em ambas as avaliações, utilizaram-se as mesmas variáveis, métodos e análises descritos no experimento anterior, com plântulas de ‘Catuaí Vermelho’.

3.3 Experimentos com o isolado K₅ : Avaliação da resistência de genótipos de cafeeiro ao isolado K₅ de *Pratylenchus coffeae*

3.3.1 Obtenção das plantas de café

As plantas utilizadas nesse experimento foram cedidas pelo Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Sementes de *C. arabica* ‘Mundo Novo’ e *C. canephora* ‘Robusta’ e ‘Conilon’ foram colocadas para germinar em caixas plásticas de 40 l de capacidade, com areia tratada com brometo de metila (150 ml de CH₃Br/ 1.000 l de substrato), em casa de vegetação do IAC. Ao atingirem o estágio de “palito de fósforo”, as plântulas foram transplantadas para sacos plásticos de 500 ml, contendo substrato de textura média-argilosa igualmente desinfestado com brometo de metila. Quando as plantas atingiram seis pares de folhas verdadeiras, foram transferidas para casa de vegetação na ESALQ/USP, Piracicaba, onde foram podadas, deixando-se, na parte aérea, os quatro

internódios basais, e, nas raízes, os primeiros 7 cm a partir do colo, sendo transferidas para copos plásticos de 500 ml de capacidade contendo aproximadamente 450 ml de substrato (1 parte de solo de textura média para 1 parte de areia média), tratado igualmente com brometo de metila.

3.3.2 Experimento 1, com cafeeiro ‘Mundo Novo’

Foi utilizado cafeeiro arábico ‘Mundo Novo’ da linhagem IAC 388-17. Na inoculação, a suspensão contendo nematóides foi ajustada para 185 nematóides por ml, sendo que cada planta recebeu 1.480 nematóides através da pipetagem de 8 ml em quatro orifícios no substrato com 2 cm de profundidade, próximos às raízes, sobre pequenos pedaços de lenço de papel, minimizando perdas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e variando entre seis a oito repetições. Os tratamentos foram: 1) plantas infectadas com 1.480 juvenis e adultos do isolado K₅; 2) plantas infectadas com 1.480 ovos e juvenis de *M. incognita* e 3) plantas não infectadas (testemunhas). Cada vaso contendo uma planta foi considerado uma parcela experimental. As plantas permaneceram 24 horas após a inoculação à sombra e foram posteriormente transferidas para casa de vegetação. Regas e adubações foram realizadas conforme a necessidade. A avaliação ocorreu aos 221 dias após a inoculação. As variáveis analisadas foram: massa seca da parte aérea, massa fresca do sistema radicular e variação populacional do nematóide, como descrito no item 3.2.2.

3.3.3 Experimentos 2 e 3, com cafeeiros ‘Robusta’

Foram realizados dois experimentos com *C. canephora* ‘Robusta’ utilizando duas linhagens: IAC 4804 e IAC 4810. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com os mesmos tratamentos do experimento anterior, exceto que a população inicial foi de 3.000 nematóides por planta. Na linhagem IAC 4804, a suspensão de inóculo foi calibrada para 1.500 nematóides por ml e cada planta recebeu 2 ml, totalizando 3.000 nematóides por planta, distribuídos em dois orifícios no substrato sobre pedaços de lenço de papel. No caso de IAC 4810, a suspensão foi calibrada para 500 nematóides por ml e cada planta recebeu 6 ml através de quatro orifícios no substrato. Plantas testemunhas receberam água destilada. Após a inoculação, as plantas foram deixadas à sombra por 24 horas e transferidas para casa-de-vegetação. As linhagens IAC 4804 e IAC 4810 foram avaliadas aos 218 e 199 dias da inoculação, respectivamente. As variáveis analisadas foram as mesmas do experimento realizado com o cafeeiro ‘Mundo Novo’.

3.3.4 Experimentos 4 e 5, com cafeeiros ‘Conilon’

Foram realizados outros dois experimentos, cada um com uma linhagem diferente de *C. canephora* ‘Conilon’: IAC 4764 e IAC 4768. As plantas das duas linhagens foram inoculadas com uma população inicial de 3.000 nematóides, sendo a suspensão calibrada para 1.500 nematóides por ml e cada planta recebendo 2 ml. Todos os demais procedimentos adotados foram iguais aos descritos nos experimentos realizados com os

cafeeiros 'Robusta', sendo que as avaliações ocorreram aos 219 e 215 dias após a inoculação, nas linhagens IAC 4764 e IAC 4765, respectivamente.

3.4 Análises Estatísticas

3.4.1 Experimentos com o isolado M₂ de *Pratylenchus coffeae*

Os dados obtidos nos experimentos realizados com diferentes densidades populacionais do isolado M₂ de *P. coffeae* foram analisados estatisticamente usando o aplicativo SANEST (CIAGRI e Departamento de Matemática e Estatística ESALQ/USP, Piracicaba, SP), procedendo-se primeiro à análise de variância e, quando cabível, à análise de regressão entre as variáveis avaliadas em função das densidades populacionais iniciais (Pi).

3.4.2 Experimentos com isolado K₅ de *Pratylenchus coffeae*

Nos experimentos utilizando diferentes genótipos de café, as variáveis massa seca da parte aérea (MSPA) e massa fresca das raízes (MFR) foram submetidas à análise de variância, com auxílio do software SANEST (Departamento de Matemática e Estatística, ESALQ/ USP, Piracicaba, SP), e as médias comparadas pelo teste de Tukey.

Nos experimentos com ambos os isolados de *P. coffeae*, referidos nos itens 3.4.1 e 3.4.2, caracterizaram-se as reações dos cafeeiros testados com base: i) na capacidade reprodutiva do nematóide, expressa em termos da variação populacional entre a população final (Pf) e a inicial (Pi); e ii) na ocorrência ou não de redução significativa

no desenvolvimento das plantas inoculadas com densidades populacionais iniciais crescentes (P_i) do nematóide, baseando-se, para tanto, em valores de altura, massa fresca do sistema radicular e massa seca da parte aérea das plantas.

No caso da variação populacional, utilizou-se o critério de Oostenbrink (1966), de uso rotineiro em estudos que tratam da chamada adequação do nematóide ao hospedeiro, ou "host suitability" em inglês. Segundo esse método, as espécies ou cultivares de plantas que possibilitam a obtenção de valores de P_f/P_i iguais ou maiores que um (1,0), ou seja, que permitem o aumento populacional do parasito após certo período de tempo, devem ser consideradas hospedeiras boas ou favoráveis ao nematóide, havendo quem as identifique também como suscetíveis. De modo oposto, as plantas que levam à obtenção de valores menores que um, determinando decréscimos e não aumentos populacionais, são classificadas como hospedeiras más ou desfavoráveis, ou ainda, resistentes. Plantas tidas como boas hospedeiras, ou suscetíveis (em termos de P_f/P_i), inoculadas com diferentes densidades populacionais de um dado nematóide (no caso, *P. coffeae* e *M. incognita*), no geral mostram redução significativa no desenvolvimento quando comparadas às testemunhas, não infectada ($P_i=0$); todavia, se não ocorrer redução significativa, a reação é dita de tolerância (= tolerantes). Da mesma forma, as plantas tidas como más hospedeiras, ou resistentes, normalmente não sofrem redução significativa no desenvolvimento, mas, quando tal ocorre, diz-se que apresentam reação de intolerância (= intolerantes).

Por fim, para comparar o isolado K_5 de *P. coffeae* e *M. incognita* em relação aos potenciais reprodutivos, as médias da variação populacional foram comparadas pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon ("Rank Sum Test") (Campos, 1983).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

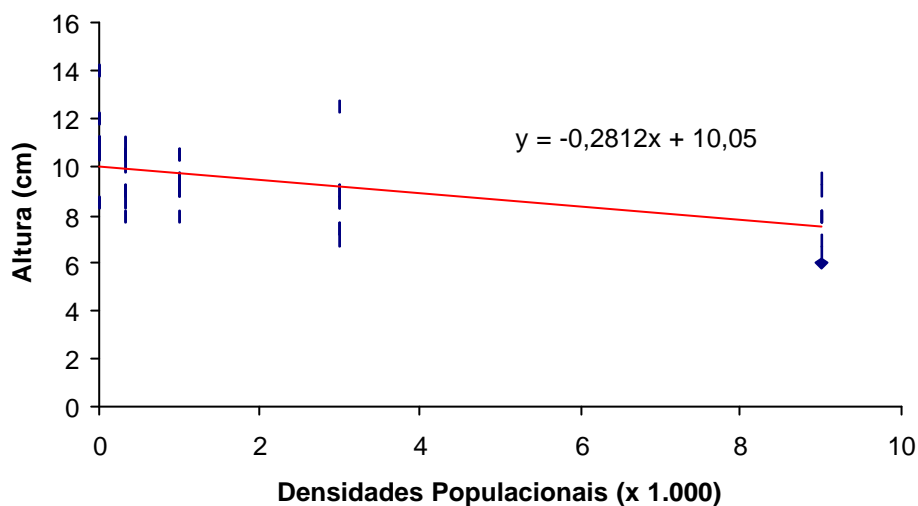
4.1 Experimentos realizados com o isolado M₂ de *Pratylenchus coffeae*

4.1.1 Experimento com plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’

Houve decréscimo populacional do isolado M₂ no período experimental (147 dias da inoculação): Pf/Pi = 0,54 (Pi = 333); 0,44 (Pi = 1.000); 0,46 (Pi = 3.000); e 0,13 (Pi = 9.000). Todavia, neste experimento, o parasitismo causou significativa redução no crescimento das plantas. A análise de regressão mostrou que o modelo linear foi o que representou melhor os efeitos negativos sobre o crescimento dos cafeeiros, decorrentes da inoculação de níveis crescentes do isolado (Figuras 2 a 4).

No presente trabalho, o decréscimo populacional do isolado durante o período experimental é forte indicativo da ocorrência de reação de intolerância de parte do cafeeiro testado. Em outras palavras, as densidades de inóculo utilizadas mostraram-se críticas para plantas com apenas dois pares de folhas, ainda muito jovens e em fase bem inicial de formação do sistema radicular. Em comparação ao isolado K₅, o isolado M₂ pode ser considerado um parasito menos adaptado ou menos agressivo ao cafeeiro. Em experimento semelhante, Kubo *et al.* (2003) verificaram aumento populacional de K₅ em plântulas de cafeeiro ‘Mundo Novo’, 252 dias após inoculação de Pi = 333 (Pf/Pi = 10,1), indicando que o isolado K₅ multiplica-se em cafeeiro, mas necessita de um longo período de parasitismo. Por outro lado, ocorreu decréscimo populacional (Pf/Pi = 0,27)

Figura 2. Altura das plântulas de cafeeiro 'Catuaí Vermelho' inoculadas com diferentes densidades populacionais ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides/plântula) do isolado M_2 de *Pratylenchus coffeae*

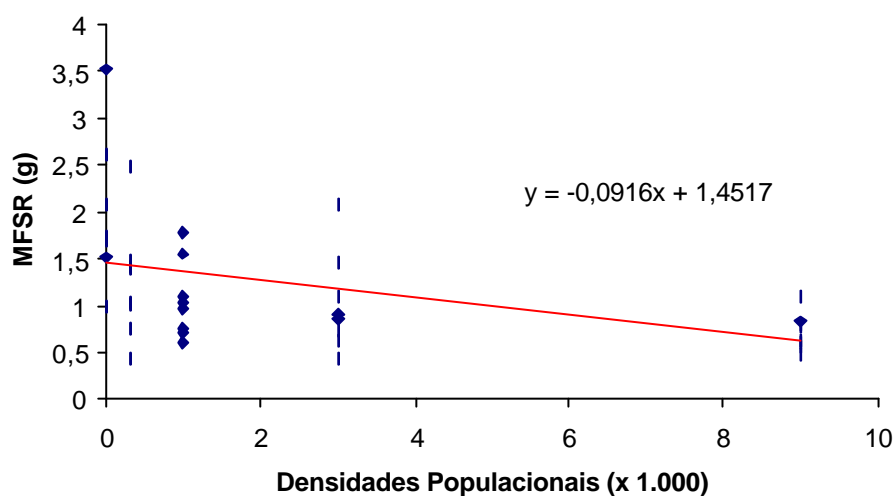


quando o inóculo foi quase dez vezes maior ($P_i = 3.000$), provavelmente em decorrência da alta suscetibilidade de plântulas de cafeeiro 'Mundo Novo' a esse isolado e de processo de destruição radicular verificada, resultando em indisponibilidade de alimento ao nematóide.

4.1.2 Experimento com plantas de cafeeiro 'Catuaí Vermelho'

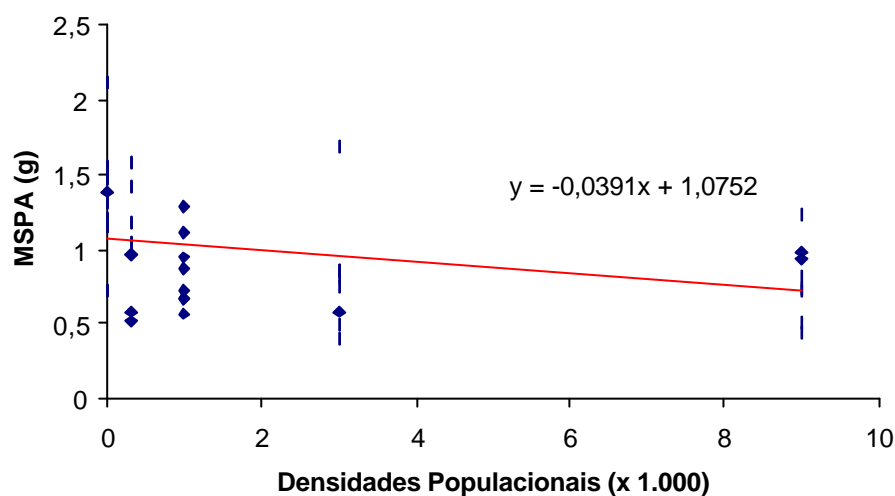
Em ambas as avaliações, ocorreu diminuição populacional do isolado M_2 nas raízes do cafeeiro 'Catuaí Vermelho', com variação populacional entre 0,05 e 0,18,

Figura 3. Massa fresca do sistema radicular (MFSR) de plântulas de cafeeiro 'Catuaí Vermelho' inoculadas com diferentes densidades populacionais ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides/plântula) do isolado M_2 de *Pratylenchus coffeae*



sendo, portanto, sempre bem inferiores a 1,0 (Tabela 1). Isso demonstra que, nesta fase de desenvolvimento, bem como em plântulas, a cultivar avaliada pode ser considerada hospedeira desfavorável ou resistente ao isolado. As variações populacionais foram bastante semelhantes às determinadas por Silva & Inomoto (2002) para o isolado M_2 na mesma cultivar (entre 0,05 e 0,15), sendo que tais autores utilizaram período semelhante ao da primeira avaliação (70 - 75 dias da inoculação), embora com um único nível de inóculo (1.000 nematóides/planta). Não houve efeito das densidades populacionais utilizadas sobre os valores médios de altura, massa fresca de raízes e de massa seca da

Figura 4. Massa seca da parte aérea (MSPA) de plântulas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ inoculadas com diferentes densidades populacionais ($P_i = 0, 333, 1.000, 3.000$ e 9.000 nematóides/plântula) do isolado M_2 de *Pratylenchus coffeae*



parte aérea das plantas (Tabela 1). Visualmente, também não se verificaram diferenças nos sistemas radiculares sob as diferentes densidades populacionais. Na segunda avaliação, também não houve diferenças significativas entre as variáveis avaliadas e, embora se extraíssem nematóides das raízes, a variação populacional manteve-se com valores de P_f/P_i menores que um. Tais resultados evidenciaram que plantas de cafeeiro arábico ‘Catuaí Vermelho’ no estágio vegetativo em que já possuíam seis pares de folhas verdadeiras mostraram reação de resistência frente ao isolado M_2 .

A análise conjunta dos dois experimentos demonstrou que o cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ é hospedeiro desfavorável/resistente ao isolado M_2 , porém, a ocorrência de

danos significativos ao crescimento é dependente da idade, visto que a inoculação de plântulas, com apenas dois pares de folhas, resultou em reação de intolerância. Tal comportamento, ao que tudo indica, também se verifica em outros genótipos de café, como observado com plântulas de 'Mundo Novo' (Kubo *et al.*, 2003).

Tabela 1. Médias de altura (ALT), massa fresca do sistema radicular (MFSR) e massa seca da parte aérea (MSPA) de plantas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho’ inoculadas com diferentes densidades populacionais (Pi) do isolado M₂ de *Pratylenchus coffeae* e valores de variação populacional (Pf/Pi) obtidos para os nematóides nos diversos tratamentos

Tratamentos (Pi) ²	Primeira Avaliação (68 d.a.i.)				Segunda Avaliação (227 d.a.i.)			
	ALT (cm) ¹	MFSR (g) ¹	MSPA (g) ¹	(Pf/Pi)	ALT (cm) ¹	MFSR (g) ¹	MSPA (g) ¹	(Pf/Pi)
0	18,7	18,4	4,6	-	45,7	42,4	25,7	-
333	18,7	14,5	4,8	0,12	44,9	45,6	25,9	0,18
1.000	18,6	16,5	4,8	0,11	44,5	34,3	24,9	0,12
3.000	18,9	17,1	4,9	0,16	44,8	42,9	26,1	0,13
9.000	18,9	14,6	4,4	0,05	45,4	51,2	28,1	0,05

¹ Valores de F não significativos para todas as variáveis, nas épocas avaliadas, seguindo a análise de variância. ² Nematóides por planta.

4.2 Experimentos realizados com o isolado K₅ de *Pratylenchus coffeae*

4.2.1 Experimento 1, com cafeeiro ‘Mundo Novo’

A variação populacional foi maior para *M. incognita* raça 2 (Pf/Pi = 158,9) que para o isolado K₅ de *P. coffeae* (Pf/ Pi = 47,8), mas o cafeeiro ‘Mundo Novo’, linhagem IAC 388-17, foi igualmente afetado por ambos os nematóides na população inicial utilizada (Pi = 1.480), em relação às variáveis massa seca da parte aérea e massa fresca das raízes, quando comparadas às plantas não infectadas (Tabela 3). As raízes infectadas com o isolado K₅ exibiam raízes secundárias escurecidas, principalmente perto da raiz principal. Além disso, os sistemas radiculares eram menos volumosos quando comparados aos das plantas não infectadas. As raízes das plantas com *M. incognita* apresentavam galhas pequenas nas extremidades das raízes secundárias.

Os resultados em relação a *M. incognita* estão em concordância com relatos anteriores. Lordello & Lordello (1987) verificaram que *C. arabica* ‘Mundo Novo’, ‘Catuaí Amarelo’, ‘Catuaí Vermelho’ e ‘Caturra’, e *C. canephora* ‘Guarani’ e ‘Conilon’ foram suscetíveis a *M. incognita*, observando ainda que a raça 2 foi a mais agressiva, seguida da raça 1. Com relação ao isolado K₅ os resultados concordam com os relatados por Kubo *et al.* (2003), que estudaram o efeito desse isolado em cafeeiro ‘Mundo Novo’. Plântulas com dois pares de folhas mostraram-se intolerantes ao isolado na densidade de 8.000 nematóides/plântula, verificando-se decréscimo populacional do nematóide (Pf/Pi < 1), decréscimo esse atribuído ao estado das raízes, praticamente destruídas em toda sua extensão devido à atividade do nematóide. Os presentes resultados demonstram que também cafeeiros mais velhos, ou seja, com seis pares de folhas, são suscetíveis ao isolado K₅, mesmo em densidades populacionais mais baixas (Pi = 1.480) que as utilizadas por Kubo *et al.* (2003). Os resultados da variação

populacional de K₅ evidenciam que há forte dependência da disponibilidade do alimento, ou seja, raízes, pois, diferentemente do trabalho de Kubo *et al.* (2003), no presente estudo houve elevado crescimento populacional de K₅ apesar do pronunciado efeito deletério sobre o crescimento do cafeeiro ‘Mundo Novo’. Destaque-se que tal efeito foi similar ao causado por *M. incognita* raça 2 em igualdade de condições. Portanto, o isolado K₅ de *P. coffeae*, ao contrário do M₂, deve ser motivo de grande preocupação aos cafeicultores. No caso de uma reforma ou mesmo na implantação de novos cafezais, quando mudas com cinco ou seis pares de folhas são utilizadas, o isolado K₅ de *P. coffeae* é potencialmente tão daninho quanto *M. incognita*, relatada como a espécie mais disseminada e agressiva ao cafeeiro (Campos *et al.*, 1990).

4.2.2 Experimentos 2 e 3, com cafeeiros ‘Robusta’

A linhagem IAC 4804 foi suscetível ao isolado K₅ e a *M. incognita*, mas com grande variação entre as repetições em relação à esta última espécie; a variação populacional deste ficou entre 0,1 a 0,4 em seis repetições e foi de 29,2 e 32,6 em duas, ou seja, a maioria das repetições comportou-se como resistente à *M. incognita* (Tabela 2). Apenas o isolado K₅ de *P. coffeae* promoveu redução do crescimento (Tabela 3), na massa fresca das raízes (MFR), sendo que os sistemas radiculares parasitados exibiam escurecimento nas raízes secundárias e eram menos volumosos, quando comparados aos das plantas testemunhas e das infectadas por *M. incognita*. Portanto, a linhagem IAC 4804 poderia ser considerada tolerante a *M. incognita* com base na média da variação populacional (Pf/Pi), mas a variabilidade observada entre os valores obtidos para as repetições sugere que o ideal seria a realização de um novo estudo visando melhor esclarecer tal aspecto. Em relação a K₅, mostrou-se suscetível tanto do ponto

de vista de adequação hospedeira como de danos causados, com base na redução significativa na massa fresca de raízes.

A linhagem IAC 4810 foi suscetível ao isolado K₅ de *P. coffeae* e resistente à *M. incognita*. Houve variação entre as repetições em relação ao isolado K₅ (Tabela 2), mas em todas as repetições os valores de Pf/Pi foram maiores que um, situando-se entre 1,4 e 21,0. Como com a IAC 4804, apenas K₅ afetou o crescimento das plantas, reduzindo significativamente a massa fresca das raízes (Tabela 3). Portanto, IAC 4810 pode ser considerada resistente a *M. incognita* raça 2 e suscetível ao isolado K₅ de *P. coffeae*.

4.2.3 Experimentos 4 e 5, com cafeeiros ‘Conilon’

As duas linhagens de ‘Conilon’ testadas, IAC 4764 e IAC 4765, foram resistentes ao isolado K₅ de *P. coffeae* (Tabelas 2 e 3). Porém, a população de *M. incognita* aumentou em ambas (Tabela 2), muito mais em IAC 4764 (Pf/Pi = 20,8) que em IAC 4765 (Pf/Pi = 1,51); além disso, ocorreu grande variação entre as repetições (Pf/Pi = 0–161,4 em IAC 4764 e 0,1–6,31 em IAC 4765). Como a massa seca da parte aérea (MSPA) e a massa fresca das raízes (MFR) das duas linhagens não foram afetadas por *M. incognita*, podem ser consideradas tolerantes (Tabela 3). As raízes de ambas as linhagens de ‘Conilon’ infectados com o isolado K₅ e *M. incognita* não apresentaram escurecimento aparente, confirmando a tolerância a ambos os nematóides.

Segundo Villain *et al.* (2000), são conhecidas progênies de *C. canephora* ‘Robusta’ com resistência parcial a *P. coffeae* na Índia e progênies de *C. canephora* ‘Robusta’ altamente resistentes a *P. coffeae* na Indonésia. Uma vez que não são conhecidos genótipos de *C. arabica* resistentes a *P. coffeae*, a enxertia em *C. canephora* é uma possível alternativa de

manejo e que tem se mostrado eficaz em condições de campo na Guatemala. (Villain *et al.*, 2000; 2002). Provavelmente, futuros trabalhos sobre a resistência de genótipos de cafeeiros a *P. coffeae* devam levar em conta a variação biológica existente dentro dessa espécie de nematóide. No presente trabalho, os dois genótipos 'Robusta' testados foram suscetíveis ao isolado K₅ e os dois de 'Conilon' foram resistentes. Portanto, os dois últimos podem ser valiosos no futuro como fontes de resistência e no presente como porta-enxertos, embora apresentem a desvantagem de serem suscetíveis a *M. incognita*, pelo menos à raça 2, utilizada no presente trabalho. Nesse particular, é importante destacar a grande variação observada nos valores de Pf/Pi dentro das linhagens testadas em relação a *M. incognita*, apesar de tanto IAC 4765 quanto IAC 4764 terem sido consideradas suscetíveis, pois o Pf/Pi médio foi superior a 1. Essa heterogeneidade não constitui novidade e está amplamente registrada na literatura (Rebel & Fazuoli, 1978; Fazuoli *et al.*, 1983; Gonçalves *et al.*, 1990; Costa *et al.*, 1991; Gonçalves, 1993; Carneiro, 1995). Sob o ponto de vista prático, tal fato demonstra a possibilidade de seleção de plantas matrizes resistentes a ambos os nematóides. No caso de *C. canephora* 'Robusta', a suscetibilidade a K₅ não deve ser vista como indicativo da inexistência de genótipos resistentes dentro desse grupo de *C. canephora*, pois o número de genótipos testados foi muito pequeno.

Tabela 2. Variação populacional (Pf/Pi) de *Meloidogyne incognita* raça 2 (Mi) e do isolado K₅ de *Pratylenchus coffeae* (K₅) nos diferentes genótipos de cafeeiros testados

Tratamentos	Robusta		Conilon		
	Mundo Novo	4804	4810	4764	4765
	Pf/Pi ¹	Pf/Pi ^{1,2}	Pf/Pi ^{1,2}	Pf/Pi ^{1,2}	Pf/Pi ^{1,2}
Mi	158,9 a ³	7,9	0,02 b	20,8 a	1,51 a
K ₅	47,8 b ⁴	7,4	11,57 a	0,01 b	0,02 b
P>F	0,0018	0,1040	0,0020	0,050	0,0020

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Wilcoxon. ²Médias de 8 repetições. ³Médias de 7 repetições.

⁴Médias de 5 repetições.

Tabela 3. Efeitos de *Meloidogyne incognita* raça 2 (Mi) e do isolado K₅ de *Pratylenchus coffeae* (K₅) na massa seca da parte aérea (MSPA) e massa fresca das raízes (MFR) dos cafeeiros após sete meses da inoculação

Tratamentos	Robusta						Conilon			
	Mundo Novo		4804		4810		4764		4765	
	MSPA ¹	MFR ¹	MSPA ^{1,2}	MFR ^{1,2}	MSPA ^{1,2}	MFR ^{1,2}	MSPA ^{1,2}	MFR ^{1,2}	MSPA ^{1,2}	MFR ^{1,2}
Testemunha	22,7 a ²	30,4 a	14,2 a	27,4 a	20,1 a	30,5 a	21,8 a	28,2 a	19,4 a	37,0 a
Mi	20,4 ab ²	22,5 b	12,4 a	23,5 ab	18,4 a	38,6 a	19,0 a	31,0 a	20,5 a	30,3 a
K ₅	17,0 b ³	21,7b ³	12,7 a	19,0 b	15,8 a	20,7 b	18,7 a	29,3 a	19,7 a	31,0 a
P>F	0,0046	0,0123	0,2551	0,0499	0,0732	0,0002	0,0411	0,7603	0,8533	0,2969

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ²Médias de 8 repetições.

5 CONCLUSÕES

Nas condições dos experimentos realizados, foi possível concluir que:

- o isolado M₂ de *Pratylenchus coffeae* é parasito pouco agressivo do cafeeiro arábico, sendo potencialmente importante apenas quando ataca plantas muito novas (=plântulas);

- o isolado K₅ de *P. coffeae* é muito agressivo ao cafeeiro arábico causando severa redução no crescimento de plantas de diferentes idades;

- há genótipos de *Coffea canephora* resistentes ao isolado K₅ de *Pratylenchus coffeae*, que poderão vir a ser utilizados em programas de melhoramento genético visando ao controle desse nematóide.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BADEL, R. E.; AYALA, A. Chemical control of coffee nematodes in seedbeds in Puerto Rico. **Journal of Agriculture of University of Puerto Rico**. v. 64, n. 4, p. 474-481, 1980.
- BONETTI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, n. 3, p. 553, 1981.
- CAMPOS, H. Estatística Experimental Não-paramétrica. Piracicaba: Departamento de Matemática e Estatística/ ESALQ, 1983. 211p.
- CAMPOS, V. P.; SIVAPALAN, P.; GNANAPRAGASAM, N. C. Nematode parasites of coffee, cocoa and tea. In: LUC, M.; SIKORA, R.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CAB Internacional, 1990. p. 387-430.
- CARNEIRO, R.G. Reação de progênies de café Icatú a *Meloidogyne incognita* raça 2, em condições de campo. **Nematologia Brasileira**, v. 19, p. 53-59, 1995.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent, Belgium: State Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77p.

- COSTA, W. M.; GONÇALVES, W; FAZUOLI, L. C. Produção do café 'Mundo Novo' em porta-enxertos de *Coffea canephora* em área infestada com *Meloidogyne incognita* raça 1. **Nematologia Brasileira**, v. 15, p. 43-50, 1991.
- DUNCAN, L. W.; INSERRA, R. N.; THOMAS, S. K.; DUNN, D.; MUSTIKA, I; FRISSE, L. M.; MENDES, M. L.; MORRIS, K.; KAPLAN, D. T. Molecular and morphological analyses of isolates of *Pratylenchus coffeae* and closely related species. **Nematropica**, v.29, p.61-81,1999.
- DUTRA, M. R. Nematóides avançam no café. **Grande Culturas Cultivar**, v. 5, n. 51, p.18-21, 2003.
- FAZUOLI, L.C. Genética e melhoramento do cafeeiro. In: RENA,A.B.; MALAVOLTA,E.; ROCHA,M.; YAMADA,T. (Ed). **Cultura do cafeeiro** – fatores que afetam a produtividade. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa do Potássio e do Fosfato, 1986. p 87-113.
- FAZUOLI, L.C.; COSTA, W.M.; FERNANDES, J.A.R. Variabilidade na resistência de linhagens de *Coffea canephora* em relação a uma população do nematóide *Meloidogyne incognita* em condições de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., Poços de Caldas, MG, 1983. **Anais**. Poços de Calda: CBPC, 1983, p.115-117.
- GONÇALVES, W. Reações de cafeeiros (*Coffea* spp.) a *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887 e a diferentes populações de *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949. Jaboticabal, 1993. p.110. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita F.”

- GONÇALVES, W.; FERRAZ, L. C. C. B. Resistência do cafeeiro a nematóides. II- Testes de progênies e híbridos para *Meloidogyne incognita* raça 3. **Nematologia Brasileira**, v. 11, p.125-142, 1987.
- GONÇALVES, W.; RAMOS, L.C.S.; FERNANDES, J.A.R.; KASAI, F.S. Avaliação da resistência de dois cultivares de *Coffea canephora* a *Meloidogyne incognita* raça 2. **Nematologia Brasileira**, v. 14, p. 45-53, 1990.
- GONÇALVES, W. FERRAZ, L.C.C.B., LIMA, M.M.A.de; SILVAROLLA, M.B. Reações de cafeeiros às raças 1, 2 e 3 de *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 22, n. 2, p.172-177. 1996.
- INOMOTO, M. M.; OLIVEIRA, C. M.G.; MAZZAFERA, P. ; GONÇALVES, W. Effects of *Pratylenchus brachyurus* and *P. coffeae* on seedlings of *Coffea arabica*. **Journal of Nematology**, v. 30, p. 362-367, 1998.
- INSERRA, R.N.; DUNCAN, L.W.; TROCCOLI, A.; DUNN, D.; SANTOS, J. M.; KAPLAN, D. ; VOVLAS, N. *Pratylenchus jaehni* sp. n. from citrus in Brazil and its relationships with *P. coffeae* e *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae). **Nematology**, v. 37, n. 7, p. 653-665, 2002.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, v. 48, p. 69, 1964.
- KUBO, R. K.; INOMOTO, M. M.; OLIVEIRA, C. M. G.; ANTEDOMÊNICO, S. R.; MONTEIRO, A. M. Nematóides associados a cafeeiros do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 23., Marília, 2001. **Anais**. Garça: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2001. p.91.

- KUBO, R. K., SILVA, R. A., TOMAZINI, M. D., OLIVEIRA, C. M. G., MAZZAFERA, P. ; INOMOTO, M. M. Patogenicidade de *Pratylenchus coffeae* em plântulas de cafeeiro cv. Mundo Novo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n.1, p. 41-48, 2003.
- KUMAR, A. C.; SAMUEL, S. D. Nematodes attacking coffee and their management – a review. **Journal of Coffee Research**, v.20, n.1, p. 1-27, 1990.
- LORDELLO, R. R. A.; LORDELLO A. I. L.; PPEREIRA, L.C.E. Recuperação de cafeeiros parasitados por *Meloidogyne incognita* raça 1. **Nematologia Brasileira**, v.11, p. 15, 1987.
- MALUF, M.P.; GUERREIRO FILHO, O.; FAZUOLI, L.C. Biotecnologia: aporte tecnológico ao melhoramento do cafeeiro no IAC. **O Agrônomo**, v. 53, n. 2, p. 5-7, 2001.
- MATIELLO, J.B.; BARROS, U.V. Observações preliminares sobre o desenvolvimento de cafeeiros Catuaí (*Coffea arabica*) e Conillon (*C. canephora*) em duas regiões com diferentes diferenciais de altitudes em Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 24., Poços de Caldas, MG, 1998. **Ana is**, Poços de Caldas: CBPC, 1998. p. 54.
- MONTEIRO, A. R.; LORDELLO, L. G. E. Encontro do nematóide *Pratylenchus coffeae* atacando cafeeiro em São Paulo. **Revista de Agricultura**, v. 49, n. 1, p. 164, 1974.
- MORERA, N.G.; LÓPEZ Ch, R. Repuesta de seia líneas experimentales de *Coffea* spp. a la inoculation con *Meloidogyne exigua*. **Nematropica**, v. 17, n. 2, p. 103-109, 1987.

- MOURA, R.M.; PEDROSA, E.M.E.; PRADO,M.D.C. Incidência de *Pratylenchus coffeae* causando severa nematose em cafeeiros no nordeste. **Fitopatologia Braileira**, v. 27, n. 6, p. 649, 2002.
- OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededelingen Van De landbouwhogeschool Te Wageningen**, v.66, n.4, p.1-46, 1966.
- REBEL, E. K.; FAUZOLI, L. C. Fontes de resistência de cafeeiros ao nematóide *M. incognita*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 6., Ribeirão Preto, SP, 1978. **Anais**, Ribeirão Preto: CBPC. 1978a. p.187-191.
- RIEDEL, R.M., FOSTER, J.G.; MAI, W.F. A simplified medium for monoxenic culture of *Pratylenchus penetrans* and *Ditylenchus dipsaci*. **Journal of Nematology**, v. 5, p. 71-71, 1973.
- SCHIEBER, E.; GRULLON, L. El problema de nematodos que atacan al café (*Coffea arabica*) en la Republica Dominicana. **Turrialba**, v. 19, n. 4, p. 513-517, 1969.
- SILVA, R. A.; INOMOTO, M.M. Host-range characterization of two *Pratylenchus coffeae* isolates from Brazil. **Journal of Nematology**, v. 34, n. 2, p. 135-139, 2002.
- SIMON, M.T. Melhoramento genético em café. In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE CAFÉ COM QUALIDADE, 1.,Viçosa. 1999 **Anais**. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 1999. 259p.
- SOUTHEY, J.F. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. London. Her Majesty's Stationery Office, 1986. 265 p.

- TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. Biology, Identification and Control of Root-knot Nematodes (*Meloidogyne* species). Raleigh, North Carolina State Univ: Graphics, 1978. 111p.
- VILLAIN, L.; ANZUETO, F.; SARAH, J. L. Resistance to root-lesion nematodos in *Coffea canephora*. **Nematology**, v. 4, n. 2, p. 186, 2002. (Resumos)
- VILLAIN, L.; MOLINA, A.; SIERRA, S.; DECAZY, B. ; SARAH, J. L. Effect of grafting and nematicide treatments on damage by root-lesion (*Pratylenchus* spp.) to *Coffea arabica* L. in Guatemala. **Nematropica**, v. 30, n.1, p. 87-100, 2000.
- VOLPATO, A.R.; OTOBONI, C.E.M.; OTOBONI, J.A.M., CORRÊA, L.E.A.; SARAIVA, R.F. Eficácia dos produtos Casudafós, Carbofuran e Carbosulfam no controle de *Meloidogyne exigua* e *M. coffeicola* no cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 23., Marília, 2001. **Anais**. Garça: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2001. p.92.