

**Manejo Integrado de
Meloidogyne paranaensis
Utilizando Sucessão de
Culturas, Resistência Genética
e Controle Biológico**

Foto: Rui Gomes Carneiro



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa 296 e Desenvolvimento

Manejo Integrado de *Meloidogyne paranaensis* Utilizando Sucessão de Culturas, Resistência Genética e Controle Biológico

Rui Gomes Carneiro
Mariana Guimarães de Sousa
Antônio W. Moita
Valdir R. Correa
Regina M. D. G. Carneiro

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Endereço: Parque Estação Biológica - PqEB – Av. W5 Norte (final)

Caixa Postal: 02372 - Brasília, DF - Brasil – CEP: 70770-917

Fone: (61) 3448-4700

Fax: (61) 3340-3624

Home Page: <http://www.cenargen.embrapa.br>

E-mail (sac): sac@cenargen.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *João Batista Teixeira*

Secretário-Executivo: *Thales Lima Rocha*

Membros: *Jonny Everson Scherwinski Pereira*

Lucília Helena Marcelino

Lígia Sardinha Fortes

Márcio Martinelli Sanches

Samuel Rezende Paiva

Vânia Cristina Rennó Azevedo

Suplentes: *João Batista Tavares da Silva*

Daniela Aguiar de Souza Kols

Supervisor editorial: Lígia Sardinha Fortes

Revisor de texto: José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica: Lígia Sardinha Fortes

Editoração eletrônica: José Cesamildo Cruz Magalhães

Foto da capa: Rui Gomes Carneiro

1ª edição (*online*)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei n 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Manejo integrado de *Meloidogyne paranaensis* utilizando sucessão de culturas, resistência genética e controle biológico. / Rui Gomes Carneiro [et al.]. – Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos Biotecnologia, 2013.
24 p. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 296).

1. Controle biológico. 2. *Meloidogyne paranaensis*. 3. Cafeeiro. I. Carneiro, Rui Gomes. II. Sousa, Mariana Guimarães de. III. Moita, Antônio W. IV. Correa, Valdir R. V. Carneiro, Regina M. D. G. VI. Série.

633.73 – CDD 21

Sumário

Resumo	05
Abstract	06
Introdução	07
Material e métodos	08
Avaliação da população do nematoide no solo	09
Épocas de avaliação das populações do nematoide no solo	09
Cultivares de café	09
Manejo do solo	10
Produção de <i>P. penetrans</i> em casa de vegetação, aplicação no experimento e avaliação do parasitismo nos nematoides	10
Análise estatística	10
Resultados e discussão	10
Efeito da sucessão de culturas	10
Avaliação um ano após o plantio dos cafeeiros	11
Avaliação dois anos após o plantio do café	12
Avaliação três anos após o plantio do café	13
Avaliação quatro anos após o plantio do café	14
Avaliação cinco anos após o plantio do café	15
Produções de café nas três primeiras colheitas	16
Conclusões	19
Agradecimentos	20
Referências	21

Manejo Integrado de *Meloidogyne paranaensis* Utilizando Sucessão de Culturas, Resistência Genética e Controle Biológico

Rui Gomes Carneiro
Mariana Guimarães de Sousa
Antônio W. Moita
Valdir R. Correa
Regina M. D. G. Carneiro

Resumo

Em experimentos realizados em solos arenosos e argilosos infestados com *Meloidogyne paranaensis*, estudou-se o efeito da integração de sucessão de culturas, resistência genética e controle biológico com a bactéria *Pasteuria penetrans* no controle do nematoide na cultura de café. Os locais do experimento foram áreas cultivadas com cafeeiros fortemente infestados com o nematoide. Foram utilizadas duas variedades, Iapar 59 e Icatu H4782-7-925 (este último proveniente do Instituto Agrônomo de Campinas), com aplicação ou não da bactéria em área manejada previamente com sucessão de culturas ou não. Utilizou-se delineamento fatorial em blocos casualizados, com 11 repetições. A sucessão de culturas utilizada foi aveia preta, amendoim e mucuna cinza. A inoculação com a bactéria foi feita com 10^8 esporos/cova. Verificou-se que o manejo foi eficiente na redução das populações do nematoide nas duas áreas experimentais. Após o plantio dos cafeeiros, o experimento em solo arenoso foi perdido como decorrência de fusariose. A variedade Icatu foi resistente ao nematoide, embora tenha apresentado segregação para essa característica, apresentando algumas plantas suscetíveis. Iapar 59 foi suscetível, apresentando durante o desenvolvimento do experimento plantas com pouco sistema radicular em decorrência do parasitismo pelo nematoide, sendo que algumas plantas morreram. O tratamento mais eficiente durante os três primeiros anos foi Icatu x sucessão de culturas. Aos quatro anos após o plantio, as populações do nematoide se igualaram em áreas manejadas e não manejadas plantadas com a variedade de Icatu; é possível que isso seja decorrência do grande volume de raízes dessa variedade, que permitiram elevada taxa de reprodução do nematoide nas plantas segregantes para suscetibilidade. Nas parcelas com Iapar 59, esse nivelamento de populações também foi observado, provavelmente devido à perda de raízes tanto em parcelas manejadas quanto em não manejadas. Esporos de *P. penetrans* aderidos aos juvenis de segundo estágio ou internos às fêmeas adultas foram pouco frequentes. Os esporos da bactéria praticamente desapareceram do ensaio, sendo provável que tenham ficado retidos na fração de argila do solo.

Palavras-chave: nematoides das galhas, *Pasteuria penetrans*, cv. Icatu, rotação de culturas, campo.

Integrated Management of *Meloidogyne paranaensis* Using Crop Succession, Genetic Resistance and Biological Control

Abstract

We studied the effect of integration among crop succession, genetic resistance and biological control with the bacterium *Pasteuria penetrans* in experiments conducted in sandy and clay soils infested with *Meloidogyne paranaensis*. The experimental areas were cultivated with coffee trees in soil heavily infested with this nematode. We used two coffee varieties (Iapar 59 and Icatu H4782-7-925, the latter from the Agronomic Institute of Campinas), treated or not with *Pasteuria* and in areas managed previously or not with crop succession. We used a factorial randomized block design with 11 replications. Black oat / peanut / and grey mucuna were used for the succession of crops. Bacterial inoculation was done using 10^8 endospores/pit. It was found that the management was effective in reducing populations of nematodes in both experimental areas. After planting coffee trees in the experimental area in sandy soil, crop was lost due to *Fusarium* spp. infestation. The variety Icatu was resistant to nematodes, although it showed segregation for this trait. Iapar 59 was susceptible to nematodes, presenting plants with poor root system due to nematode parasitism. Some coffee plants died during the experiment. The most efficient treatment over the first three years was Icatu x crop succession. The effect of resistance was maintained for 5 years. At 4 years after planting, populations of nematodes had equalized in managed and unmanaged areas planted with the variety Icatu. The same was observed in areas with Iapar 59 in the fifth year. Spores of *P. penetrans* were rarely detected adhered to second stage juveniles or inside adult females, showing that the bacterial endospores were lost in the experiment, probably remaining attached to clay soil particles.

Key words: Root-knot nematodes, *Pasteuria penetrans*, cv. Icatu, crop rotation, field.

Introdução

O café é uma “commodity” de grande importância para os países tropicais. O Brasil produz cerca de 34% da produção total mundial (ABIC, 2007). Entretanto, muitas perdas vêm sendo causadas pelos nematoides formadores de galhas.

As espécies de nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são as mais danosas para a cafeicultura mundial. Nesse gênero, existem mais de 90 espécies descritas, das quais 17 podem atacar o cafeeiro (CARNEIRO; COFCEWICZ, 2008). As espécies mais importantes nas plantações de café no Brasil são *Meloidogyne incognita* (KOFROID; WHITE, 1916) Chitwood, 1949, *M. paranaensis* Carneiro *et al.*, 1996 (= *M. paranaensis* biótipo lapar) e *M. exigua* Göldi, 1887 (CAMPOS; VILLAIN, 2005). Nematoides desse gênero têm sido reportados em plantações de café nos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais por muitos anos, havendo flutuações na predominância de uma espécie em relação às outras (CAMPOS; VILLAIN 2005). Levantamentos recentes feitos nos estados de Paraná e São Paulo mostraram aumento na distribuição de *M. paranaensis* e *M. incognita* (KRZYZANOWSKI *et al.*, 2001; LORDELLO *et al.* 2001), enquanto no estado de Minas Gerais predominou *M. exigua* (CAMPOS; VILLAIN 2005).

Os sintomas resultantes do parasitismo ao cafeeiro variam de acordo com a espécie de nematoide. Ao se deparar com aspecto de desnutrição, queda de folhas ou depauperamento geral na lavoura (Figura 6 A), deve-se observar o sistema radicular das plantas para detecção dos sintomas específicos nas raízes, como galhas arredondadas típicas, engrossamentos, descascamento, necrose, lesão e redução no sistema radicular.

Meloidogyne exigua causa galhas arredondadas em raízes novas, enquanto que os nematoides mais prejudiciais ao cafeeiro, *M. incognita* e *M. paranaensis*, danificam drasticamente a integridade das raízes. Escamações na superfície das raízes, aspecto de “cortiça”, descascamento, rachaduras e pontos de lesões necróticas são sintomas característicos das espécies *M. paranaensis* e *M. incognita* nas raízes do cafeeiro (Figuras 6 B e 6 C).

Meloidogyne incognita e *M. paranaensis* são as espécies que causam os maiores prejuízos, em virtude da destruição que causam no sistema radicular do cafeeiro, da alta persistência no solo e do grande número de hospedeiros. A alta suscetibilidade dos cultivares de *Coffea arabica* L. a esses nematoides constitui fator limitante, tanto para a implantação de cafezais novos em áreas infestadas quanto para a manutenção dos cafezais já contaminados (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2001).

Dentre os principais métodos de controle desses patógenos, o uso de variedades resistentes e a rotação de culturas são práticas recomendadas. O uso de rotação de culturas com plantas antagonistas a *Meloidogyne* spp. é um método eficiente para se reduzir populações de nematoides no solo. Nessa prática, utilizam-se cultivos alternados com plantas antagônicas, plantas não hospedeiras ou plantas resistentes. A utilização de variedades resistentes é uma das formas mais econômicas e eficientes de se produzir em áreas infestadas com nematoides. A resistência da planta impede que o nematoide se desenvolva e ocasiona uma redução das taxas de reprodução do patógeno.

A resistência a *M. paranaensis* tem sido observada em germoplasma de Icatu, que é um híbrido artificial entre *C. arabica* e *C. canephora* (DaMATA *et al.*, 2000, 2002; SERA *et al.*, 2002, 2004). Algumas combinações de *C. arabica* com *C. canephora* originaram plantas de Icatu resistentes a *M. incognita* e *M. paranaensis*, porém segregantes para essa

característica (GONÇALVES; FERRAZ, 1987; GONÇALVES *et al.*, 1996; GONÇALVES; PEREIRA, 1998).

Pasteuria penetrans é uma bactéria próxima ao grupo dos *Bacillus* (ANDERSON *et al.*, 1999). Estudos recentes utilizando essa bactéria no biocontrole de *Meloidogyne* em cafeeiro mostraram resultados bastante animadores em casa de vegetação (CARNEIRO *et al.*, 2007). Após o contato, endósporos de *Pasteuria* spp. aderem à cutícula dos nematoides. A infecção por *P. penetrans* pode não só prevenir a capacidade de *Meloidogyne* spp. de se reproduzir, mas também diminuir a atividade e capacidade dos juvenis de penetrarem nas raízes (STURHAN, 1985). Os endósporos permanecem viáveis no solo por muitos anos, são resistentes à dissecação (STIRLING, 1984) e relativamente resistentes a altas temperaturas.

O uso de *Pasteuria* spp. em combinação com outras práticas de manejo pode ser de grande interesse para o controle da meloidoginose do cafeeiro, embora até o momento não tenham sido realizados trabalhos nesse sentido.

Em estudos realizados por Carneiro *et al.* (2003, 2004), 18 isolados de *P. penetrans* foram testados em diferentes populações de *Meloidogyne* spp. do cafeeiro. Foram selecionadas duas cepas, P12 para populações de *M. paranaensis* e P10 para as quatro raças de *M. incognita*. As doses do produto, formulado em pó de raízes, foram 10^7 endósporos (5,0 g/muda) e 10^6 endósporos (0,5 g/muda). O mecanismo de supressividade induzido pela bactéria foi avaliado pela porcentagem de juvenis do segundo estágio (J2) infectados por *P. penetrans*, número de endósporos aderidos /J2 e número de fêmeas infectadas (CARNEIRO *et al.*, 2005).

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência da integração de diferentes métodos no controle de *M. paranaensis* em áreas infestadas com esse nematoide.

Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos em duas áreas altamente infestadas por *M. paranaensis* cultivadas com café na região Norte do Estado do Paraná, nos municípios de Mirassolva, em solo arenoso (Latosolo Vermelho-Amarelo distroférico), e de Rolândia, em solo argiloso (Latosolo Vermelho distroférico).

Em cada área experimental, foram instalados 11 blocos, que foram divididos ao meio, e as parcelas foram demarcadas. Em uma das metades do bloco, foi realizada sucessão de culturas e na outra não, de modo a permitir que os tratamentos fossem aplicados em dois níveis populacionais do nematoide. Ao término do manejo, os tratamentos foram aplicados em todas as parcelas. Foram utilizadas duas variedades, sendo uma resistente (Icatu) e outra suscetível (IAPAR 59), dois níveis de inóculo com *Pasteuria*, zero e 10^8 esporos/cova, e área previamente manejada ou sem manejo. As parcelas consistiram de 16 plantas de café, sendo a parcela útil constituída das quatro plantas centrais. Utilizou-se delineamento fatorial em blocos casualizados, com 11 repetições.

Os tratamentos utilizados foram:

- café Icatu (A), com aplicação de *Pasteuria* (C), com manejo de solo (E) – tratamento ACE;
- café Icatu (A), sem aplicação de *Pasteuria* (D), com manejo de solo (E) – tratamento ADE;
- café Icatu (A), com aplicação de *Pasteuria* (C), sem manejo de solo (F) – tratamento ACF;

- café Icatu (A), sem aplicação de *Pasteuria* (D), sem manejo de solo (F) – tratamento ADF;
- café Iapar 59 (B), com aplicação de *Pasteuria* (C), com manejo de solo (E) – tratamento BCE;
- café Iapar 59 (B), sem aplicação de *Pasteuria* (D), com manejo de solo (E) – tratamento BDE;
- café Iapar 59 (B), com aplicação de *Pasteuria* (C), sem manejo de solo (F) – tratamento BCF;
- café Iapar 59 (B), sem aplicação de *Pasteuria* (D), sem manejo de solo (F) – tratamento BDF.

Após o manejo do solo, os cafeeiros das parcelas não manejadas foram arrancados, e em todas as parcelas foram plantadas mudas de café de seis meses de idade, de acordo com o tratamento.

Avaliação da população do nematoide no solo

Com a ajuda de um trado, foram retiradas subamostras de solo ao redor das 4 plantas úteis da parcela, até a profundidade de 30 centímetros. As subamostras de cada parcela foram misturadas em saco plástico, formando uma amostra composta. Essas amostras foram colocadas em vasos, e cada um deles recebeu uma muda de tomateiro cv. Rutgers, suscetível a *M. paranaensis*, que foi utilizado como indicador biológico. As avaliações foram feitas 45 dias após o plantio. Na primeira e na segunda avaliação durante o manejo, utilizou-se como parâmetro da população do nematoide o número de galhas no sistema radicular, e nas avaliações seguintes o número de ovos extraídos das raízes.

Das amostras de solo coletadas na área experimental, alíquotas de 50 mL foram utilizadas para extração de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. paranaensis* para a análise da adesão de esporos da *Pasteuria*. Dessa mesma extração, foram quantificados os fitonematoides de outros gêneros com o objetivo de verificar as alterações induzidas pelos tratamentos sobre suas populações. Para a extração dos nematoides do solo, utilizou-se o método do funil de Baermann.

Épocas de avaliação das populações do nematoide no solo

A primeira avaliação foi realizada ao acaso em cada parcela logo após a demarcação dos blocos e antes da extração dos cafeeiros. A avaliação da população nessa amostragem foi realizada mediante o número de galhas produzidas no indicador biológico. Ao final do manejo, o mesmo procedimento foi adotado.

A partir dessa etapa, foram realizadas amostragens anuais, sendo a última no quinto ano após o plantio do café. Para todas essas avaliações, foi realizada a contagem do número de ovos extraídos de raízes do indicador biológico pelo método proposto por Boneti & Ferraz (1987). As coletas de amostras no campo foram realizadas nos meses de dezembro ou janeiro, de acordo com as condições impostas pelas chuvas.

Cultivares de café

Foram utilizadas a cultivar Iapar 59, suscetível a *M. paranaensis*, e Icatu H4782-7-925, parcialmente resistente ao nematoide, obtida junto ao Instituto Agronômico de Campinas. A variedade Icatu H4782-7-925 é segregante tanto para a resistência a *M. paranaensis* quanto para a produção (WALLACE GONÇALVES, não publicado).

Manejo do solo

Procedeu-se ao manejo do solo por 18 meses, utilizando-se a sucessão de culturas aveia preta (*Avena strigosa* L. cv. Iapar 61), amendoim (*Arachis hypogaea* L.) e mucuna cinza cv. Tatuí (*Mucuna cinérea*). Durante todo o manejo, foi efetuado controle mecânico de plantas invasoras em todas as parcelas, o que reduziu a presença de hospedeiros do nematoide nas parcelas manejadas.

Produção de *P. penetrans* em casa de vegetação, aplicação no experimento e avaliação do parasitismo nos nematoides

A produção de endósporos de *P. penetrans* foi realizada *in vivo* em tomateiros cultivados em casa de vegetação na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN), em Brasília, utilizando-se a metodologia descrita por Stirling & Watchel (1980). Dessa forma, obteve-se um pó fino contendo raízes e endósporos da bactéria. Utilizou-se no experimento o isolado P12 na dosagem de 10^8 endósporos por cova, contidos em 5 gramas do pó de raízes. A aplicação da bactéria foi feita na cova logo antes do plantio.

A supressividade exercida pela bactéria foi avaliada pelo número de juvenis e de fêmeas parasitados pela bactéria. Para a avaliação de adesão em J2, utilizou-se lâmina de Peters em observações em microscópio ótico. Para a avaliação de adesão em fêmeas, foi utilizada a metodologia descrita por Carneiro *et al.* (2004). As avaliações de *Pasteuria* foram realizadas na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Análise estatística

Os dados foram analisados estatisticamente com o emprego da análise fatorial 2x2 no Sistema SAS. Para a análise de variância, os dados foram transformados em $\log(x + 1)$. Para comparação das médias, utilizou-se o teste de Tukey, com 5 % de probabilidade.

Resultados e discussão

Efeito da sucessão de culturas

A sucessão de culturas teve efeito significativo na redução das populações de *M. paranaensis* (Tabela 1), tanto em solo argiloso quanto em arenoso. A diferença de eficiência para os dois solos está provavelmente relacionada à falta de uniformidade das plantas antagonistas no solo arenoso, que possibilitou, em maior frequência, o aparecimento de plantas daninhas que podem ser hospedeiras do nematoide (ROESE; OLIVEIRA, 2004). Não se observou efeito do manejo sobre as populações de outros gêneros de fitonematoides nos dois tipos de solo.

Tabela 1. Efeitos da sucessão de culturas (aveia, amendoim e mucuna cinza) em solo argiloso (Rolândia) e arenoso (Mirassolva) nas populações de *Meloidogyne paranaensis* avaliadas pelo número de galhas em indicador biológico (tomateiro), antes e após sua implantação.

Tratamentos	Avaliação inicial antes da sucessão (número de galhas) *		Avaliação após a sucessão (número de galhas) *	
	Mirassolva	Rolândia	Mirassolva	Rolândia
Com manejo	165,4 a	350,8 a	41,9 a	10,05 a
Sem manejo	116,6 a	349,0 a	559,7 b	293,0 b

*Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferiram pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Avaliação um ano após o plantio dos cafeeiros

O experimento em solo arenoso foi perdido devido à ocorrência de fusariose em elevado número de parcelas. As informações a seguir dizem respeito ao experimento conduzido em Rolândia, em solo argiloso.

Para as duas variedades, observou-se o efeito do manejo do solo sobre o desenvolvimento das populações do nematoide no solo (Figura 1), indicando que, para o período analisado, foi importante o plantio do café em área com populações mais baixas.

Observou-se diferença significativa entre as cultivares, tanto em áreas manejadas quanto não manejadas. Icatu foi mais resistente (Figura 1) do que Iapar 59, mas permitiu uma pequena reprodução do nematoide. Foram constatadas diferenças entre as reações das plantas de Icatu na mesma parcela, mostrando segregação do material para resistência. O mesmo foi observado em relação ao desenvolvimento vegetativo das plantas da mesma parcela. Essas observações confirmam a variabilidade relatada em Icatu H4782-7-925 por Wallace Gonçalves (IAC, informação pessoal).

Em relação a Iapar 59, observou-se crescimento rápido da população do nematoide, indicando suscetibilidade e sintomatologia da parte aérea (Figura 6 D). Não foram observados J2 ou fêmeas parasitadas pela bactéria. Provavelmente isso se deva ao fato da bactéria ter sido colocada no fundo da cova no plantio, dificultando seu acesso às raízes do cafeeiro.

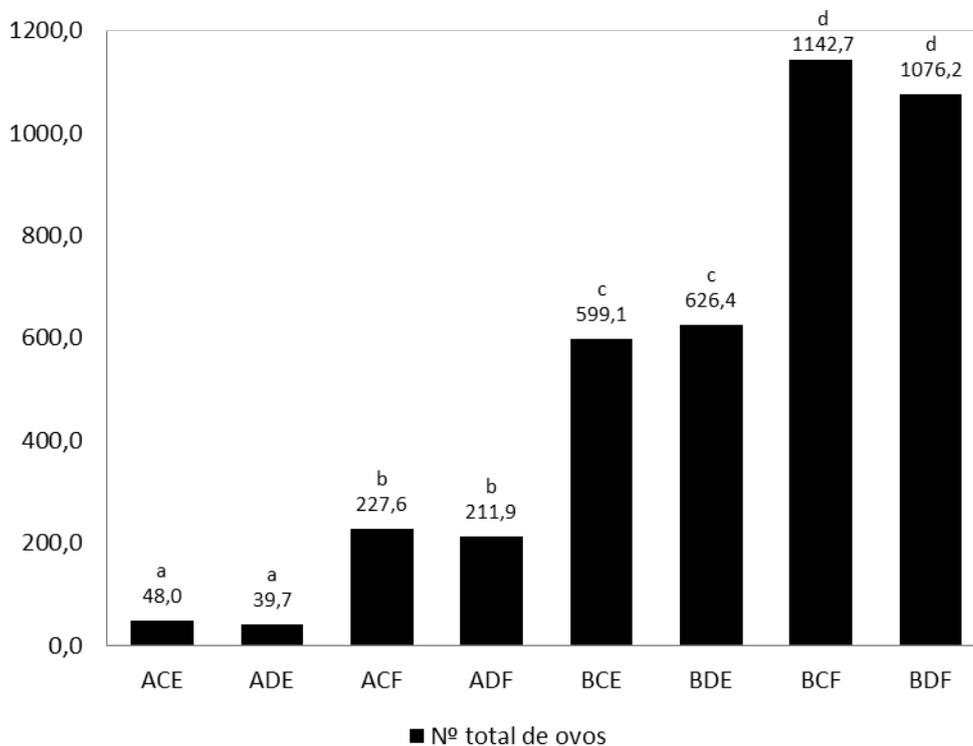


Figura 1. Número médio de ovos de *Meloidogyne paranaensis* extraídos do sistema radicular de indicador biológico (tomateiro) um ano após o plantio dos cafeeiros em solo argiloso. A: café resistente; B: café suscetível; C: inoculado com *P. penetrans*; D: não inoculado com *P. penetrans*; E: com manejo de solo (sucessão); F: sem manejo de solo. Médias com mesma letra não diferiram pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Avaliação dois anos após o plantio do café

No segundo ano após o plantio, observou-se em todos os tratamentos um aumento das populações do nematoide, mas os tratamentos com manejo de solo continuaram diferindo estatisticamente dos tratamentos sem manejo para as duas variedades (Figura 2).

Observou-se, ainda, que a diferença de suscetibilidade entre a variedade Icatu e Iapar 59 não se alterou, sendo Iapar 59 mais suscetível tanto em áreas manejadas quanto em não manejadas.

A segregação em Icatu continuou sendo observada, tanto para resistência quanto para desenvolvimento vegetativo (Figura 6 F), proporcionando aumento populacional nos tratamentos com essa variedade.

Para os dois materiais de café, a integração entre resistência e manejo de solo foi significativamente mais eficiente para reduzir as populações do nematoide. A bactéria *P. penetrans* não foi detectada em juvenis de segundo estágio (J2) e em fêmeas adultas nessa ocasião.

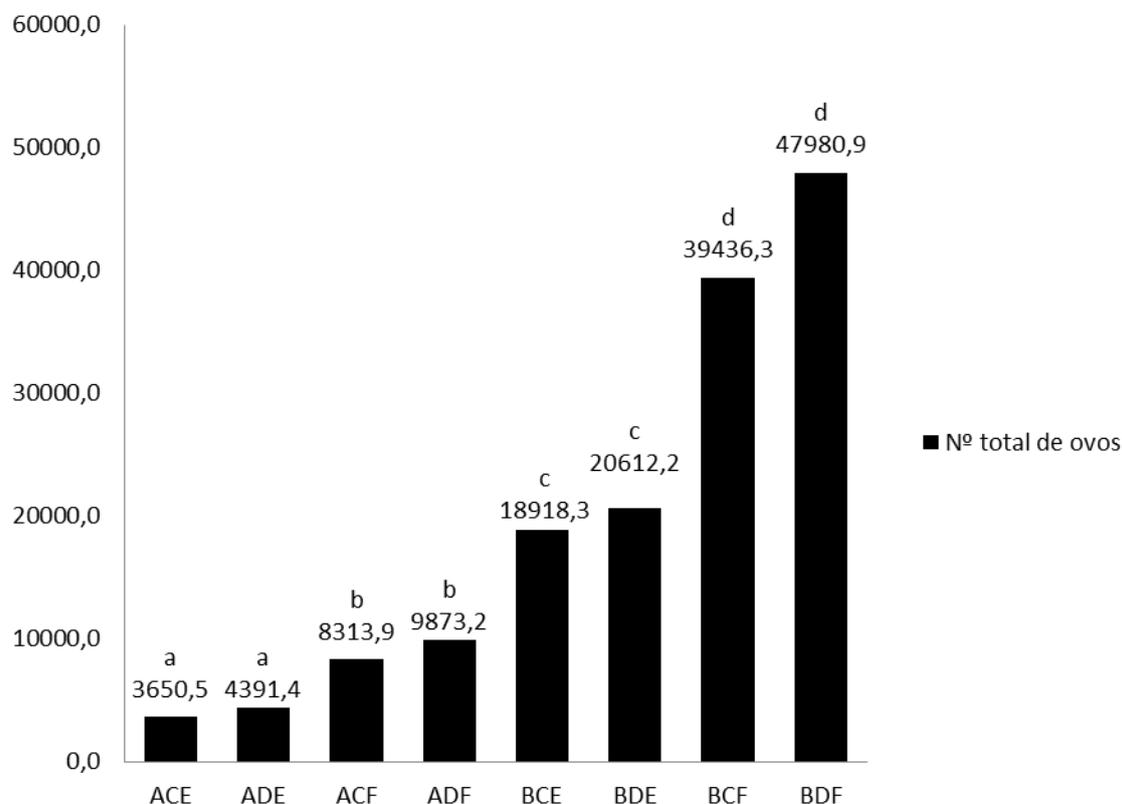


Figura 2. Número médio de ovos de *Meloidogyne paranaensis* extraídos do sistema radicular de indicador biológico (tomateiro) dois anos após o plantio dos cafeeiros em solo argiloso. A: café resistente; B: café suscetível; C: inoculado com *Pasteuria penetrans*; D: não inoculado com *P. penetrans*; E: com manejo de solo (sucessão); F: sem manejo de solo. Médias com mesma letra não diferiram pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Avaliação três anos após o plantio do café

Observou-se um aumento da população do nematoide em todos os tratamentos em relação ao ano anterior (Figura 3). As populações na variedade resistente, tanto em solo manejado quanto em não manejado, permaneceram significativamente inferiores às da variedade suscetível, embora tenham aumentado. A integração da resistência com o manejo de solo continuou sendo o tratamento que proporcionou menor incremento populacional.

A segregação em Icatu continuou sendo observada (Figura 6 F). Pôde-se observar a presença de poucos endósporos de *P. penetrans* aderidos a juvenis de segundo estágio (J2) e internamente em fêmeas nos tratamentos em que houve inoculação com a bactéria. Entretanto, os níveis da bactéria permaneceram muito baixos, tanto nas fêmeas quanto nos J2.

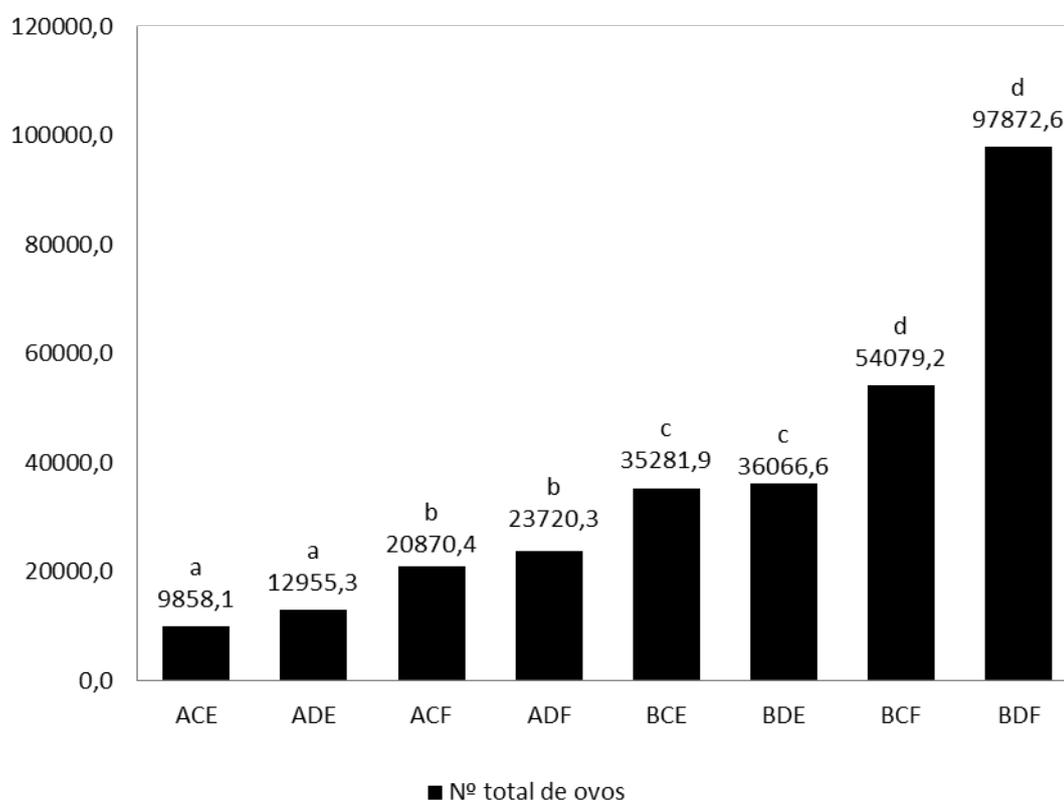


Figura 3. Número médio de ovos de *Meloidogyne paranaensis* extraídos do sistema radicular de indicador biológico (tomateiro) três anos após o plantio dos cafeeiros em solo argiloso. A: café resistente; B: café suscetível; C: inoculado com *Pasteuria penetrans*; D: não inoculado com *P. penetrans*; E: com manejo de solo (sucessão); F: sem manejo de solo. Médias com mesma letra não diferiram pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Avaliação quatro anos após o plantio do café

Para a variedade resistente (Icatu), no quarto ano após o plantio, observou-se que o manejo de solo deixou de ter efeito sobre o crescimento populacional do nematoide, embora as populações tenham se mantido significativamente inferiores às da suscetível lapar 59 (Figura 4). Isso se deve, provavelmente, à continuidade da reprodução do nematoide nas raízes das plantas segregantes para suscetibilidade (Figura 6 F), favorecida pelo vigoroso crescimento do sistema radicular dessas plantas. Em relação ao lapar 59, observou-se elevada variação nos dados obtidos, os quais indicaram a manutenção de elevada suscetibilidade. É provável que isso tenha ocorrido devido à perda de raízes pelas plantas, decorrência do elevado parasitismo pelo nematoide. Também nessa avaliação, poucos juvenis e adultos do nematoide parasitados pela bactéria foram constatados.

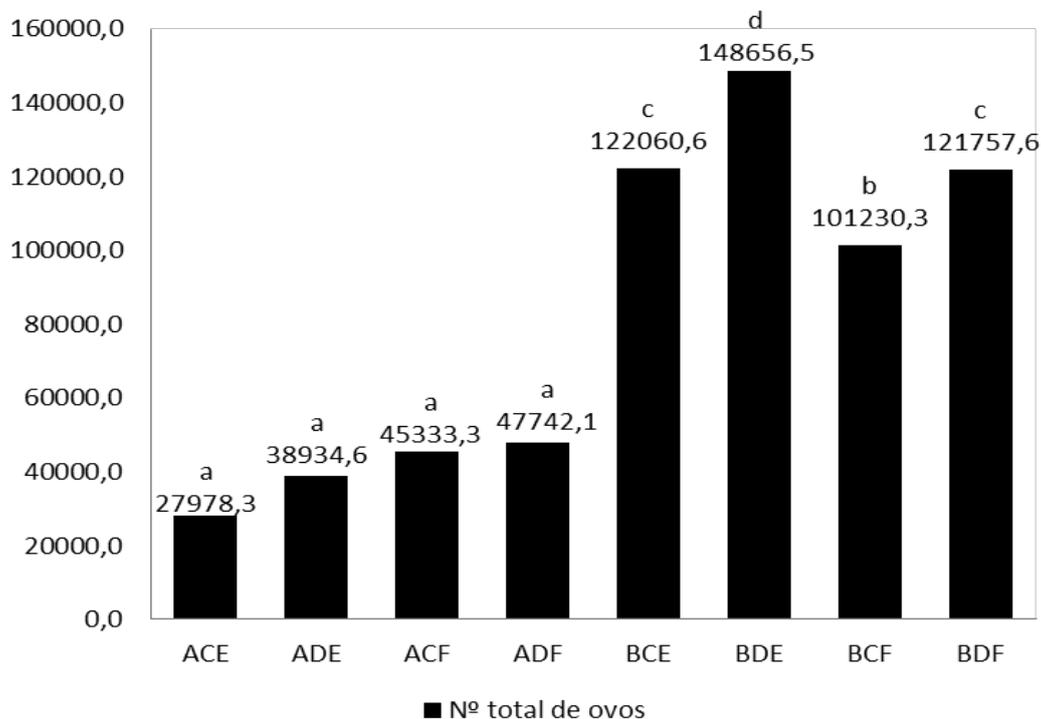


Figura 4. Número médio de ovos de *Meloidogyne paranaensis* extraídos do sistema radicular de indicador biológico (tomateiro) quatro anos após o plantio dos cafeeiros em solo argiloso. A: café resistente; B: café suscetível; C: inoculado com *P. penetrans*; D: não inoculado com *P. penetrans*; E: com manejo de solo (sucessão); F: sem manejo de solo. Médias com mesma letra não diferiram pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Avaliação cinco anos após o plantio do café

Não se observou diferença significativa entre os tratamentos com manejo de solo e sem manejo, tanto na variedade resistente Icatu quanto na suscetível, embora as populações com a variedade Iapar 59 tenham sido superiores às de Icatu (Figura 5). As plantas segregantes para suscetibilidade em Icatu foram, provavelmente, responsáveis pela perda do efeito do manejo sobre a população do nematoide, uma vez que devem ter permitido a reprodução do nematoide de forma a induzir o rápido crescimento de sua população, superando o efeito do manejo de solo. Na variedade suscetível (Iapar 59), também se observou perda do efeito do manejo do solo sobre as populações do nematoide. A supressividade induzida por *Pasteuria* não foi observada, uma vez que foram constatados poucos juvenis de segundo estágio (J2) e fêmeas com endósporos aderidos.

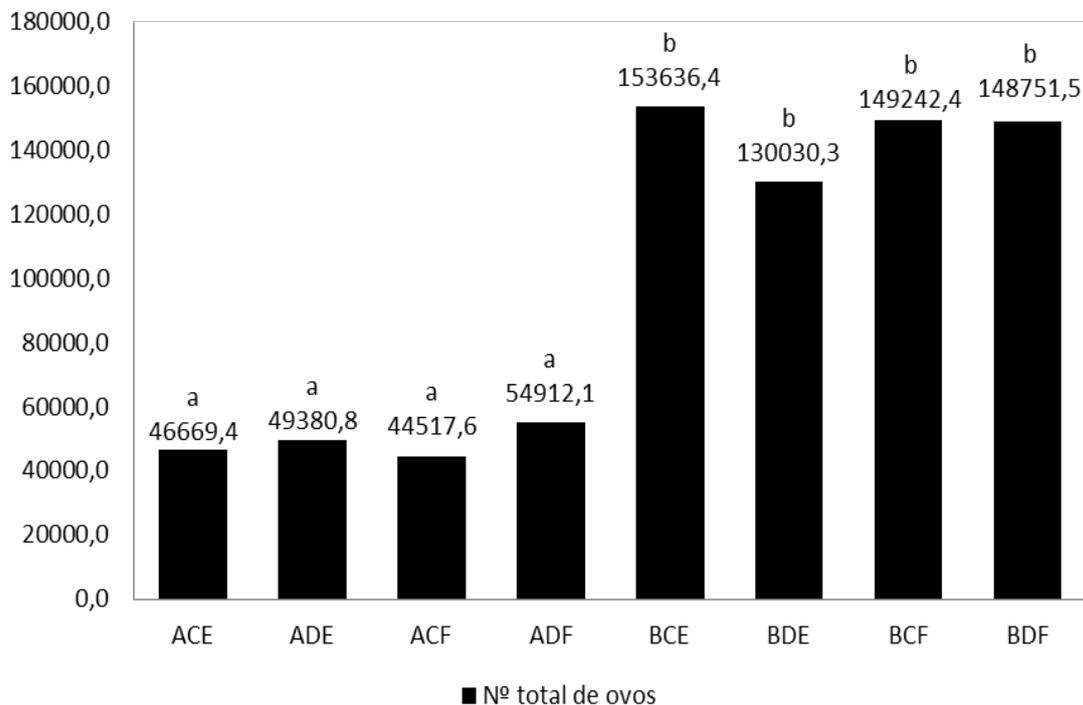


Figura 5. Número médio de ovos de *Meloidogyne paranaensis*, extraídos do sistema radicular de indicador biológico (tomateiro), cinco anos após o plantio dos cafeeiros em solo argiloso. A: café resistente; B: café suscetível; C: inoculado com *Pasteuria penetrans*; D: não inoculado com *P. penetrans*; E: com manejo de solo (sucessão); F: sem manejo de solo. Médias com mesma letra não diferiram pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Produções de café nas três primeiras colheitas

As produções médias de café da roça na primeira, segunda e terceira colheitas (terceiro, quarto e quinto anos após o plantio, respectivamente) estão apresentadas na Tabela 2. A primeira colheita foi pequena, mas indicou maior produção nas áreas manejadas plantadas com Icatu e inoculadas com *Pasteuria*. Para Iapar 59, foram observadas as maiores produções em áreas manejadas, com ou sem inoculação com *Pasteuria*.

Na colheita do segundo ano após o plantio do café, observou-se diferença entre os tratamentos com Icatu e Iapar 59. Entretanto, não foram observadas diferenças entre os tratamentos com Icatu; ou seja, o manejo de solo e a aplicação de *Pasteuria* não causaram aumento de produção dos cafeeiros Icatu. Tendo em vista a segregação nessa variedade, que permitiu a reprodução do nematoide em algumas plantas, pode-se supor que, no período do estudo, a suscetibilidade desse material se expressou na forma de tolerância, ou seja, o parasitismo do nematoide não afetou a produção. Nessa colheita, foram observadas em Iapar 59 as maiores produções nas parcelas manejadas, seguidas pelo tratamento sem manejo e sem *Pasteuria*.

Na terceira colheita (cinco anos após o plantio), observou-se que em Icatu a produção não foi afetada pelo manejo do solo nem pela aplicação de *Pasteuria* e foi significativamente superior à observada em Iapar 59. Quanto a esta variedade, também não se observou diferença entre os tratamentos, mas a produção foi afetada.

Tabela 2. Produção de café na primeira, segunda e terceira colheita (terceiro, quarto e quinto anos após o plantio).

Tratamentos*	Kg/parcela 1ª colheita	Kg/parcela 2ª colheita	Kg/parcela 3ª colheita
ACE	5,15 a**	14,33 a	14,17a
ACF	2,85 d	11,01 a	12,32 a
ADE	5,11 a	15,13 a	14,68 a
ADF	3,35 c	14,27 a	13,08 a
BCE	3,79 c	9,60 b	1,66 b
BCF	1,61 e	3,02 d	0,86 b
BDE	4,82 b	6,65 c	2,65 b
BDF	1,62 e	5,60 c	0,74 b

(*) A: café resistente; B: café suscetível; C: inoculado com *P. penetrans*; D: não inoculado com *P. penetrans*; E: com manejo de solo (sucessão); F: sem manejo de solo. (**) Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferiram pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados indicam que o manejo do solo foi eficiente na redução da população do nematoide. Entretanto, o plantio da variedade suscetível ou a existência de segregantes suscetíveis na variedade resistente permitiram o rápido crescimento das populações de *M. paranaensis*, neutralizando o efeito do manejo. O elevado vigor das plantas de Icatu, com sistema radicular abundante, ofereceu, nas plantas suscetíveis dessa variedade, substrato adequado para o desenvolvimento do nematoide. Em lapar 59, a população cresceu rapidamente, confirmando sua suscetibilidade. No quinto ano após o plantio, essa variedade apresentava plantas com fortes sintomas do parasitismo, como plantas amareladas, com poucas folhas, depauperadas, com sistema radicular reduzido e com podridões, sendo constadas plantas mortas. Não foi possível verificar o efeito de *P. penetrans* sobre a população do nematoide, uma vez que o parasitismo foi pouco observado, tanto em juvenis de segundo estágio quanto em fêmeas adultas.

É possível que os endósporos de *P. penetrans* tenham ficado aderidos às partículas de argila (FREITAS; CARNEIRO, 1999) ou tenham sido aplicados em baixa concentração para as condições de campo, contrariando o observado em casa de vegetação (CARNEIRO *et al.*, 2007). Tal fato se deve, provavelmente, à reduzida quantidade de juvenis ou fêmeas com endósporos aderidos.

A resistência genética foi o fator que controlou o nematoide, não permitindo que sua população atingisse o patamar induzido pela variedade suscetível, apesar de apresentar plantas segregantes para suscetibilidade. Entretanto, ficou evidente que o plantio de café tolerante permitiu o crescimento da população do nematoide, fato indesejado quando se pensa em cultivos posteriores no mesmo solo.

As produções obtidas mostraram que a variedade Icatu apresentou plantas tolerantes ao nematoide no período do estudo, uma vez que não foram afetadas pelo parasitismo observado. Já em lapar 59, o efeito do parasitismo foi drástico, com redução severa da produção, consequência da redução do sistema radicular.

Fotos: Rui Gomes Carneiro

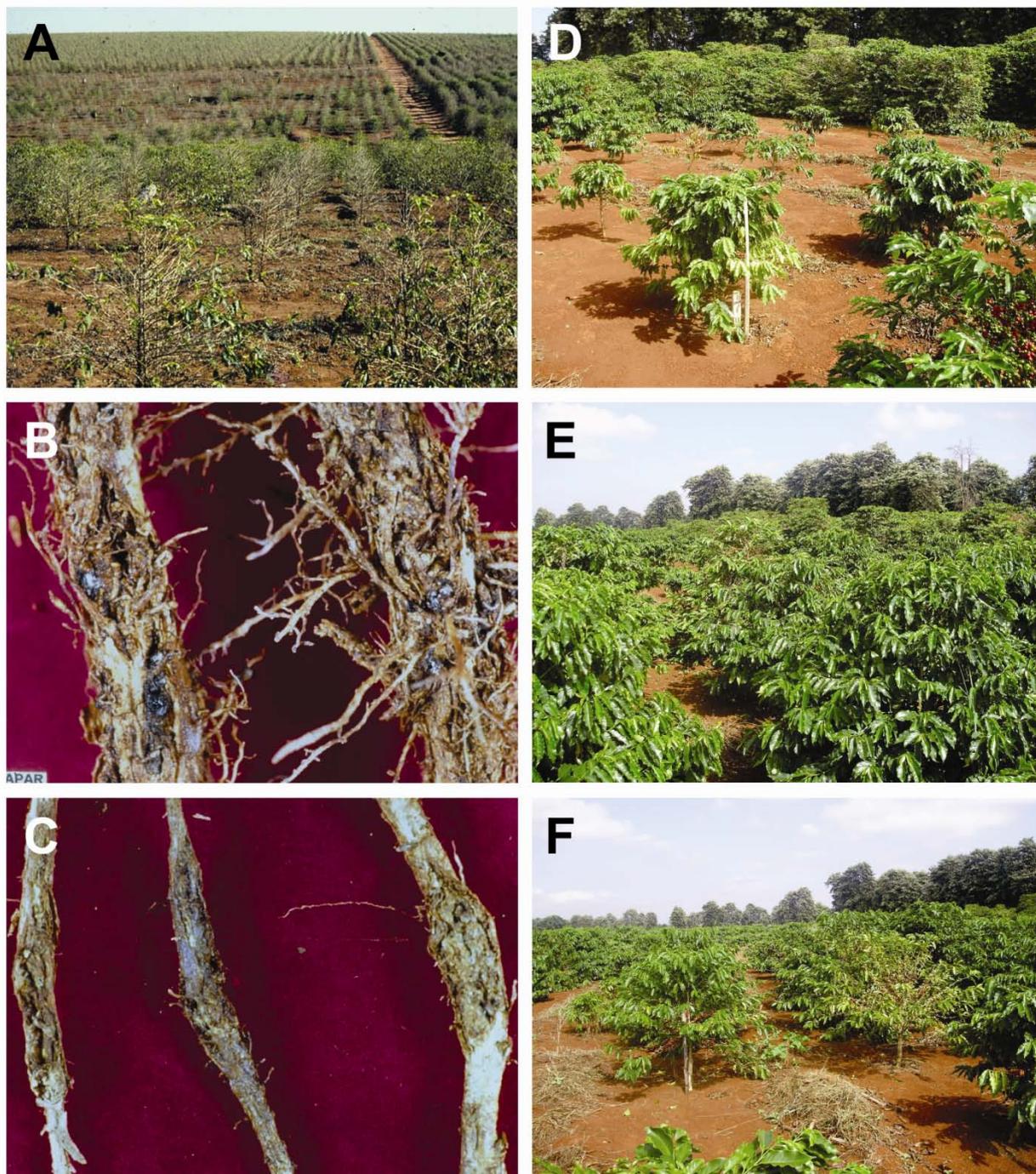


Figura 6. Cafeeiros plantados em área infestada por *Meloidogyne paranaensis*. A: aspecto geral das plantas em Rolândia, PR antes do início do experimento; B, C: sintomas das raízes parasitadas pelo nematoide; D: sintomas do nematoide em cafeeiros suscetíveis cv. Iapar 59; E: aspecto geral de plantas resistentes de cv. Icatu; F: segregação para resistência ao nematoide em cafeeiros cv. Icatu.

Conclusões

- O manejo do solo com a sucessão de culturas (aveia preta, amendoim e mucuna cinza) foi eficiente para reduzir a população de *M. paranaensis* no solo, tanto no arenoso quanto no argiloso.
- O efeito de redução da população inicial do nematoide, alcançado com o manejo de solo, foi perdido durante o desenvolvimento dos cafeeiros.
- O efeito da resistência genética foi o principal fator de controle do nematoide.
- A variedade Iapar 59 foi suscetível a *M. paranaensis*.
- A variedade Icatu H4782-7-925 foi resistente a *M. paranaensis*, mas segregou para essa característica.
- A bactéria *Pasteuria penetrans* não exerceu controle algum nas condições do presente ensaio.

Agradecimentos

Agradecemos ao Consórcio Brasileiro do Café e ao CNPq pelo financiamento da presente pesquisa; e ao pesquisador Wallace Gonçalves, do IAC, pelo fornecimento das sementes de Icatu.

Referências

- ABIC. **Associação Brasileira da Indústria de Café**. Disponível em: http://abic.com.br/estat_exporta_ppaises.html. Acesso em 2007.
- ANDERSON, J. M.; PRESTON, J. F.; DICKSON, D. W.; HEWLETT, T. E.; WILLIAMS, N. H.; MARUNIAK, J. E. Phylogenetic analysis of *Pasteuria penetrans* by 16S rRNA gene cloning and sequencing. **Journal of Nematology**. 1999. v. 31, p. 319-325.
- BONETI, J. I.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**. 1987. v. 6, p. 553.
- CAMPOS, V. P.; VILLAIN, L. Nematode parasites of coffee and cocoa. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. 2 ed. Egham: CABI Bioscience, 2005. p. 529-580.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; CARNEIRO, R. G.; ABRANTES, I. M. O.; SANTOS, M. S. N. A.; ALMEIDA, M. R. A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Journal of Nematology**. 1996. v. 28, p. 177-189.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; NEVES, D. I.; MESQUITA, L. F. G. Influência de diferentes substratos na percolação de *Pasteuria penetrans* em mudas de cafeeiro. **Nematologia Brasileira**. 2003. v. 27, p. 215-218.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; TIGANO M. S.; LOPES JORGE C.; OLIVEIRA TEIXEIRA A. C.; CORDEIRO, M. C. Selection and polymorphism of *Pasteuria penetrans* isolates in relation to *Meloidogyne* spp. from coffee. **Nematology**. 2004. v. 6, p.47.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M. R. A.; GONÇALVES, W. Identificação e caracterização de *Meloidogyne* spp. em cafeeiro nos estados de São Paulo e Minas Gerais através do fenótipos das esterases e SCAR-PCR-Multiplex. **Nematologia Brasileira**. 2005. v. 29, p. 233-241.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; Mesquita, L. F. G.; Cirotto, P. A. S.; Mota, F. C.; Almeida, M. R. A.; Cordeiro, M. C. The effect of sandy soil, bacterium dose and time on the efficacy of *Pasteuria penetrans* to control *Meloidogyne incognita* race 1 on coffee. **Nematology**. 2007. v. 9, p. 845-852.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; COFCEWICZ E. T. The taxonomy of *Meloidogyne* spp. from coffee. In: Souza R. M. (ed.). **Plant parasitic nematodes of coffee**. New York: APS Press/Springer, 2008. p. 87-122.
- DaMATA, J. S.; SERA, T.; AZEVEDO, J. A. DE.; ALTEIA, M. Z.; COLOMBO, L. A.; RUBENS, S.; PETEK, M. R.; FADELLI, S. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, 2000, Poços de Caldas. Seleção para resistência ao nematoide *Meloidogyne paranaensis* EMN-95001: lapar LN 94066 de "Catuaí x Icatu" em área altamente infestada. **Resumos Expandidos...** Brasília: Embrapa Café, 2000. p. 515-518.

DaMATA, J. S.; SERA, T.; ALTÉIA, M. Z.; AZEVEDO, J. A.; FADELLI, S.; PETEK, M. R.; TRILLER, C.; SERA, G. H. Resistência de genótipos de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) de São Jorge do Patrocínio ao nematoide *Meloidogyne paranaensis*. **Scientific Journal**. 2002. v. 6, p. 34-36.

FREITAS, L.; CARNEIRO, R. M. D. G. Controle biológico de nematóides por *Pasteuria* spp. In: Itamar Soares de Mello; João Lúcio de Azevedo. (Org.). **Controle Biológico**. 1 ed. Jaguariuna: EMBRAPA, 1999. v. 2.

GONÇALVES, W.; FERRAZ, L. C. C. B. Resistência do cafeeiro a nematóides - II: testes de progênes e híbridos para *Meloidogyne incognita* raça 3. **Nematologia Brasileira**. 1987. v. 11, p. 125-142.

GONÇALVES, W.; FERRAZ, L. C. C. B.; LIMA, M. M. A. DE; SILVAROLLA, M. B. Patogenicidade de *Meloidogyne exigua* e *M. incognita* raça 1 a mudas de cafeeiros. **Bragantia**. 1996. v.55, p. 89-93.

GONÇALVES, W.; PEREIRA, A. A. Resistência do cafeeiro a nematoides IV – Reação de cafeeiros derivados do Híbrido de Timor a *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**. 1998. v. 22, p. 39-50.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M. B. Nematóides parasitos do cafeeiro. In: Zambolim, L. (Ed.). **Tecnologias de Produção de Café com Qualidade**. Viçosa: UFV, 2001. p. 199-267.

KRZYZANOWSKI, A. A.; FIGUEIREDO, R.; SANTIAGO, D. C.; FAVORETO, L. Levantamento de espécies e raças de *Meloidogyne* em cafeeiros no estado do Paraná. In: Rocha, A. N. da, Rufino, J. L. S.; Giusti, W. M. (Eds.). **Segundo Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil**. Vitória: EMBRAPA, 2001. p. 1175-1181.

LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A. AZUOLLI, L. C. Levantamento de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiros no estado de São Paulo. In: Rocha, A. N. da, Rufino, J. L. S. & Giusti, W. M. (Eds.). **Segundo Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil**. Vitória, Brasil: EMBRAPA, 2001. p. 1182-1187.

ROESE, A. D.; OLIVEIRA, R. D. Capacidade reprodutiva de *Meloidogyne paranaensis* em espécies de plantas daninhas. **Nematologia Brasileira**. São Paulo, 2004. v. 28, n. 2, p. 137-141.

ROBERTS, P. A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J. L.; COOK, R.; BRIDGE, J. (Eds.). **Plant resistance to parasitic nematodes**. Wallingford: CABI, 2002. p. 23-42.

SERA, T.; ALTÉIA, M. Z.; PETEK, M. R.; DaMATA J. S. Novas cultivares para o modelo IAPAR de café adensado para o Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIIRAS. 28. 2002, Caxambu. **Trabalhos Apresentados**. Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFÉ, 2002. p. 432-434.

SERA, T.; DaMATA, J. S.; ITO, D. S.; DOI, D. S.; SERA, G. H.; AZEVEDO, J. A. de; COTARELLI, V. M. Identificação de cafeeiros resistentes aos nematóides *Meloidogyne paranaensis* e *M. incognita* raças 2 e 1 em populações de Icatu (*Coffea arabica*). **Scientific Journal**. 2004, v. 8, p. 20.

STIRLING, G. R.; WATCHEL M. G. Mass production os *Pasteuria penetrans* for the biological control of root-knot nematodes. **Nematology**. 1980. v. 26, p. 308-312.

STIRLING, G. R. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penetrans*. **Phytopathology**. 1984. v. 74, p. 55-60.

STURHAN, D. Untersuchungen über verbreitung und wirte dês nematodenparasiten *Bacillus penetrans*. **Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land-und Forstwirtschaft**. 1985. v. 226, p. 75-93.



***Recursos Genéticos e
Biotecnologia***