

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Avaliação da capacidade reprodutiva de populações de *Pratylenchus* spp.
frente a diferentes espécies vegetais**

Mauro Ferreira Bonfim Junior

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2009**

Mauro Ferreira Bonfim Junior
Engenheiro Agrônomo

Avaliação da capacidade reprodutiva de populações de *Pratylenchus* spp. frente a diferentes espécies vegetais

Orientador:
Prof. Dr. **MÁRIO MASSAYUKI INOMOTO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestre em Ciências . Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2009**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Bonfim Junior, Mauro Ferreira

Avaliação da capacidade reprodutiva de populações de *Pratylenchus* spp. frente a diferentes espécies vegetais / Mauro Ferreira Bonfim Junior. - - Piracicaba, 2009.
60 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2009.
Bibliografia.

1. Banana 2. Café 3. Feijão - Resistência 4. Frutas cítricas 5. Nematoides parasitos de plantas - Reprodução 6. Plantas hospedeiras 7. Porta-enxertos 8. Sorgo I. Título

CDD 632.6513
B713a

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

"Todo ser humano precisa saber que a maior felicidade que se pode sentir na vida é aquela que a gente saboreia quando consegue, verdadeiramente, fazer a felicidade de alguém."

Mokiti Okada

Aos meus pais, Mauro Ferreira Bonfim e Rosa Maria Santiago Lima Bonfim, e minhas avós, Iracy Sobral Ferreira e Conceição Vicencia Santiago da Silva (in memorian), pelo incentivo e educação;

Aos meus irmãos Uillian Ferreira Bonfim Neto e Leandro Ferreira Bonfim;

À minha tia Mirtes Bonfim Santos

Com amor

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À **Deus** pela minha saúde

À **Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ)**

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq** pela concessão de bolsa de estudos

Ao **Prof. Dr. Mário Massayuki Inomoto** pela orientação, paciência, confiança e amizade

Aos funcionários e professores da Fitopatologia, em especial ao **Prof. Dr. Luiz Carlos Camargo Barbosa Ferraz** pelos conhecimentos transmitidos

Ao pesquisador do Instituto Biológico e amigo, **Dr. Cláudio Marcelo Gonçalves de Oliveira**, pelo inestimável apoio e conselhos concedidos

Aos professores da Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), em especial à **Prof. Dra. Helena Guglielmi Montano**, ao **Prof. Dr. João Pedro Pimentel** e ao **Prof. Dr. Jadier de Oliveira Cunha Junior** pelo grande incentivo

Às amigas eternas da graduação **Monique da Silva Soares**, **Niday Alline Nunes Fernandes** e **Roberta da Cruz Pereira** pelo apoio incondicional e bons momentos compartilhados

Aos grandes amigos **Rafael M. P. Leal, Jerônimo V. de Araújo Filho, Fernando da Silva Rodrigues, Sônia R. Antedomênico, Andressa Cristina Z. Machado, Melissa D. Tomazini, Dárcio C. Borges e Joaquim Dias** pela agradável convivência e ajuda quando necessário

Aos colegas da nematologia: **Kércia Maria S. de Siqueira, Rosângela A. da Silva, Odila Lourenço, Rosana Bessi, Roberto K. Kubo e o Prof. Ailton Rocha Monteiro**

Aos colegas da pós-graduação, em especial, **Daniela Flôres e Wagner Vicente Pereira.**

Ao Engenheiro Agrônomo **Rafael Bordignon** (Citrograf) pela concessão das mudas de citros

À pesquisadora **Dra. Vânia Moda Cirino** (IAPAR) pela concessão das sementes de feijão

Aos professores e colegas do prédio da Zoologia, em especial à **Vera, José Luiz, Lázaro, Josenilton e Daniela.**

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação e da Biblioteca pelos serviços prestados

A todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho

SUMÁRIO

RESUMO	11
ABSTRACT	13
LISTA DE TABELAS	15
1 INTRODUÇÃO.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
2.1 <i>Pratylenchus coffeae</i> : principal representante do gênero atacando café, banana e citros	19
2.2 Estudos com populações de <i>Pratylenchus coffeae</i>	21
2.3 Importância de <i>Pratylenchus jaehni</i> no Brasil	23
REFERÊNCIAS	26
3 RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO COMUM À POPULAÇÃO K ₅ DE <i>Pratylenchus jaehni</i>	32
Resumo	32
Abstract	33
3.1 Introdução	34
3.2 Material e Métodos	35
3.2.1 Obtenção e preparo dos inóculos	35
3.2.2 Localização	35
3.2.3 Terminologias	36
3.2.4 Experimento 1	36
3.2.5 Experimento 2	37
3.3 Resultados e Discussão	38
3.4 Conclusão	41
Referências	41
4 REAÇÃO DE DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS À QUATRO POPULAÇÕES DE <i>Pratylenchus</i> spp.	44
Resumo	44
Abstract	45
4.1 Introdução	46
4.2 Material e Métodos	48

4.2.1 Obtenção e preparo dos inóculos	48
4.2.2 Localização	48
4.2.3 Terminologias	49
4.2.4 Experimentos 1. Reação de porta-enxertos cítricos à <i>P. jaehni</i> (K ₅)	49
4.2.5 Experimento 2. Hospedabilidade de diferentes espécies vegetais à quatro populações de <i>Pratylenchus</i> spp.	50
4.2.6 Análise estatística	52
4.3 Resultados e Discussão	52
4.3.1 Experimento 1. Reação de porta-enxertos cítricos à <i>P. jaehni</i> (K ₅)	52
4.3.2 Experimento 2. Hospedabilidade de diferentes espécies vegetais à quatro populações de <i>Pratylenchus</i> spp.	54
4.4 Conclusões	57
Referências	58

RESUMO

Avaliação da capacidade reprodutiva de populações de *Pratylenchus* spp. frente a diferentes espécies vegetais

Os nematoides que atualmente tem sido classificados como *P. coffeae*, demonstram ampla variabilidade morfológica, molecular e quanto à reação à diferentes hospedeiros. Por conseguinte, é essencial que se identifique corretamente as espécies e que se conheça a capacidade de parasitismo em alguns hospedeiros, para que se possa estabelecer medidas de controle e estimar eventuais riscos da entrada de um patógeno em uma área com hospedeiro suscetível. Neste sentido, a presente pesquisa propõe, numa primeira parte, uma medida de controle de *P. jaehni* (K₅), que é muito agressivo à cafeeiro arábico, baseada no uso de plantas má hospedeiras. Na segunda parte deste trabalho é realizada uma caracterização da reação de diferentes espécies vegetais à quatro populações de *Pratylenchus* spp. Em virtude do exposto, este estudo objetivou avaliar a reação de diferentes cultivares de feijoeiro comum frente à *P. jaehni* (K₅), visando seu possível uso no manejo de áreas cafeeiras infestadas e caracterizar a reação de diferentes espécies vegetais de importância econômica (café, porta-enxertos cítricos, banana e sorgo) frente à quatro populações de *Pratylenchus* spp. As populações iniciais utilizadas nos experimentos variaram entre 180 e 200 nematóides. Em todos os experimentos, os nematóides foram extraídos das raízes pelo método de Coolen e D'Herde (1972) e, eventualmente, do substrato pelo método de Jenkins (1964). Foram realizados três ensaios: i) o primeiro com feijoeiro comum, onde todas as cultivares utilizadas foram resistentes à *P. jaehni* (K₅), inclusive na réplica; ii) o segundo com porta-enxertos cítricos, no qual somente o limão-cravo foi hospedeiro de *P. jaehni* (K₅); iii) o terceiro, no qual foi utilizado café, limão-cravo, banana e sorgo para o conhecimento das respectivas reações frente à 4 populações de *Pratylenchus* spp. Neste último experimento ocorreu uma reação hospedeira diferenciada para cada população. De acordo com os resultados, concluiu-se que as cultivares de feijoeiro comum utilizadas apresentam potencial de uso em áreas cafeeiras infestadas por *P. jaehni* (K₅), em consórcio ou em áreas de renovação de cafezal, e que as populações de *Pratylenchus* spp. são capazes de se reproduzir de forma diferenciada frente às espécies vegetais testadas.

Palavras-chave: Resistência; *Pratylenchus* spp.; Capacidade reprodutiva

ABSTRACT

Reproductive fitness of *Pratylenchus* spp. populations in different plant species

Nematode populations that have been classified as *P. coffeae* show wide morphological, molecular and host range variability. Therefore, is essential the correct identification of the species and the knowledge about its parasitism capacity on some hosts, to ensure appropriate control measures and to estimate the entry risks of a pathogen in an area with susceptible host. In this sense, the present research report, firstly, propose a control measure of *P. jaehni* (K₅), which is very aggressive to the arabic coffee, based on the use of poor host plants. In the second part, was carried out a host status evaluation of different plant species to four populations of *Pratylenchus* spp. In this context, were evaluated the reaction of different common bean cultivars to *P. jaehni* (K₅), for its possible use in management of coffee areas infested with this nematode, and characterized the response of different economic important plant species (coffee, citrus rootstocks, banana and sorghum) to four populations of *Pratylenchus* spp (IB01P, IB02P, K₅ e C₁). The initial population used in experiments ranged between 180 and 200 nematodes. In all experiments, nematodes were extracted from roots by Coolen e D'Herde's method (1972) and eventually from the substrate by Jenkins' method (1964). Three assays were conducted and results was as following: i) in the first one, with common bean, all tested cultivars were resistant to *P. jaehni* (K₅), including the replica; ii) in the second one, with rootstocks, only rangpur lime was a good host of *P. jaehni* (K₅); iii) in the third one, in which was used coffee, rangpur lime, banana and grain sorghum, was observed a differential host reaction for each nematode population evaluated. According to the present results, we suggest that common bean cultivars tested have great potential for use, or in intercropping or in crop rotation, in coffee areas infested by *P. jaehni* (K₅) and populations of *Pratylenchus* spp. have different reproductive fitness in the plants species tested.

Keywords: Resistance; *Pratylenchus* spp.; Reproductive fitness

LISTA DE TABELAS

- Tabela 3.1 – Informações sobre as cultivares de feijoeiro comum utilizadas nos experimentos 1 e 237
- Tabela 3.2 – Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus jaehni* (K₅) em cultivares de feijoeiro comum, número de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g) e população final (Pf=substrato+raízes) aos 64 dias após a inoculação.....40
- Tabela 3.3 – Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus jaehni* (K₅) em cultivares de feijoeiro comum, número de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g) e população final (Pf de raízes) aos 64 dias após a inoculação.....40
- Tabela 4.1 – Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus jaehni* (K₅) em porta-enxertos cítricos e número de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g) aos 120 e 245 dias após a inoculação52
- Tabela 4.2 – Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus* spp. em diferentes espécies vegetais e número de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g) aos 180 dias após a inoculação54

1 INTRODUÇÃO

A cultura do cafeeiro é responsável por uma produção de milhões de sacas de 60 quilos de café no Brasil. A previsão de colheita para a safra 2009, indica que o Brasil irá colher 39 milhões de sacas de 60 quilos de café beneficiado, em área total de 2.102.106 hectares. Os principais estados produtores são Minas Gerais (47,62% da área total), Espírito Santo (23,61%) e São Paulo (8,66%) (CONAB, 2009). O cafeeiro é afetado por diversos patógenos, dentre os quais se destacam os nematoides, principalmente os do gênero *Pratylenchus* e *Meloidogyne*. Para o controle desses parasitas em cafezais é desejável o uso de genótipos de cafeeiros resistentes, contudo, em áreas infestadas, outras medidas para a redução da população do nematoide podem ser utilizadas. É sabido que o uso de culturas má hospedeiras ou não hospedeiras se presta para tal finalidade. Além disso, restos vegetais destas espécies podem favorecer o aumento populacional de microrganismos antagonistas a nematoides.

A citricultura também figura como uma das mais importantes atividades agrícolas do país. Atualmente, a cultura supre as necessidades da demanda interna e uma fatia considerável do mercado externo, principalmente na forma de suco concentrado de laranja. Por conseguinte, a preocupação no que diz respeito a ocorrência de pragas e doenças nos pomares é altamente justificável. Dentre as doenças que afetam a cultura, dois nematoides se destacam. O nematoide dos citros, *Tylenchulus semipenetrans* Cobb, 1914, é mundialmente distribuído, já o nematoide das lesões dos citros, *Pratylenchus jaehni* Inserra et al., 2001, embora de ocorrência restrita aos pomares paulistas, tem sido considerado de grande importância pelos danos causados em plantas cítricas enxertadas em limoeiro cravo.

A cultura da banana é explorada tanto como fonte de renda como para subsistência. No primeiro caso, apresenta vendas de aproximadamente US\$ 2,5 bilhões (PLOETZ, 2001), valor que representa apenas 10 % do que é cultivado (BROOKS, 2004). Os principais produtores estão situados nas regiões tropicais da Ásia, Américas e África (GOWEN et al., 2005). Os problemas nematológicos em banana são causas de danos e perdas para a cultura. *R. similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 e *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev e Schuurmans Stekhoven, 1941, são os nematoides mais daninhos nas regiões produtoras em que ocorrem.

O sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] é uma cultura que vem sendo cultivada para utilização na alimentação animal em ingredientes de rações, silagem, pastejo direto, picado verde,

feno e preparo de rações (JAYME et al., 2007). A cultura tem grande importância em regiões de baixa precipitação pluviométrica, pois podem ser utilizadas em substituição à cultura do milho (GONTIJO et al., 2008).

Em geral, gramíneas são boas hospedeiras de nematoides do gênero *Pratylenchus*. O híbrido 'Sara' de *S. bicolor*, tem sido relatado como suscetível a população K₅ de *P. coffeae*, recentemente renomeada para a espécie *P. jaehni* (OLIVEIRA; KUBO; HARAKAVA, 2009). Dessa maneira, tal planta pode ser utilizada como padrão de suscetibilidade em experimentos com o nematoide.

Os nematoides que atualmente tem sido classificados como *P. coffeae*, demonstram ampla variabilidade morfológica, molecular e quanto à reação à diferentes hospedeiros. Isto é um indício da ocorrência de um complexo de espécies dentro do grupo. Por conseguinte, é essencial que se identifique corretamente as espécies e que se conheça a capacidade de parasitismo em alguns hospedeiros, para que se possa estabelecer medidas de controle e estimar eventuais riscos da entrada de um patógeno em uma área com hospedeiro suscetível. Neste sentido, a presente pesquisa propõe, numa primeira parte, uma medida de controle de *P. jaehni* (K₅), que é muito agressivo à cafeeiro arábico, baseada no uso de plantas más hospedeiras. Na segunda parte deste trabalho é realizada uma caracterização da reação de diferentes espécies vegetais à quatro populações de *Pratylenchus* spp.

Em virtude do exposto, este estudo teve os seguintes objetivos:

Avaliar a reação de diferentes cultivares de feijoeiro comum frente à *P. jaehni* (K₅), visando seu possível uso no manejo de áreas cafeeiras infestadas.

Avaliar a reação de diferentes espécies de importância econômica (café, porta-enxertos cítricos, banana e sorgo) frente à quatro populações de *Pratylenchus* spp.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 *Pratylenchus coffeae*: principal representante do gênero atacando café, banana e citros

Nas Américas, *P. coffeae* é considerado patógeno importante do cafeeiro. Em estudos de patogenicidade, Salas e Echani (1961) perceberam sistema radicular pobre e menor desenvolvimento da parte aérea de plantas infestadas pelo parasito. Em Cuba, Sampedro et al. 1989 observaram que *P. coffeae* é a espécie de *Pratylenchus* predominante, ocorrendo em densidades populacionais moderadamente altas em 18,9% de todas as propriedades de café amostradas em um estudo.

Monteiro e Lordello (1974) relataram pela primeira vez o nematoide no Brasil. Os autores observaram sintomas de deficiências de minerais, sistema radicular muito pobre e desenvolvimento muito atrasado em cafeeiros infestados (LORDELLO,1988).

Moura; Pedrosa e Prado (2002) relataram a ocorrência do nematoide em mudas de cafeeiro arábico (*Coffea arabica* L.) com um ano e meio de idade em Barra de Guabiraba no estado de Pernambuco. Foram observadas lesões na região do colo e no córtex radicular, ocorrendo morte de 70% do plantio, após amarelecimento e queda de folhas.

Kubo et al. (2004), em trabalho objetivando estudar a ocorrência de espécies de *Pratylenchus* em cafezais no estado de São Paulo, observaram que *P. coffeae* ocorreu em 4 de um total de 44 municípios e que a sua densidade populacional e os danos causados eram maiores quando comparados com *P. brachyurus* (Godfrey, 1929) Filipjev e S. Stekhoven, 1941. Já em Minas Gerais, Castro et al. (2008) relataram a ocorrência de *P. coffeae* em apenas 1 de 66 municípios cafeeiros do sul de Minas Gerais.

Em citros, *Pratylenchus* spp. há tempos tem sido considerado nematoide de relevante importância. Na Flórida, o primeiro registro de associação do gênero com plantas cítricas aconteceu em 1953. Estudos posteriores revelaram que *P. coffeae* era a espécie de nematoide responsável pela condição chamada de 'citrus slump' ou 'declínio dos citros', pois o nematoide foi encontrado associado com sistema radicular fraco e danificado, podendo reduzir o peso das raízes de mudas de citros infectadas em até 47% (MACGOWAN, 1978). Em Taiwan, pomares de citros em declínio já foram encontrados altamente infestados com *P. coffeae*, sendo, posteriormente provado, em casa de vegetação, que a espécie foi a responsável pelo declínio das

árvores no país (HUANG; CHANG, 1976). Severos danos em citros também já foram observados em algumas regiões produtoras do Japão (YOKOO; IKEGEMI, 1966; O'BANNON; Tomerlin, 1973) e na Índia. Neste último país, foi descoberto que a podridão radicular das raízes de citros era causada por *P. coffeae*. Os autores descreveram ainda como sintomas, nanismo, 'morte dos ponteiros' e frutos com tamanho reduzido (SIDDIQUI, 1964; O'BANNON; TOMERLIN, 1973). A patogenicidade de *P. coffeae* em *Citrus jambhiri* Lush foi comprovada em casa de vegetação na Flórida pela redução de 22% no crescimento após 1 ano (O'BANNON; TOMERLIN, 1969).

Por ser endoparasita migrador, o nematoide destrói as células das raízes, promovendo a redução do vigor das árvores e um sério declínio das plantas (RADEWALD; O'BANNON; TOMERLIN, 1971). Tal comportamento do parasita é bem mais prejudicial ao crescimento do hospedeiro, quando comparado com *T. semipenetrans*, pois este nematoide é um semi-endoparasita sedentário que apesar de alterar a fisiologia da raiz, não induz necrose radicular (SCHNEIDER; BAINES, 1964; KAPLAN; TIMER, 1982).

P. coffeae é considerada o principal patógeno de bananas em locais onde ocorre, causando danos muito similares aos provocados por *R. similis*, outro importante nematoide parasito de banana (BRIDGE; FOGAIN; SPEIJER, 1997). Entretanto, *P. coffeae* pode ser negligenciada ou confundida quando ocorre em mistura com *R. similis* (GOWEN, 2000; VAN DEN BERGH et al., 2006).

No Brasil há relatos da presença do nematoide associados à bananeira em alguns municípios produtores do estado do Ceará (ZEM et al. 1980), sendo que o primeiro relato no estado foi realizado por Almeida et al. (1978) em *Musa cavendishii*.

O parasito é bastante importante em regiões do sudeste da Ásia, sendo a principal espécie de nematoide que afeta 'Pisang Awak' (*Musa* ABB) na Tailândia, enquanto que na América Central, especificamente em Honduras, é a mais importante espécie que afeta banana 'Cavendish' (*Musa* AAA). Na África, *P. coffeae*, é bastante disseminado e importante na África do Sul e em Gana, onde já foi relatado causando perdas acima de 60% da produção em cultivo de banana da terra (*Musa* AAB) (BRIDGE; FOGAIN; SPEIJER, 1997). É muito provável que a disseminação do nematoide no mundo tenha sido feita através do uso de material propagativo infectado (BRIDGE; FOGAIN; SPEIJER, 1997). Evidenciando dessa maneira o quão importante são as medidas de controle baseadas na exclusão para a cultura.

Van den Bergh et al. (2006), em trabalho realizado para verificar a influência de *P. coffeae* no crescimento e produção de genótipos de *Musa* spp. no Vietnã não observaram redução de crescimento, no entanto, o peso dos cachos em três das cinco cultivares testadas foi reduzido, com as perdas de peso variando entre 13% e 20%, sendo que na cultivar ‘Grand Naine’, ocorreu uma redução adicional de 34% do número de bananas por cacho, evidenciando o grande dano que o nematoide causa a esta cultivar. Em trabalho realizado por Quénéhervé et al. (2009) (a), foi observado que os acessos cultivados e selvagens de *Musa* spp. testados foram todos suscetíveis à *P. coffeae*, demonstrando o quanto é difícil controlar o nematoide na cultura por meio de obtenção de resistência.

Uma seleção de híbridos de banana, resistentes a Sigatoka amarela e negra, foi realizada frente à *R. similis* e *P. coffeae* por Quénéhervé et al. (2009) (b). Todos os híbridos e os acessos utilizados como padrão de resistência (*Musa* AAA cultivar ‘Yangambi Km5’, Ibota subgroup, ITC1123) e suscetibilidade (*Musa* AAA cultivar ‘Grand Naine’, subgrupo Cavendish, ITC1256 e cv902), foram hospedeiros de *P. coffeae*, contudo, apresentaram níveis diferentes de suscetibilidade. Os acessos do cultivar ‘Grand Naine’ foram os que apresentaram maiores fatores de reprodução.

Esta cultivar é considerada uma das mais importantes, pelo seu amplo cultivo visando produção de bananas para sobremesa. No Brasil, a sua produção destina-se tanto para exportação quanto para o mercado interno (SILVA, 2009).

Em Cuba *P. coffeae* é considerado um problema sério em banana da terra, pois altas densidades do nematoide causam tombamento de plantas e limitam a produção da cultura (FÉRNANDEZ; ORTEGA, 1998).

2.2 Estudos com populações de *Pratylenchus coffeae*

Estudos com diferentes populações de *P. coffeae* tiveram início em meados da década de 90. Populações provenientes de diferentes hospedeiros como limão-cravo (*Citrus limonia* Osbeck), cafeeiro arábico, *Dioscorea rotundata* Poir., *Colocasia esculenta* L. e *Diffenbachia* sp., tem sido estudadas.

No ano de 1995 foi detectado em amostras de solo e raízes de laranjeira enxertada sobre limoeiro cravo, proveniente de pomares de citros, espécimes de *Pratylenchus* sp. e *T.*

semipenetrans. Na época, de acordo com o conhecimento científico corrente dos pesquisadores, a população do nematoide foi identificada como sendo da espécie *P. coffeae*. Uma amostra de tal população putativa de *P. coffeae*, foi coletada no município de Itápolis-SP (C₁) por nematologistas da Flórida, com a finalidade de compará-las com outras da espécie (SANTOS; GONZAGA; CAMPOS; CALZAVARA, 2005). Além de C₁, os pesquisadores coletaram mais duas populações provenientes de citros (C₂ e C₇), uma de inhame (Y₂), uma de *Colocasia esculenta* (M₁), uma de *Diffenbachia* (M₂) e outra proveniente de cafeeiro árabe (K₅) originário da cidade de Marília-SP. Segundo Duncan et al. (1999), os isolados K₅, C₁ e C₂ foram similares entre si e distintos de todos os outros isolados nos estudos morfológicos. A análise da sequência de DNA da região D2/D3 dos isolados C₁ e C₂ revelaram semelhanças entre si e diferenças com relação a dez isolados identificados com *P. coffeae sensu* Sher e Allen. Devido a tais fatos, esses autores sugeriram que K₅, C₁ e C₂ parecem fazer parte de uma espécie biológica não descrita ou um complexo de espécies.

Tomazini et al.(2003) realizaram testes com genótipos de cafeeiro árabe frente a população K₅ e M₂. Ao se comparar as duas populações foi observado que o isolado M₂ pode ser considerado menos agressivo ao cafeeiro. Apesar de haver um decréscimo populacional, foi relatado no mesmo trabalho, que a inoculação de níveis crescentes de inóculo reduziu linearmente o crescimento das plantas com dois pares de folhas, fato que não ocorreu com plantas de cafeeiro árabe que possuíam seis pares de folhas.

Com relação às populações C₁ e C₂, a hipótese levantada por Duncan et al. (1999) de que as mesmas poderiam ser uma espécie biológica não descrita foi confirmada por Inserra et al.(2001). Neste trabalho, os autores relataram os resultados de estudos morfológicos de sete populações, provenientes de várias culturas na América tropical e subtropical, além de café em Java (K₆), uma população de *P. loosi* Loof, 1960, proveniente de uma espécie utilizada para chá, do Sri Lanka, e as populações brasileiras do nematoide das lesões C₁ e C₂. O isolado K₆ foi utilizado como padrão da espécie *P. coffeae* para comparação com as outras populações de *Pratylenchus* utilizadas no estudo. Foi observado que as sete populações americanas utilizadas e o isolado K₆, que possuem características morfológicas que concordam com a descrição original e a redescricao de *P. coffeae*, variam entre si, no que diz respeito ao comprimento do corpo e o comprimento do saco pós-uterino. Os autores atribuíram esta variação a possíveis mudanças na concentração de amido, presente nas raízes dos hospedeiros, como notado em populações do

nematoide em citros na Flórida (DUNCAN; INSERRA; DUNN, 1998). Todavia, houve consistência nos valores médios dos parâmetros morfométricos de valores diagnósticos, como comprimento do estilete e posição da vulva (INSERRA et al., 2001). Adicionalmente, Duncan et al. (1999), demonstraram que há congruência entre a região D2/D3 do DNA de C₁ e C₂. Inserra et al. (2001), ainda avaliaram a capacidade de as populações brasileiras de citros e café, se acasalarem entre si e entre a população padrão K₆. Com estes estudos, concluiu-se que C₁ e C₂ bem como C₁ e K₅, são sexualmente compatíveis, pois geraram descendência, reforçando o fato de que tais populações são estreitamente relacionadas. Entretanto, não foi obtida nenhuma progênie quando as populações brasileiras foram colocadas em contato com *P. coffeae* (K₆). Além disso, pôde ser concluído no trabalho, baseado nas características morfométricas, morfológicas e na capacidade de realizar acasalamentos, que as populações C₁ e C₂, pertencem a uma nova espécie denominada *P. jaehni*. Fato este, que tem o suporte da análise do DNA das duas populações, realizado por Duncan et al. (1999), onde foi demonstrada alta similaridade do DNA.

A ocorrência de descendentes provenientes do cruzamento entre K₅ e C₁ reforçaria a hipótese de que tais populações poderiam pertencer à mesma espécie, no entanto, estudos posteriores revelaram diferenças quanto ao ‘reproductive fitness’ ou ‘capacidade reprodutiva’ desses nematoides em alguns hospedeiros, sugerindo haver diferenças entre ambos. A principal diferença relatada na literatura entre os isolados é que cafeeiro arábico é bom hospedeiro de K₅ e mau hospedeiro para C₁ e C₂ (SILVA; INOMOTO, 2002).

2.3 Importância de *Pratylenchus jaehni* no Brasil

P. jaehni já foi relatado em pomares de citros em São Paulo, Minas Gerais e Paraná (CAMPOS; SANTOS, 2005). Campos (2002), em estudo objetivando realizar levantamento e observar a distribuição dos nematoides chaves dos citros no Estado de São Paulo mostraram que *P. jaehni* estava presente em 10 pomares de citros de 10 municípios paulistas e em sete viveiros à céu aberto de três municípios. Com relação a *T. semipenetrans* do total dos 595 viveiros amostrados, 202 (34%) estavam infestados pelo nematoide. Já em plantios comerciais, *T. semipenetrans* foi encontrado em aproximadamente 72% dos pomares infestados. Mesmo com a maior distribuição de *T. semipenetrans*, a presença de *P. jaehni* é bastante preocupante, pois os

sintomas observados em viveiros à céu aberto, segundo o autor, são atribuídos à *P. jaehni* ou a interação entre ambos.

A legislação vigente no estado de São Paulo proíbe a produção e comercialização de mudas em viveiros a céu aberto, necessitando, portanto, que todas as mudas de citros produzidas no estado sejam certificadas, obedecendo normas pré-estabelecidas, a partir do ano de 2003 (CARVALHO, 2003). Em outras regiões brasileiras, não existe tal obrigatoriedade. Por conseguinte, os produtores paulistas devem tomar precauções quanto a introdução de mudas de outros estados. No Brasil existem aproximadamente 1,5 mil viveiros, dos quais apenas 150 são telados, sendo que nem todos atendem as normas de segurança (FACIO, 2008). Em vista disso, o problema da produção de mudas certificadas no Brasil deve ser prioritariamente resolvido, todavia, outras medidas de controle devem ser utilizadas para o manejo, em particular de nematoides, haja vista a ocorrência de novos plantios em áreas já infestadas.

P. jaehni tem se mostrado bastante prejudicial à pomares cítricos. Tersí; Santos e Maia (1995) relataram que no município de Itápolis, uma parte do pomar infestada pelo nematoide produziu cerca de três vezes menos que a não-infestada.

Calzavara (2007) descreveu e documentou sintomas, em campo, de *P. jaehni* em plantas de laranjeira 'Valência' enxertadas sobre limoeiro 'Cravo'. Os sintomas observados foram baixa densidade foliar, folhas menores, cloróticas, com menor brilho que folhas saudáveis, frutos em geral menores e plantas com tamanho reduzido. Nas raízes foram relatadas lesões típicas de *Pratylenchus*.

Existem porta-enxertos comerciais que exibem alta resistência ao nematoide (CALZAVARA; SANTOS; FAVORETO, 2007) entretanto, devido às boas características agrônomicas (CARLOS; STUCHI; DONADIO, 1997; SCHÄFER; BASTIANEL; DORNELLES, 2001) e tradição de cultivo de limoeiro 'Cravo', este é amplamente utilizado no Brasil.

Danos muito severos, em casa de vegetação, têm sido evidenciados no Brasil. Segundo Tomazini (2003), o isolado K₅ de *P. jaehni* é muito agressivo ao crescimento de cafeeiro arábico, causando severa redução no crescimento de plantas de diferentes idades, concordando com os resultados relatados por Kubo et al. (2003). Em Tomazini et al. (2005), comparou-se massa seca de parte aérea e massa fresca do sistema radicular de genótipos de *C. canephora* Pierre infestados e não infestados com *P. jaehni* (K₅) e *Meloidogyne incognita* (KOFOID; WHITE, 1919)

Chitwood 1949 raça 2. Para o nematoide das lesões radiculares, os autores verificaram que houve redução significativa das variáveis analisadas para as linhagens IAC 4804 e IAC 4810 de *C. canephora* 'Robusta', entretanto, para as linhagens IAC 4764 e IAC 4765 de *C. canephora* 'Konillou' não houve diferença significativa para a testemunha não inoculada. As linhagens de *C. canephora* 'Konillou' mostraram-se resistentes à *P. jaehni* (K₅), mas com a desvantagem de serem suscetíveis a *M. incognita* raça 2, espécie mais disseminada que *P. jaehni*. Já as linhagens de *C. canephora* 'Robusta' foram todas suscetíveis a *P. jaehni* (K₅), entretanto a linhagem IAC 4810 foi a única resistente a *M. incognita* raça 2. Em virtude da maior importância de *M. incognita*, a linhagem que possui maior potencial para uso no campo, dentre os genótipos testados, é a IAC 4810, contudo, ao se optar pelo referido genótipo, as precauções no que diz respeito ao controle da entrada de *P. jaehni* (K₅) no cafezal devem ser rigorosas, em razão dos danos causados pelo nematoide demonstrados em casa de vegetação.

Inomoto et al. (2004) relataram, em dois experimentos, que *P. jaehni* (K₅) é virulento a cafeeiro arábico 'Catuaí Vermelho', pois a sua alta reprodução resultou em reduções significativas de altura, massa seca de parte aérea e massa fresca do sistema radicular. Ao comparar o efeito de *M. incognita* sobre as mesmas variáveis, os autores concluíram que *P. jaehni* (K₅) é tão patogênico a cafeeiro arábico quanto *M. incognita*. Em trabalho para verificação de patogenicidade de duas populações de *Pratylenchus* sp. em cafeeiro arábico cultivar Mundo Novo e Catuaí, Inomoto et al. (2007), verificaram que ambas populações foram capazes de diminuir significativamente o crescimento das plantas. Dados evidenciados por Mazzafera; Kubo e Inomoto (2004), subsidiam os trabalhos de patogenicidade, por sugerirem que o dano direto de *P. jaehni* (K₅) nas raízes de mudas de *C. arabica* causam um rápido efeito negativo sobre a fixação de carbono e distribuição de fotoassimilados na planta.

Em geral, *C. canephora* é mais tolerante a condições adversas como seca e ataque de pragas, doenças e nematoides quando comparadas ao cafeeiro arábico (SIMON, 1999, TOMAZINI, 2003), por esse motivo, genótipos da espécie são amplamente utilizados em áreas que não são favoráveis ao cultivo de *C. arabica* (TOZANI; OLIVEIRA, 2006), seja como porta-enxerto (TOMAZINI et al., 2005) ou como pé franco.

O uso de plantas resistentes é considerado uma das mais desejadas formas de manejo de fitonematoides (ROBERTS, 2002). Dentro da espécie *C. canephora*, encontra-se plantas com tais

características, tanto para nematoides do gênero *Meloidogyne* (CARNEIRO, 1995) quanto para *P. jaehni* (K₅) (TOMAZINI et al., 2005).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R.T.; LANDIM, C.M.U.; CARATELLI, A. Ocorrência de *Pratylenchus coffeae* (Zimmermann, 1898) Filipjev & Schuurmans Stekhoven, 1941 em *Musa cavendishii* Lamb. No Estado do Ceará. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 3, p. 295-299, 1978.

BRIDGE, J.; FOGAIN, R. ; SPEIJER, P. **The root lesion nematodes of banana. Musa Pest** Montpellier, France: International Network for the Improvement of Banana and Plantain (INIBAP), 1997. 4 p.(Fact Sheet ,2.).

BROOKS, F.E. Plant parasitic nematodes of banana in American Samoa. **Nematropica**, Bradenton, v. 34, n. 1, p. 65-72, 2004.

CALZAVARA, A.S. **Descrição dos sintomas de laranjeiras infectadas por *Pratylenchus jaehni*, resistência de porta-enxertos, faixa de hospedeiros e desenvolvimento de plantas jovens inoculadas.** 2007. 52 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2007.

CALZAVARA, A.S.;SANTOS, J.M, FAVORETO, L. Resistência de porta-enxertos cítricos a *P. jaehni* (Nematoda:Pratylenchidae). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.31, n.1, p.7-11, 2007.

CAMPOS, A.S.; SANTOS J. M. Distribuição atual do nematoide das lesões radiculares dos citros (*Pratylenchus jaehni*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25., 2005, Piracicaba. **Resumos...** Piracicaba: SBN, 2005. p.70.

CAMPOS, A.S. **Distribuição de *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni* em citros, no Estado de São Paulo, e estudo morfométrico comparativo de populações anfimíticas de *Pratylenchus spp.*** 2002. 65 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2002.

CARLOS, E.F.; STUCHI, E.S.;DONADIO, L.C. **Porta-enxertos para a citricultura paulista** Jaboticabal : Funep, 1997. 47p. (Boletim citrícola, 1).

CARNEIRO, R.G. Reação de progênies de café Icatu a *Meloidogyne incognita* raça 2, em condições de campo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 19, n. 1, p. 53-59, 1995.

CARVALHO, S.A. Regulamentação atual da agência de defesa agropecuária para produção, estocagem, comércio, transporte e plantio de mudas cítricas no estado de São Paulo. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 24, p. 199-240, 2003.

CASTRO, J.M.C.; CAMPOS, V.P.; POZZA, E. A.; NAVES, R. L.; ANDRADE JÚNIOR, W. C.; DUTRA, M. R.; COIMBRA, J. L.; MAXIMINIANO, C.; J.R.C., SILVA. Levantamento de Fitonematoides em cafezais do sul de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, p. 56-64, 2008.

CONAB. Disponível

em:<<http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=73&NSN=1146>> Acesso em: 25 out 2009.

DUNCAN, L.W.; INSERRA, R.N.; DUNN, D. Seasonal changes in citrus fibrous roots starch concentration and body length of female *Pratylenchus coffeae*. **Nematropica**, Bradenton, v. 28, p. 263-266, 1998.

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**, Bradenton, v.29, n.1, p.61-80, 1999.

FACIO, S.L. O avanço na produção de mudas no Brasil. AGROFIT. Disponível em: <http://www.agrofit.com.br/portal/index.php?view=article&catid=53%3Acitros&id=122%3Ao-avanco-na-producao-de-mudas-no-brasil-&option=com_content&Itemid=18>. Acesso em: 21 out. 2008.

FÉRNANDEZ, M.; ORTEGA, J. An overview of nematological problems in Cuba. **Nematologica**, Leiden, v. 28, p. 151-164, 1998.

GONTIJO, M.H.R.; BORGES, A.L.C.; GONÇALVES, L.C.; RODRIGUES, J.A.S.; GOMES, S.P.; BORGES, I.; RODRIGUEZ, N.M.; CAMPOS, M.M. Potencial forrageiro de seis híbridos de sorgo com capim sudão. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.7, n.1, p. 33-43, 2008.

GOWEN, S.R.; QUÉNÉHERVÉ, P.; FOGAIN, R. Nematode parasites of bananas and plantains. In: LUC, M.; SIKORA, R.A; BRIDGE, J. (Ed.). 2nd ed. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. King's Lynn, UK: CABI Publishing, 2005. p.611-643.

GOWEN, S.R. Nematode pathogens: Root-lesion nematodes. In: JONES, D.R. (Ed.). **Diseases of banana, abacá and enset**. Singapore: CABI Publishing, 2000. p. 303-306.

HUANG, C.S.; CHANG, Y.C. Pathogenicity of *Pratylenchus coffeae* on sunki orange. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.60, p. 957-960, 1976.

INOMOTO, M.M.;BELUTI, D.B.; SIQUEIRA, K.M.S. ; KUBO, R.K. Efeito de *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne incognita* no crescimento do cafeeiro 'Catuaí Vermelho'. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.28 n.2, p.143-147, 2004.

INOMOTO, M.M.; KUBO, R.K.; SILVA, R.A.; OLIVEIRA, C.M.G.; TOMAZINI, M.D.; MAZZAFERA, P. Pathogenicity of two *Pratylenchus coffeae* populations from Brazil on coffee plants. **Nematology**, Leiden, v.9, n.6, p.853-858, 2007.

INSERRA, R.N. ; DUNCAN, L.W.; TROCOLI, A. ; dos SANTOS, J.M.; KAPLAN, D.; VOVLAS, N. *Pratylenchus jaehni* sp.n. from citrus in Brazil and its relationship with *P. coffeae* and *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae). **Nematology**, Leiden, v. 3, p. 653-665, 2001.

JAYME, D.G.; PIRES, D.A.A.; GUIMARÃES JÚNIOR, R.; GONÇALVES, L.C., RODRIGUES, J.A.S.; RODRIGUEZ, N.M.; BORGES, A.L.C.C.; BORGES, I.; SALIBA, E.O.S.; JAYME, C.G. Composição bromatológica e perfil de fermentação das silagens de cinco híbridos de capim sudão (*Sorghum bicolor* x *Sorghum sudanense*) **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.6, n.3, p. 351-363, 2007.

KAPLAN, D.T.; TIMMER, L.W. Effects of *Pratylenchus coffeae* - *Tylenchulus semipenetrans* interactions on Nematode population dynamics in citrus. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 14, p. 368-373, 1982.

KUBO, R.K.; OLIVEIRA, C.M.G.; ANTEDOMÊNICO, S.R., MONTEIRO, A.R.; FERRAZ, L.C.C.B.; INOMOTO, M.M. Ocorrência de nematoides do gênero *Pratylenchus* em cafezais do estado de São Paulo. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 28, n. 2, p. 159-165, 2004.

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**, Brasília, v.28, n.1, p.41-48, 2003.

LORDELLO, L.G.E. **Nematoídes das plantas cultivadas**. São Paulo: Nobel, 1988. 314 p.

MacGOWAN, J.B. **The lesion nematode, *Pratylenchus coffeae*, affecting citrus in Florida**. Gainesville: Florida Department of Agriculture and Consumer Service, Division of Plant Industry, 1978. 2p. (Nematology Circular, 37).

MAZZAFERA, P.; KUBO, R.K.; INOMOTO, M.M. . Carbon fixation and partitioning in coffee seedlings infested with *Pratylenchus coffeae*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 110, n. 8, p. 861-865, 2004.

MONTEIRO, A.R.; LORDELLO, L.G.E. Encontro do nematoíde *Pratylenchus coffeae* atacando cafeeiro em São Paulo. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 49, n.1, p. 164, 1974.

MOURA, R.M.; PEDROSA, E.M.R.; PRADO, M.D.C. Incidência de *Pratylenchus coffeae* causando severa nematose em cafeeiro no nordeste. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 649, 2002.

O'BANNON, J. H.; TOMERLIN, A.T. Population studies on two species of *Pratylenchus* on citrus. **Journal of Nematology**, St. Paul, v.1, p.299-300, 1969. (Abstract).

O'BANNON, J. H.; TOMERLIN, A. T. Citrus tree decline caused by *Pratylenchus coffeae*. **Journal of Nematology**, St. Paul, v.5, p.311-316, 1973.

PLOETZ, R.C. Black Sigatoka of banana. The Plant Health Instructor. On-line doi: 10.1094/**Proceedings of the Zoological Society**, 17., 1964, Calcutá. **Proceedings...** Calcutá, 2001.

QUÉNÉHERVÉ, P.; SALMON, F.; TOPART, P.; HORRY, J.P. Nematode resistance in bananas: screening results on some new *Mycosphaerella* resistant banana hybrids. **Euphytica**, Wageningen, v. 165, p. 137-143, 2009.

QUÉNÉHERVÉ, P.; VALETTE, C.; TOPART, P.; du MONTCEL, H.T.; SALMON, F. Nematode resistance in bananas: screening results on some wild and cultivated accessions of *Musa* spp. **Euphytica**, Wageningen, v. 165, p. 123-136, 2009.

RADEWALD, J.D.; O'BANNON, J.H.; TOMERLIN, A.T. Temperature effects on reproduction and pathogenicity of *Pratylenchus coffeae* and *P. brachyurus* and survival of *P. coffeae* in roots of *Citrus jambhiri*. **Journal of Nematology**, St. Paul, v. 3, p. 390-394, 1971.

ROBERTS, P.A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J.L., COOK, R.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant Resistance to Parasitic Nematodes**. CAB International, 2002. p.23-41.

SALAS, L.A.; ECHANI, E. Nemátodos parasitos de café na Costa Rica. **Café**, Costa Rica, v.3, p.214, 1961.

SAMPEDRO, J.; PEREZ, J.; FOWLER, V.; GANDARILLA, H.; ACOSTA, O.; LORENZO, E.; BESTERRECHEA, M.; GARCIA, I.; O'CONNOR, B.; FERNANDEZ, E. Nemátodos parasitos asociados al cultivo del cafeto en Cuba. **Ciencia y Técnica en la Agricultura. Protection de Plantas**, Havana, v. 12, p. 59-72, 1989.

SANTOS, J. M.; GONZAGA, V.; CAMPOS, A.S.; CALZAVARA, S.A. *Pratylenchus jaehni* (Nemata: Pratylenchidae): o nematóide das lesões radiculares dos citros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 25, 2005, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBN, 2005. p. 24-29.

SCHÄFER, G.; BASTIANEL, M.; DORNELLES, A.L.C. Porta-enxertos utilizados na citricultura. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.4, p.723-733, 2001.

SCHNEIDER, H.; BAINES, R.C. *Tylenchulus semipenetrans*, parasitism and injury to orange tree roots. **Phytopathology**, Lancaster, v. 54, p. 1202-1206, 1964.

SILVA, S.O. Cultivares de banana para exportação. EMBRAPA CNPAT. Disponível em: <http://www.ceinfo.cnpat.embrapa.br/arquivos/artigo_2899.pdf> Acesso em 19 out. 2009.

SILVA, R.A.; INOMOTO, M.M. Host-range characterization of two *Pratylenchus coffeae* isolates from Brazil. **Journal of Nematology**, Riverside, v.34, n.2, p.135-139, 2002.

SIMON, M.T. Melhoramento genético em café. In: ENCONTRO SOBRE PRODUÇÃO DE CAFÉ COM QUALIDADE, 1., 1999. Viçosa. **Anais...** Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 1999. 259p.

TERSI, F.E.A.; SANTOS, J.M. dos; MAIA, A.S. *Pratylenchus coffeae* e *Tylenchulus semipenetrans* causam redução de produtividade de citros em São Paulo, Brasil. **Nematropica**, Bradenton, v.25, p.106, 1995.

TOMAZINI, M.D. *Pratylenchus coffeae* em cafeeiros: Efeito de densidades populacionais do nematoide e testes com genótipos. 2003. 41 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

TOMAZINI, M.D.; SILVA, R.A.; OLIVEIRA, C.MG.; GONÇALVES, W.; FERRAZ, L.C.C.B.; INOMOTO, M.M. Resistência de genótipos de cafeeiros a *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne incógnita*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, n. 2, p. 193-198, 2005.

TOZANI, R.; OLIVEIRA, N.G. **Café Rural**: noções da cultura. Seropédica: UFRRJ, 2006. 232p.

VAN den BERGH, I.; NGUYET, D.T.M.; TUYET, N.T.; NHI, H. H.; de WAELE, D. Influence of *Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne* spp. on plant growth and yield of banana (*Musa* spp.) in Vietnam. **Nematology**, Leiden, v. 8, p. 265-271, 2006.

YOKOO, T.; YKEGEMI, Y. Some observations on growth of the new host plant, snapdragon (*Antirrhinum majus*) attacked by root lesion nematode, *Pratylenchus coffeae* and control effect of some nematicides. **Agricultural Bulletin**, Saga, v. 22, p. 83-92, 1966.

ZEM, A.C.; BARREIRA, J.G.; TEIXEIRA, L.S. Nematoides associados a bananeiras do estado do Ceará. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 4, p. 119-125, 1980.

3 RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE FEIJOEIRO COMUM À POPULAÇÃO K₅ DE *Pratylenchus jaehni*

Resumo

Uma população de *P. jaehni*, denominada K₅, encontrada em algumas regiões cafeeiras do estado de São Paulo, tem sido relatada como a mais virulenta a cafeeiro arábico. Levando-se em consideração evidências de resistência de feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) à referida população, objetivou-se caracterizar a reação de oito cultivares de feijoeiro-comum frente à *P. jaehni* (K₅), visando sua possível utilização no manejo do nematoide em áreas cafeeiras infestadas. Foram realizados dois experimentos, nos quais a população inicial foi de 200 espécimes/parcela. A avaliação foi realizada aos 64 e 60 dias para o experimento 1 e 2, respectivamente, utilizando-se as variáveis Fator de Reprodução [FR = população final/população inicial], nematoides/ g de raízes e População final. O nematoide não se multiplicou em nenhuma das cultivares de feijoeiro utilizadas em ambos experimentos. O FR variou de 0,17 (IAPAR 81) a 0,33 (IPR Siriri) no experimento 1 e de 0,10 (IPR Juriti) a 0,57 (IPR Siriri) no experimento 2. Tais resultados mostram que o feijoeiro-comum apresenta potencial para ser utilizado no manejo do nematoide das lesões radiculares em áreas cafeeiras infestadas, seja em consórcio ou em áreas de renovação de cafezal.

Palavras-chave: *Pratylenchus jaehni*; Resistência; Manejo

RESISTANCE OF COMMON BEAN CULTIVARS TO THE K₅ POPULATION OF *PRATYLENCHUS COFFEAE*

Abstract

A population of *P. jaehni*, named K₅, available in some coffee regions São Paulo state, has been reported as the most virulent of *Coffea arabica*. Taking into account evidence of resistance to common bean (*Phaseolus vulgaris*) to this population, this work aimed to characterize the reaction of eight cultivars of common bean to *P. coffeae* (K₅), for its use in the management of the nematode in coffee areas infested. Two experiments were made with an initial population of 200 specimens per pot. The evaluation was performed at 64 and 60 days for experiment 1 and 2, respectively, using the variables reproduction factor [RF = final population / initial population], nematodes / g of roots and final population. The nematode did not reproduce in any of the common bean cultivars used in the experiments. The RF ranged from 0.17 (IAPAR 81) to 0.33 (IPR Siriri) in experiment 1 and 0.10 (IPR Juriti) to 0.57 (IPR Siriri) in experiment 2. These results show that the common bean has potential for use in the management of root lesion nematode in coffee areas infested, or in intercropping or in crop rotation.

Keywords: *Pratylenchus jaehni*; Resistance; Management

3.1 Introdução

Em países em desenvolvimento, o feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.), pertencente à família FABACEAE, é fonte importante de proteínas para alimentação humana. Além da importância alimentar de algumas espécies pertencentes a esta família, existem outras vantagens. Diversas fabáceas anuais e perenes, têm sido utilizadas em consórcio com cafeeiros, tanto por pequenos quanto por médios produtores (PAULO et al., 2004), com o objetivo de manejar plantas daninhas, melhorar as condições físicas (IGUE, 1984; BERTONI; LOMBARDI-NETO, 1985), químicas e biológicas do solo (IGUE, 1984), controlar a erosão (LOMBARDI-NETO et al., 1976), além de proporcionar renda imediata ao cafeicultor, ajudando-o a reduzir os custos de formação da lavoura (CARVALHO et al., 2007).

Nas principais regiões cafeeiras do Brasil, o feijão é a cultura intercalar mais comum e tem despertado o interesse dos pesquisadores desde longa data (CARVALHO et al., 2008). Em muitos resultados de pesquisa sobre culturas intercalares no cafezal, constata-se que o feijão e o arroz constituem as culturas mais recomendadas (BEGAZO, 1984; MELLES et al., 1985, CARVALHO et al., 2008).

Algumas espécies de fitonematoides apresentam grande importância para a cultura do cafeeiro, seja pela sua ampla distribuição ou pelos danos causados à cultura. Dentre tais espécies, *P. jaehni* (OLIVEIRA; KUBO; HARAKAVA, 2009), se enquadra numa das mais daninhas à cultura, em especial, uma população altamente virulenta à cafeeiro arábico, denominada K₅ (DUNCAN et al. 1999). Desse modo, torna-se imprescindível o conhecimento da reação das espécies vegetais utilizadas em consórcio ou em áreas de renovação de cafezal, aos nematoides presentes em alta população na área. Segundo Silva et al. (2000), plantas não hospedeiras de *P. jaehni* utilizadas como cultura intercalar podem funcionar como possíveis métodos de controle do nematoide. Apesar disso, o uso de culturas com tal finalidade não tem sido realizado, sobretudo, devido à ausência de trabalhos relacionados à reprodução do nematoide nessas plantas.

É sabido que o feijoeiro comum é hospedeiro de algumas espécies do gênero *Pratylenchus*, porém, estudos relacionados a associação desses nematoides com essa planta no Brasil e no mundo são escassos (SIKORA; GRECO, 1990; ROSSI et al., 2000). Os poucos relatos de parasitismo de feijoeiro comum por espécimes de tal gênero, no Brasil, refere-se principalmente à *P. brachyurus* e *P. zae* Graham. Devido a recente descrição de *P. jaehni*,

informações a respeito da associação deste nematoide com feijoeiro comum são ausentes. Objetivou-se avaliar, neste trabalho, a reação de diferentes cultivares de feijoeiro comum à população de *P. jaehni* (K₅), visando o manejo populacional em áreas cafeeiras infestadas com tal nematoide.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Obtenção e preparo dos inóculos

P. jaehni (K₅) foi isolado de raízes de cafeeiro arábico coletadas em Marília, em 1998. Desde então, tem sido mantido em plantas de sorgo granífero (*S. bicolor*) híbrido Sara, cultivadas em vasos com aproximadamente 1,5 L de substrato (62% de areia, 8% de silte e 30% de argila), localizados em casa de vegetação do Laboratório de Nematologia da ESALQ/USP, Piracicaba, São Paulo.

Os nematoides foram extraídos pelo método de Baermann modificado para recipiente raso (HOOPER, 1986), a partir de raízes de sorgo granífero infectadas. As raízes foram processadas em liquidificador e a suspensão resultante foi vertida em peneiras de 60 e 500 mesh, respectivamente. O material presente na peneira de 500 mesh foi recolhido em recipiente raso e mantido durante 48 horas em B.O.D, com temperatura ajustada para 28° C. Após este período, a suspensão de nematoides, contendo adultos e juvenis, foi recolhida e calibrada em lâmina de Peters, sob microscópio ótico, para a concentração de 100 nematoides/mL.

3.2.2 Localização

Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação da área experimental do Laboratório de Nematologia de plantas do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP – 22° 42’S, 47° 38’W, 546m de altitude).

3.2.3 Terminologias

Foram considerados os conceitos de resistência e suscetibilidade, postulados por Trudgill (1991), no qual as plantas resistentes são aquelas que restringem o desenvolvimento e a multiplicação de nematoides em suas raízes e as suscetíveis são o contrário. No presente trabalho, foram consideradas plantas resistentes aquelas com fator de reprodução menor que 1,0 ($FR < 1,0$) e plantas suscetíveis aquelas apresentando $FR > 1,0$. Utilizou-se também, o termo ‘capacidade reprodutiva’ (*reproductive fitness*), que pode ser definido como a reprodução da população de um nematoide em comparação a outras, medida em determinada planta hospedeira (SHANER et al., 1992).

3.2.4 Experimento 1

As cultivares de feijoeiro comum utilizadas foram as seguintes: ‘IPR Juriti’, ‘IAPAR 81’, ‘Pérola’, ‘Saracura’, ‘IPR Siriri’, ‘IAPAR 31’, ‘Carioca’ e ‘IPR Tangará’.

Foram semeadas 5 sementes de cada cultivar de feijoeiro comum em copos plásticos com 700 cm³ de capacidade, contendo cerca de 600 cm³ de substrato (62% de areia, 8% de silte e 30% de argila) previamente autoclavado. Utilizou-se como padrão suscetível plantas de sorgo granífero híbrido Sara. Após 7 dias do plantio, promoveu-se o desbaste das plantas, deixando-se 3 plantas por copo. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 8 tratamentos – correspondentes aos cultivares de feijoeiro comum e o padrão suscetível – e 6 repetições – com a unidade experimental correspondendo à três plantas por copo plástico. Cada parcela experimental foi inoculada 9 dias após o plantio, quando o feijoeiro se encontrava no estágio V2 (par de folhas primárias abertas). Foram feitos dois orifícios no substrato, um de 2 cm e outro de 4 cm. Em cada um deles, adicionou-se 1 mL da suspensão de nematoides, previamente calibrada, perfazendo uma população inicial (P_i) de 200 nematoides. Posteriormente, os orifícios foram cobertos com vermiculita. A avaliação foi realizada aos 64 dias após a inoculação. Durante o período experimental, as temperaturas foram registradas diariamente, variando entre 15,08°C (média das mínimas diárias) e 34,7°C (média das máximas diárias).

Os nematoides foram extraídos de alíquotas de 10g de raízes, pelo método de Coolen e D’Herde (1972), após lavagem, secagem em papel absorvente e pesagem da massa total de raízes. Aqueles presentes no substrato de cada parcela foram extraídos pelo método de Jenkins (1964). O

número de nematoides foi estimado pela contagem em lâmina de Peters, com o auxílio de microscópio ótico. A população final (P_f) foi obtida pela soma dos espécimes presentes no substrato e nas raízes. A partir da P_f , calculou-se o crescimento populacional, por meio da média do fator de reprodução ($FR = P_f/P_i$), e a quantidade média de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g), para os respectivos tratamentos.

Tabela 3.1 – Informações sobre as cultivares de feijoeiro comum utilizadas nos experimentos 1 e 2

Cultivares	Características			
	Porte	Ciclo Médio	Grupo Comercial	Regiões de Cultivo
IPR Juriti	Ereto	89	Carioca	RS, SC, PR, SP, GO, MT
IAPAR 81	Ereto	92	Carioca	RS, SC, PR, SP, MG, GO, MT
Pérola	-	-	Carioca	-
Saracura	Semi - ereto	88	Carioca	PR, MT
IPR Siriri	Semi - ereto	85	Carioca	RS, SC, PR, SP, GO, MT
IAPAR 31	Ereto	93	Carioca	PR
Carioca	-	-	Carioca	-
IPR Tangará	Ereto	87	Carioca	PR

Fonte: IAPAR 2009

3.2.5 Experimento 2

As sementes das cultivares de feijoeiro comum foram submetidas a uma desinfestação superficial com hipoclorito 0,5 % por 10 minutos e colocadas em rolo de papel umedecido com água destilada. Posteriormente, as sementes foram acondicionadas em B.O.D com temperatura ajustada para 28°C, sendo o rolo de papel umedecido quando necessário. Aos 4 dias da aclimatização, quando as sementes estavam uniformemente germinadas, promoveu-se o

transplante de três plântulas para cada copo com 500 cm³ de capacidade, contendo 400 cm³ de substrato (62% de areia, 8% de silte e 30% de argila) previamente autoclavado. Os tratamentos e o número de repetições foram os mesmos do experimento anterior. A inoculação foi realizada aos 21 dias após o semeio em rolo de papel, quando as cultivares estavam no estádio V3 (primeira folha trifoliolada com os folíolos abertos). O procedimento para a inoculação foi realizado da mesma maneira que no experimento anterior. A P_i utilizada foi de 200 nematoides.

A avaliação foi realizada aos 60 dias após a inoculação. Durante este período, as temperaturas variaram entre 17,5°C (média das mínimas diárias) e 34,34 °C (média das máximas diárias).

Neste experimento, não foi realizada extração dos nematoides presentes no substrato, pois no primeiro, a quantidade encontrada foi muito baixa. O procedimento para extração dos nematoides das raízes foi o mesmo daquele utilizado no experimento anterior (COOLEN E D'HERDE, 1972), assim como o realizado para a obtenção das variáveis FR e Nem./g. A P_f levou em consideração apenas os nematoides presentes nas raízes.

3.3 Resultados e Discussão

Observou-se a presença de reduzido número de adultos e juvenis do nematoide em praticamente todas as amostras de raízes das cultivares processadas, tanto no Experimento 1 quanto no Experimento 2. Em ambos os experimentos, todas as cultivares apresentaram FR<1, podendo ser classificadas como resistentes. Tais resultados foram semelhantes ao obtido por Silva e Inomoto (2002), os quais observaram resistência de *Phaseolus vulgaris* 'Safira' frente a *P. jaehni* (K₅), em teste para a determinação do círculo de hospedeiros deste nematoide.

No Experimento 1 (Tabela 3.2), o FR variou de 0,17 ('IAPAR 81') à 0,33 ('IPR Siriri'), enquanto que no experimento 2 (Tabela 3.3) o FR variou de 0,10 ('IPR Juriti') à 0,57 ('IPR Siriri'). Confirmando que 'IPR Siriri' foi o melhor hospedeiro de *P. jaehni* (K₅), quando comparados às outras cultivares. Apesar disso, os valores de Nem./g foram muito próximos em ambos experimentos, indicando que o maior valor de FR observado para 'IPR Siriri', teve grande contribuição da maior quantidade de raízes produzidas por esta cultivar.

O padrão suscetível (sorgo granífero híbrido Sara) apresentou FR=1,62 no experimento 1 e FR=1,47 no experimento 2. Valores relativamente baixos quando confrontados aos

apresentados por Silva e Inomoto (2002), porém, esses autores utilizaram a cultivar IPA-7301011 que, provavelmente é hospedeira mais favorável ao nematoide.

De acordo com os resultados observados nas tabelas 3.2 e 3.3, *P. jaehni* (K₅), foi capaz de parasitar as raízes das cultivares de feijoeiro, entretanto, como os valores de FR foram todos menores do que 1, apresentando diferença significativa com relação ao sorgo 'Sara', pode-se inferir que o feijoeiro não proporciona condições favoráveis a reprodução do parasito.

Como o feijoeiro comum se presta ao cultivo intercalar com cafeeiros, os baixos FR apresentados indicam que o uso de cultivares resistentes em áreas infestadas contribuiria para a redução populacional do nematoide. Tal medida de controle poderia ser utilizada associada ao uso de porta-enxertos de café resistentes.

Além disso, Almeida e Campos (1991), estudando a hospedabilidade de diferentes espécies vegetais à *M. exigua* Goeldi, 1887, espécie mais disseminada em áreas produtoras de café (CASTRO et al. 2008), observaram que *Phaseolus vulgaris* 'Carioca' não é bom hospedeiro daquele nematoide. Tal fato subsidia ainda mais o uso de feijoeiro comum em cafezais, visando a redução de populações de nematoides danosos ao cafeeiro. Entretanto, estudos com diferentes cultivares de feijoeiro frente a *M. exigua* seriam necessários.

Tabela 3.2 - Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus jaehni* (K₅) em cultivares de feijoeiro comum, número de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g) e população final (Pf=substrato+raízes) aos 64 dias após a inoculação

Tratamentos	Pf	FR	Nem./g
‘IAPAR 81’	40	0,17 b	3 b
‘IPR Tangará’	43	0,19 b	2 b
‘IPR Juriti’	46	0,2 b	3 b
‘Carioca’	54	0,24 b	4 b
‘IAPAR 31’	54	0,24 b	4 b
‘Saracura’	56	0,25 b	3 b
‘Pérola’	62	0,29 b	4 b
‘IPR Siriri’	75	0,33 b	5 b
Sorgo ‘Sara’	366	1,62 a	18 a

Média de seis repetições; médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P = 0,05$); $P_i = 200$ (adultos +juvenis); CV= 46,67% para FR; CV= 33,55% para Nem./g

Tabela 3.3 - Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus jaehni* (K₅) em cultivares de feijoeiro comum, número de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g) e população final (Pf de raízes) aos 64 dias após a inoculação

Tratamentos	Pf	FR	Nem./g
‘IPR Juriti’	34	0,10 c	6 bc
‘Carioca’	26	0,13 c	2 c
‘Pérola’	28	0,14 c	3 bc
‘IPR Tangará’	49	0,25 bc	5 abc
‘Saracura’	64	0,32 bc	5 abc
‘IAPAR 31’	72	0,36 bc	5 abc
‘IAPAR 81’	84	0,42 bc	9 ab
‘IPR Siriri’	113	0,57 b	7 abc
sorgo ‘Sara’	293	1,47 a	20 a

Média de seis repetições; médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P = 0,05$); $P_i = 200$ (adultos +juvenis); CV= 52,03% para FR; CV= 37,16% para Nem./g

3.4 Conclusão

- As cultivares de feijoeiro comum, principalmente aquelas adaptadas aos estados produtores de café, utilizadas neste trabalho, apresentam potencial para serem utilizadas em áreas infestadas por *P. jaehni* (K₅), seja em consórcio ou por ocasião de renovação do cafezal, visando a redução populacional do nematoide.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, V.F.; CAMPOS, V.P. Reprodutividade de *Meloidogyne exigua* em plantas antagonistas e em culturas de interesse econômico. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 15, p. 24-29, 1991.

BEGAZO, J.C.E.O. Considerações sobre o feijão como cultura consorciada do cafezal e mandiocal. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, p. 50-51, 1984.

BERTONI, J.; LOMBARDI-NETO, F. Conservação do solo. Piracicaba: Livroceres, 1985. 392 p.

CARVALHO, A.J.; ANDRADE, M.J.B.; GUIMARÃES, R.J. Sistemas de produção de feijão intercalado com cafeeiro adensado recém-plantado. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, p. 133-139, 2007.

CARVALHO, A.J.; ANDRADE, M.J.B.; GUIMARÃES, R.J.; REIS, R.P. Desempenho técnico-econômico de sistemas de consórcio do feijoeiro-comum com cafeeiro (*Coffea arabica* L.) adensado recém-plantado. **Coffee Science**, Lavras, v. 3, p. 133-142, 2008.

CASTRO, J.M.C.; CAMPOS, V.P.; POZZA, E.A.; NAVES, R.L.; ANDRADE JÚNIOR, W.C.; DUTRA, M.R.; COIMBRA, J.L.; MAXIMINIANO, C.; SILVA, J.R.C. Levantamento de fitonematoides em cafezais do sul de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, p. 56-64, 2008.

COOLEN, W.A.; D' HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77 p.

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**, Bradenton, v. 29, p. 61-81, 1999.

HOOVER, D.J. Extration of free-living stages from soil. In: Southey, J.F. (Ed.) **Laboratory Methods for Work with Plant and Soil Nematodes**. London: Her Majesty's Stationery Office, 1986. p. 5-30.

IGUE, K. Adubação verde no Brasil. Campinas SP. Fundação Cargill. 1984. 363p.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, n.9, p. 692, 1964.

LOMBARDI-NETO, F.; BERTONI, J.; BENATTI-JÚNIOR, R. Efeito de algumas práticas conservacionistas vegetativas na produção de café. **Anais da Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v.15, p.547-550, 1976.

MELLES, C.C.A.; CHEBABI, M.A.A.; NACIF, A.P.; GUIMARÃES, P.T.G. Culturas intercalares em lavouras cafeeiras nas fases de formação e produção. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 126, p. 65-68, 1985.

OLIVEIRA, C.M.G.; KUBO, R.K.; HARAKAVA, R. Diagnose de *Pratylenchus* spp. de cafezais paulistas pela aplicação da tecnologia do código de barras do DNA. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 6., 2009, Vitória. **Anais...** Vitória, 2009. 1 CD-ROM.

PAULO, E.M.; BERTON, R.S.; CAVICHIOLI, J.C.; KASAI, F.S. Produtividade do café apoaã em consórcio com leguminosas na região da alta paulista. **Bragantia**, Campinas, v. 63, p. 275-281, 2004.

SHANER, G.; STROMBERG, E.L.; LACY, G.H.; BARKER, K.R.; PIRONE, T.P. Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 47-66, 1992.

SILVA, R.A. **Caracterização de dois isolados de *Pratylenchus coffeae* coletados no Brasil**. 2000. 53 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

SILVA, R.A.; INOMOTO, M.M. Host-range characterization of two *Pratylenchus coffeae* isolates from Brazil. **Journal of Nematology**, Riverside, v. 34, p. 135-139, 2002.

TOMAZINI, M.D.; SILVA, R.A.; OLIVEIRA, C.M.G.; GONÇALVES, W.; FERRAZ, L.C.C.B.; INOMOTO, M.M. Resistência de Genótipos de Cafeeiros a *Pratylenchus coffeae* e *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, p. 193-198, 2005.

TRUDGILL, D.L. Resistance to and tolerance of plants parasitic nematodes in plants. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 167-192, 1991.

4 REAÇÃO DE DIFERENTES ESPÉCIES VEGETAIS À QUATRO POPULAÇÕES DE *Pratylenchus* spp.

Resumo

No final da década de 1990, foi observado que duas populações de *P. coffeae* denominada C₁ e C₂, ambos parasitas de limão-cravo, mas não de cafeeiros, eram morfológicamente muito próximas à uma outra população denominada K₅, altamente agressiva à cafeeiro arábico. Em 2001, descobriu-se que C₁ e C₂ pertenciam à espécie *P. jaehni*. Recentemente, foi demonstrado, com base em análise molecular, que a população K₅ de *Pratylenchus* sp., a qual é morfológicamente muito próxima à *P. coffeae*, é co-específica à *P. jaehni*. Entretanto, estudos relacionados aos aspectos biológicos da população K₅ e de diferentes populações de *Pratylenchus* spp. são necessários para que se conheça as suas verdadeiras posições taxionômicas. Desse modo, os objetivos deste trabalho foram verificar se a reação de alguns porta-enxertos comerciais de citros, inoculados com *P. jaehni* (K₅), seria semelhante aquela observada para a população tipo da espécie e determinar a reação de algumas culturas classicamente relatadas como hospedeiros de *P. coffeae* frente à diferentes populações de *Pratylenchus* spp. Para isso foram realizados dois experimentos: no primeiro, realizado com porta-enxertos cítricos, os tratamentos foram limão-cravo, tangerina ‘Cleópatra’ (*Citrus reshni* Hort. ex. Tanaka), tangerina sunki (*Citrus sunki* Hort. ex. Tanaka), trifoliata ‘Limeira’ (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.), citrange ‘Carrizo’ (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.), laranja-azedada (*Citrus aurantium* L.) limão volkameriano (*Citrus volkameriana* Tan. e Pasq.) e, como testemunha suscetível, sorgo granífero híbrido Sara (*S. bicolor*). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 8 tratamentos e 12 repetições. Utilizou-se uma população inicial (P_i) de 180 espécimes de *P. jaehni* (K₅) por planta; no segundo experimento foram testadas quatro espécies vegetais: cafeeiro arábico ‘Mundo Novo’, limão-cravo, banana (*Musa acuminata* Colla AAA cv. Nanicão) e sorgo granífero híbrido Sara frente à quatro populações (IB01P e IB02P de *Pratylenchus* sp.; K₅ e C₁ de *P. jaehni*) Dessa maneira, o esquema fatorial foi 4 x 4 (quatro espécies vegetais; quatro populações) em delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições. Para IB01P; IB02P e K₅ utilizou-se uma P_i = 200 espécimes de cada isolado por planta; para C₁ a P_i = 100 espécimes por planta. No primeiro experimento, *P. jaehni* (K₅) não se reproduziu em tangerina ‘Cleópatra’, tangerina sunki, trifoliata ‘Limeira’, citrange ‘Carrizo’, laranja-azedada e limão volkameriano. Somente limão-cravo foi hospedeiro de *P. jaehni* (K₅). No segundo experimento, foi observado que a população IB01P multiplicou-se em banana e sorgo granífero; IB02P multiplicou-se apenas em sorgo granífero; K₅ multiplicou-se em cafeeiro arábico ‘Mundo Novo’ e em sorgo granífero e C₁ multiplicou-se em banana ‘Nanicão’, limão-cravo e sorgo granífero. Tendo em vista os resultados obtidos, chega-se à conclusão de que dentro da espécie *P. jaehni* há duas raças: K₅, que se multiplica em cafeeiro arábico, mas não em banana ‘Nanicão’ e C₁ que se multiplica em banana ‘Nanicão’ mas não em cafeeiro arábico. Além disso, verifica-se que as populações IB01P e IB02P são capazes de se reproduzir de forma diferenciada nos hospedeiros testados.

Palavras-chave: *Pratylenchus* spp.; Porta-enxertos Cítricos; Sorgo Granífero; Banana; Limão-cravo; Cafeeiro Arábico

HOST STATUS OF DIFFERENT PLANT SPECIES TO FOUR *Pratylenchus* spp. POPULATIONS

Abstract

In the late 1990's, two populations of *P. coffeae*, called C₁ and C₂, were found parasiting rangpur lime, but not coffee, being morphologically very close to another population, called K₅, highly aggressive to arabic coffee. Posterior, was found that C₁ and C₂ belong to *P. jaehni* species. Recently, was demonstrated, based on molecular analysis, that K₅ population of *Pratylenchus* sp., which is morphologically very close to *P. coffeae*, is co-specific with *P. jaehni*. However, studies regarding the biological aspects of K₅ population and other populations of *Pratylenchus* spp. are also needed to know about their true taxonomic status. Thus, the objectives of this research were to determine whether the host status of different citrus rootstocks inoculated with *P. jaehni* (K₅) would be similar to that observed for the type population of this species and determine the reaction of some crops, classically reported as hosts of *P. coffeae*, to different populations of *Pratylenchus* spp. Two experiments were conducted: in the first, with citrus rootstocks, the treatments were rangpur lime, 'Cleopatra' tangerine (*Citrus reshni*), sunki tangerine (*Citrus sunki*), trifoliata 'Limeira' (*Poncirus trifoliata*), citrange 'Carrizo' (*Citrus sinensis* x *Poncirus trifoliata*), sour orange (*Citrus aurantium*), volkameriano lemon (*Citrus volkameriana*) and grain sorghum 'Sara' hybrid (*Sorghum bicolor*); the later plant used as susceptible standard host. The experimental design was completely randomized with 8 treatments and 12 replicates. The initial population used was 180 specimes of *P. jaehni* (K₅) per plant; in experiment 1. In the second experiment, were tested four plant species: arabic coffee 'Mundo Novo', rangpur lime, banana (*Musa acuminata* Colla AAA cv. Nanicão) and grain sorghum 'Sara' hybrid to four populations (IB01P and IB02P of *Pratylenchus* spp.; K₅ and C₁ of *P. jaehni*). Thus, in the experiment 2, the factorial design was 4 x 4 (four species and four populations) completely randomized with 6 replicates. An initial population of 200 specimes per plant of each isolate (IB01P; IB02P and K₅) and 100 specimens per plant of C₁ were used. In the first experiment, *P. jaehni* (K₅) did not reproduce in 'Cleopatra' tangerine, sunki tangerine, trifoliata 'Limeira', citrange 'Carrizo', sour orange and volkameriano lemon. Only rangpur lime was a good host to *P. jaehni* (K₅). In the second experiment, the population IB01P multiplied in banana and grain sorghum; IB02P multiplied only in grain sorghum; K₅ multiplied in arabic coffee 'Mundo Novo' and grain sorghum and C₁ multiplied in banana 'Nanicão', rangpur lime and grain sorghum. Considering the results obtained, could be conclude that within the species *P. jaehni*, there are two races: K₅, which arabic coffee is a good host, but not banana 'Nanicão' and C₁, wich banana 'Nanicão' is a good host, but not arabic coffee. In addition, IB01P and IB02P have different reproductive fitness in the plants tested.

Keywords: *Pratylenchus* spp.; Citrus Rootstocks; Grain Sorghum; Banana; Rangpur Lime; Arabic Coffee

4.1 Introdução

P. coffeae é uma espécie de nematoide que parasita várias espécies cultivadas, sendo relatado em diversos países ao redor do mundo. Dentre as culturas de importância econômica destacam-se: café, banana e citros. O prejuízo do parasitismo de *P. coffeae* é observado em quase todos os continentes. Em países americanos resulta em perdas econômicas consideráveis. No Brasil, este patógeno é problema especialmente na cultura do café, que é a mais importante dentre as que são parasitadas pelo nematoide no país.

O patógeno causa danos severos às raízes devido à injeção de secreções esofagianas tóxicas e ao modo de parasitismo do tipo migrador. Tal comportamento alimentar contribui para que sejam formadas portas de entrada nas raízes para diversos microrganismos oportunistas que as deixam com aspecto enegrecido (WEISCHER; BROWN, 2001). Não há dúvidas de que esta situação prejudica a absorção de nutrientes deixando as plantas atacadas depauperadas, apresentando sintomas como amarelecimento, nanismo e sistema radicular reduzido. As plantas que se encontram em tal quadro apresentam, obviamente, produção reduzida, levando à prejuízos financeiros.

Apesar de alguns estudos evidenciarem danos em diversos hospedeiros causados por *P. coffeae*, pairam ainda dúvidas a respeito da verdadeira identidade de algumas populações. Isto porque é freqüente a ocorrência de populações com semelhanças morfométricas (CAMPOS, 2002) e com capacidade de efetuar acasalamentos entre si (INSERRA et al., 2001) mas com diferenças marcantes no que diz respeito à preferência por hospedeiros (DEMANT, 2004).

No final da década de 1990, foi observado que duas populações de *P. coffeae* denominada C₁ e C₂ (DUNCAN et al., 1999) parasita de limão-cravo, não parasitava cafeeiros, apesar de suas características, morfológicas e morfométricas serem muito semelhantes à uma outra população denominada K₅, altamente virulenta à cafeeiro arábico. Tendo em vista esta problemática, torna-se necessário o conhecimento de quais culturas de interesse econômico podem ou não serem atacadas por diferentes populações do nematoide. Os resultados obtidos, juntamente com características morfológicas, morfométricas e análise do DNA, comparados com a população padrão da espécie, podem sugerir que se trata da mesma espécie ou de uma espécie nova. Recentemente, Oliveira et al. (2009) demonstrou, baseado em análise molecular, que a população

K₅ de *Pratylenchus* sp. (DUNCAN et al., 1999), a qual é morfologicamente muito próxima à *P. coffeae*, é co-específica à *P. jaehni*.

Dentro deste contexto, os objetivos deste trabalho foram:

Verificar se a reação de alguns porta-enxertos comerciais de citros, inoculados com *P. jaehni* (K₅), seria semelhante aquela observada para a população tipo da espécie.

Determinar a reação de algumas culturas classicamente relatadas como hospedeiros de *P. coffeae* frente à diferentes populações de *Pratylenchus* spp.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Obtenção e preparo dos inóculos

P. jaehni (K₅) foi isolado de raízes de cafeeiro arábico coletadas em Marília - SP, em 1998, desde então tem sido mantida em plantas de sorgo granífero (*S. bicolor*) híbrido Sara, cultivadas em vasos com aproximadamente 1,5 L de substrato (62% de areia, 8% de silte e 30% de argila). As populações de *Pratylenchus* sp., IB01P e IB02P, foram coletadas no município de Presidente Prudente e Itatiba - SP, respectivamente, de raízes de cafeeiro arábico no ano de 2007, a partir de quando tem sido mantidas em plantas de sorgo em vasos contendo 5 L de substrato (62% de areia, 8% de silte e 30% de argila).

A população de *P. jaehni* (C₁) foi coletada no município de Itápolis de pomares de plantas cítricas enxertadas sobre limão-cravo no ano de 1997, sendo posteriormente mantido no mesmo hospedeiro em casa de vegetação em vasos contando aproximadamente 8 L de substrato.

Os inóculos de *P. jaehni* (K₅) e *P. jaehni* (C₁) foram mantidas em casa de vegetação do Laboratório de Nematologia da ESALQ/USP, Piracicaba, São Paulo. As populações IB01P e IB02P de *Pratylenchus* sp. foram mantidas em casa de vegetação no Laboratório de Nematologia do Instituto Biológico, Campinas, São Paulo.

Os nematoides foram extraídos das raízes pelo método de Baermann modificado para recipiente raso (HOOPER, 1986). A suspensão resultante do processamento em liquidificador foi vertida em peneiras de 60 e 500 mesh respectivamente. O material presente na peneira de 500 mesh foi recolhido em recipiente raso e mantido durante 48 horas em B.O.D, com temperatura ajustada para 28° C. Após este período, a suspensão, contendo nematoides adultos e juvenis, foi recolhida em peneira de 500 mesh e posteriormente, calibrada em lâmina de Peters, sob microscópio ótico, para a concentração desejada em cada experimento.

4.2.2 Localização

Os experimentos foram conduzidos na casa de vegetação da área experimental do Laboratório de Nematologia de plantas do Departamento de Fitopatologia e Nematologia da

Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo (ESALQ/USP – 22° 42’S, 47° 38’W, 546m de altitude)

4.2.3 Terminologias

Foram considerados os conceitos de resistência e suscetibilidade, postulados por Trudgill (1991), no qual as plantas resistentes são aquelas que restringem o desenvolvimento e a multiplicação de nematoides em suas raízes e as suscetíveis são o contrário. No presente trabalho, foram consideradas plantas resistentes aquelas com fator de reprodução menor que 1,0 ($FR < 1,0$) e plantas suscetíveis aquelas apresentando $FR > 1,0$. Utilizou-se também, o termo ‘capacidade reprodutiva’ (*reproductive fitness*), que pode ser definido como a reprodução da população de um nematoide em comparação a outras, medida em determinada planta hospedeira (SHANER et al., 1992).

4.2.4 Experimentos 1. Reação de porta-enxertos cítricos à *P. jaehni* (K₅)

Mudas de porta-enxertos cítricos, plantadas em tubetes contendo 40 mL substrato de casca de pinus, foram fornecidas pela empresa Citrograf, localizada no município de Conchal, SP. As plantas receberam um pequeno corte na extremidade do sistema radicular e na parte aérea no momento do transplante, de maneira a ficarem com 10 cm de altura e 12 à 14 pares de folhas. O transplante foi realizado, aos seis meses de idade, em vasos plásticos com 500 cm³ de capacidade e aproximadamente 450 cm³ de substrato (62% de areia, 8% de silte e 30% de argila) previamente autoclavado (121 °C por 2 horas).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 9 tratamentos e 12 repetições. Os tratamentos, correspondentes a 7 porta-enxertos cítricos e uma testemunha suscetível à *P. jaehni* (K₅), foram os seguintes: limão-cravo, tangerina ‘Cleópatra’ (*Citrus reshni* hort. ex. Tanaka), tangerina sunki (*Citrus sunki* Hort. ex. Tanaka), trifoliata ‘Limeira’ (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.), citrange ‘Carrizo’ (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.), laranja azeda (*Citrus aurantium* L.) limão volkameriano (*Citrus volkameriana* Tan. e Pasq.) e, como testemunha, sorgo granífero híbrido Sara (*S. bicolor*). A unidade experimental correspondeu a uma planta por recipiente.

Aos 22 dias após o transplante, foram realizados, em cada parcela, dois orifícios (dois e quatro centímetros de profundidade), localizados à cerca de 1 cm de distância do colo das plantas, onde colocou-se vermiculita. Com o auxílio de um pipetador automático, procedeu-se a inoculação de uma suspensão aquosa contendo 90 nematoides/mL em cada orifício, perfazendo uma população inicial (P_i) de 180 espécimes (adultos + juvenis). Posteriormente, os orifícios foram tampados com vermiculita. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em local sombreado por 2 dias, visando proporcionar um ambiente mais favorável à penetração do nematoide.

A avaliação foi realizada em duas épocas. A primeira aos 120 dias após a inoculação (setembro à janeiro) e a segunda aos 240 dias após a inoculação (setembro à maio). As temperaturas foram registradas diariamente por meio de termômetro localizado no interior da casa de vegetação. A média das temperaturas mínimas e máximas diárias foi 13,35°C e 33,3°C, respectivamente, para o primeiro período experimental e 15,9°C e 34,9°C, respectivamente, para o segundo período experimental.

Ao final de cada época, o número de nematoides extraídos do substrato de cada parcela (JENKINS, 1964), foi estimado por meio da contagem em lâmina de Peters. Bem como, estimou-se o número de nematoides presentes nas raízes (COOLEN; D'HERDE, 1972). Neste caso, após a lavagem, secagem em papel absorvente, e pesagem da massa total de raízes, retirou-se uma alíquota de 10 g, quando a massa total excedia a esta. A população final (P_f) foi obtida pela soma dos espécimes presentes no substrato e nas raízes. De posse destes valores, calculou-se o fator de reprodução ($FR = P_f/P_i$) em cada parcela. Adicionalmente, foi calculado o número de nematoides por grama de raízes (Nem./g). A média de ambas variáveis (FR e Nem./g), foi calculada para cada tratamento.

4.2.5 Experimento 2. Hospedabilidade de diferentes espécies vegetais à quatro populações de *Pratylenchus* spp.

Foram testadas quatro espécies vegetais: cafeeiro arábico 'Mundo Novo', limão-cravo, banana (*Musa acuminata* AAA cv. Nanicão) e sorgo granífero híbrido Sara.

Foram utilizadas quatro populações: IB01P e IB02P de *Pratylenchus* sp.; K_5 e C_1 de *P. jaehni*. Dessa maneira, o esquema fatorial foi 4 x 4 (quatro espécies vegetais; quatro populações)

em delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições. A unidade experimental correspondeu a uma planta por vaso plástico com 500 cm³ de capacidade, preenchido com 450 cm³ de substrato (62% de areia, 8% de silte e 30% de argila) previamente autoclavado.

Sementes de café foram plantadas em bandejas com 10 L de capacidade, contendo vermiculita como substrato. Aos 4 meses do plantio, mudas com dois pares de folhas verdadeiras foram transplantadas. Adicionou-se 1g de calcário dolomítico e, posteriormente, as mudas foram adubadas com 10 mL de fertilizante fluido (8-8-8 + micronutrientes), na seguinte proporção: 10 mL do fertilizante em 1L de água.

As mudas de banana foram fornecidas pela empresa de biotecnologia vegetal Multiplanta, em bandeja plástica contendo torrões individuais de 6x6x6 cm do substrato Plantmax Plus (Eucatex). O transplante foi realizado quando as plantas estavam com tamanho entre 10 e 15 cm de altura.

As mudas de limão-cravo, com 70 dias de idade e 5 cm de altura, foram fornecidas pela empresa Citrograf, em tubetes plásticos contendo 40 mL de substrato de casca de pinus. O transplante foi realizado aos 79 dias de idade.

Com relação ao sorgo, foram plantadas três sementes por parcela experimental, duas semanas antes da inoculação. Após 5 dias da semeadura, procedeu-se o desbaste, de forma a deixar uma planta por vaso plástico.

Neste experimento, foi utilizada uma $P_i = 200$ espécimes (adultos e juvenis). A inoculação, cujo procedimento foi idêntico ao realizado no experimento anterior, foi realizada 6, 5 e 3 semanas após o transplante, respectivamente, para café, limoeiro 'Cravo' e banana; para sorgo, a inoculação ocorreu 2 semanas após o plantio. A diferença na época de plantio das diferentes espécies deve-se ao fato de que todas, com exceção do sorgo, tem um crescimento lento, conseqüentemente, requerem um período maior para que atinjam o tamanho apropriado para inoculação.

A avaliação foi realizada aos 180 dias após a inoculação (Março à Setembro). Durante o período experimental, a média das temperaturas mínimas e máximas diárias, foram 14,9°C e 32,8°C. As variáveis FR e Nem./g foram calculados da mesma maneira que nos outros experimentos.

4.2.6 Análise estatística

As variáveis, FR e Nem./g, foram transformadas em $\log(x+1)$ e submetidas à análise de variância com o auxílio do aplicativo SANEST (Sistema de Análise Estatística - desenvolvido pelo Departamento de Matemática e Estatística da ESALQ-USP). As respectivas médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P=0,05$).

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Experimento 1. Reação de porta-enxertos cítricos à *P. jaehni* (K₅)

Tabela 4.1 - Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus jaehni* (K₅) em porta-enxertos cítricos e número de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g) aos 120 e 245 dias após a inoculação

Tratamentos	Avaliação aos 120 dias		Avaliação aos 245 dias		Reação
	FR	Nem./g	FR	Nem./g	
Limão-cravo	3,66 b	64 b	22,28 b	316 b	Suscetível
Trifoliata 'Limeira'	0,02 c	1 c	0 c	0 c	Resistente
Laranja-azedada	0 c	0 c	0 c	0 c	Resistente
Citrango 'Carrizo'	0 c	0 c	0 c	0 c	Resistente
Tangerina 'Cleópatra'	0 c	0 c	0 c	0 c	Resistente
Tangerina 'Sunki'	0 c	0 c	0 c	0 c	Resistente
Limão 'Volkameriano'	0 c	0 c	0 c	0 c	Resistente
Sorgo 'Sara'	106,20 a	1542 a	1329,87 a	10586 a	Suscetível

Média de seis repetições; médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P = 0,05$); $P_i = 180$ (adultos + juvenis); Avaliação aos 120 dias: CV= 27,97% para FR e CV= 16,58% para Nem./g; Avaliação aos 245 dias: CV= 17,46% para FR e CV= 12,44% para Nem./g

De acordo com os resultados obtidos na tabela 1, *P. jaehni* (K₅) não se reproduziu na maioria dos porta-enxertos cítricos testados (tangerina 'Cleópatra', tangerina sunki, trifoliata 'Limeira', citrango 'Carrizo', laranja-azedada e limão volkameriano). Houve reprodução e aumento populacional somente em limão-cravo, no qual foi observado também um aumento no FR, em função da duração do período experimental.

Em trifoliata 'Limeira' foram detectados poucos nematoides na primeira avaliação (120 dias). Tal fato indica que há na população indivíduos que são capazes de penetrar as raízes, mas que falham ao tentar reproduzir-se na planta. Isto pode ser comprovado na avaliação realizada aos 245 dias, na qual não foi detectada a presença de nematoides nas raízes do porta-enxerto em questão, levando conseqüentemente à um FR=0.

Em limão-cravo foi encontrado um número considerável de nematoides nas suas radículas já na primeira avaliação. Ocorreu até então um fato inédito, pois os relatos feitos por Silva e Inomoto (2002) e Demant (2004), mostram que *P. jaehni* (K₅) não seria capaz de se reproduzir em limão-cravo. A explicação para a ocorrência de tais resultados pode estar no fato de se utilizar períodos experimentais muito curtos naqueles experimentos ou na ocorrência de condições experimentais não tão favoráveis quanto à ocorrida no presente experimento, que foi conduzido, em grande parte, no período correspondente à primavera-verão. A média de temperaturas mínimas (15,9°C) e máximas diárias (34,9°C) elevadas, quando considerado o período experimental de 245 dias, é um indício de que, sob este aspecto, as condições foram favoráveis à reprodução do nematoide.

A reação observada para os porta-enxerto cítricos, frente à *P. jaehni*, utilizados neste trabalho (K₅) e em Calzavara; Santos e Favoreto (2007) (C₁) foram similares, sugerindo que além de semelhanças morfológicas (CAMPOS, 2002), as populações usadas em ambos trabalhos tem círculo de hospedeiros semelhantes. Essa evidência pode ser confirmada ao se comparar os resultados obtidos por Silva e Inomoto (2002) e Calzavara (2007) em trabalhos, onde foram testadas diferentes espécies vegetais com as populações K₅ e C₁, respectivamente. Nestes estudos, observa-se que as espécies vegetais utilizadas em comum obtiveram a mesma reação nos dois trabalhos, com exceção do sorgo, que foi suscetível para K₅ e resistente para C₁. Entretanto, para C₁, o sorgo apresentou FR muito próximo à 1 (FR=0,96), indicando que sob condições experimentais mais favoráveis o sorgo possa apresentar reação suscetível à C₁. Além disso, as diferenças de reação observadas entre as populações podem ter ocorrido em função da utilização de cultivares diferentes de sorgo e/ou pela utilização de uma população inicial muito alta no trabalho com C₁, o que aumentaria a competição por sítios de infecção.

Oliveira; Kubo e Harakawa (2009), sequenciaram a região D₂/D₃ do DNA ribossômico e analisou o código de barras do DNA da população K₅ e outras populações putativas de *P. coffeae*. Os autores chegaram a conclusão de que K₅ alinhou-se filogeneticamente a *P. jaehni*,

apresentando identidade genética de 99% com a espécie. Os resultados do presente experimento reforçam os obtidos por aqueles pesquisadores.

Os altíssimos FR observados para sorgo granífero mostram que esta planta é excelente hospedeira do nematoide, sobretudo quando submetidas a condições de temperatura ideais e longos períodos experimentais.

4.3.2 Experimento 2. Hospedabilidade de diferentes espécies vegetais à quatro populações de *Pratylenchus* spp.

Tabela 4.2 - Fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus* spp. em diferentes espécies vegetais e número de nematoides por grama de raízes frescas (Nem./g) aos 180 dias após a inoculação

Tratamentos	Populações							
	IB01P		IB02P		K ₅		C ₁	
	FR	Nem./g	FR	Nem./g	FR	Nem./g	FR	Nem./g
Banana	1,29b	5b	0b	0c	0,09c	1b	3,60c	9b
Limão-cravo	0,03b	1b	0b	0c	0,18c	9b	16,00b	461a
Cafeeiro	0,05b	1b	0,28b	8b	30,23b	829a	0,17d	2b
Sorgo	199,35a	3088a	192,60a	3040a	77,42a	1001a	90,93a	578a

Média de seis repetições; médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P = 0,05$); $P_i = 200$ (adultos +juvenis) para as populações IB01P, IB02P e K₅; $P_i = 100$ (adultos +juvenis) para a população C₁; CV= 25,93% para FR e CV= 25,48% para Nem./g.

Neste experimento, foram observadas diferenças entre as quatro populações de *Pratylenchus* spp. testadas. Analisando a reação das espécies vegetais utilizadas frente às diferentes populações observa-se que a população IB01P multiplicou-se em banana e sorgo ‘Sara’; IB02P multiplicou-se apenas em sorgo; K₅ multiplicou-se em cafeeiro arábico ‘Mundo Novo’ e em sorgo granífero e C₁ multiplicou-se em banana ‘Nanicão’, limão-cravo e sorgo granífero.

Em virtude de haver diferenças significativas no DNA de IB01P e IB02P (OLIVEIRA; KUBO E HARAKAWA, 2009), anteriormente identificadas como *P. coffeae*, desenvolveu-se

este experimento com o intuito de subsidiar biologicamente tais diferenças, que foram confirmadas mediante as reações de cada espécie vegetal.

Ao se comparar as populações K_5 e C_1 de *P. jaehni* foi observado que a primeira não se multiplicou em banana 'Nanicão' enquanto que para segunda, esta espécie vegetal foi boa hospedeira. Estudos posteriores visando caracterizar os possíveis danos causados por C_1 em banana são necessários. Para K_5 , Silva e Inomoto (2002) já haviam relatado baixa reprodução do nematoide em banana (*Musa acuminata* AAA cv. Giant Cavendish). Estes resultados levam a crer que banana, em especial o genótipo AAA, não é bom hospedeiro de *P. jaehni* (K_5). Ao comparar-se as duas populações com relação a limão-cravo, observa-se maior valor de FR para a população C_1 e baixo valor para a população K_5 , resultados que já haviam sido relatados por Demant (2004). Entretanto, os valores de FR para K_5 estão em discordância com aqueles obtidos nos experimentos anteriores deste próprio trabalho. Uma das explicações que justificam a disparidade entre os resultados está no fato de C_1 ser melhor adaptado ao parasitismo de limão-cravo que K_5 , em virtude de C_1 ter sido coletado de raízes de limão-cravo e K_5 de cafeeiro arábico. Adicionalmente, durante o período experimental ocorreram algumas semanas de inverno atípico, com temperaturas muito baixas no local do experimento, fato que pode ter concorrido para o baixo FR de reprodução observado para K_5 em comparação ao obtido para C_1 . Não obstante as temperaturas médias mínimas e máximas diárias terem sido relativamente altas (14,9°C e 32,8°C), as mesmas não explicitam a temperatura mínima ou máxima alcançada durante um determinado período e muito menos os seus tempos de duração. Por esse motivo, em alguns casos, as médias de temperaturas não são os melhores parâmetros para se entender alguns resultados. Alguns autores determinaram algumas faixas de temperatura ótimas para alguns eventos que ocorrem durante o ciclo de vida de algumas espécies de *Pratylenchus*. Graham (1951) demonstrou que cada fêmea de *P. brachyurus* ovipositou de quatro à oito ovos por dia, durante onze dias de alimentação em raízes de milho crescendo em câmara úmida, sob temperatura de 26,7 à 29,4°C. RADEWALD; O'BANNON; TOMERLIN (1971) observaram maior taxa de reprodução de *P. coffeae* em *Citrus jambhiri* (limão rugoso) quando a temperatura foi de 29,5°C, com temperatura ótima para reprodução variando de 26 à 32°C. Olowe e Corbett (1976) observaram que a temperatura afeta decisivamente a reprodução de *P. brachyurus*, a qual é inibida em raízes de milho crescendo à temperaturas de 5, 10 e 15°C. Apesar de serem espécies diferentes das utilizadas neste experimento, *P. coffeae* e *P. brachyurus*, são típicas de países

tropicais, região onde *P. jaehni* é encontrado, podendo-se inferir que *P. jaehni* apresente o mesmo comportamento.

Segundo Adams (1998) existem vários conceitos de espécies que tem sido sugeridos e sustentados como úteis na delimitação de espécies. Neste mesmo trabalho o autor destacou quatro destes conceitos e discutiu suas desvantagens no sentido prognosticar erros sistemáticos.

Os conceitos destacados foram: Conceito de espécies de Lineu ou conceito tipológico de morfoespécies – que “delimita as espécies como grupo de organismos que tem maior similaridade global” (MAYR, 1963 apud ADAMS, 1998, p.10); conceito biológico de espécies – que “reconhece as espécies como grupos de populações que são isoladas reprodutivamente” (MAYR, 1942 apud ADAMS, 1998, p.11); conceito evolucionário de espécies – que é definida como “uma linhagem única de populações descendentes de um ancestral, o qual mantém sua identidade de outras linhagens e que tem sua própria tendência evolucionária e rumo histórico” (SIMPSON, 1961; WILEY, 1978 apud ADAMS, 1998, p.11); conceito filogenético de espécies – no qual as espécies são definidas como “a menor unidade que reflete a história filogenética, que é analisável por métodos cladísticos.” (CRACRAFT, 1983,1989; NELSON; PLATNICK, 1981; NIXON; WHEELER, 1990; ROSEN, 1978,1979 apud ADAMS, 1998, p.12)

Fazendo uma comparação entre três desses conceitos, os resultados presentes na literatura e os obtidos neste trabalho, conclui-se que K_5 e C_1 pertencem à mesma espécie (*P. jaehni*). Isso pode ser provado pelo fato de tais populações serem semelhantes quanto à morfologia (CAMPOS, 2002); apresentarem compatibilidade reprodutiva (INSERRA et al., 2001) e alinharem-se filogeneticamente entre si com 99% de identidade genética (OLIVEIRA; KUBO; HAKAWA, 2009). O fato de K_5 e C_1 não apresentarem 100% de identidade genética entre si, pode estar relacionado à capacidade de K_5 se multiplicar em café ‘Mundo Novo’ e a não multiplicação de C_1 nesta espécie vegetal, além das diferentes reações de banana frente às duas populações (Tabela 4.2), apresentando, portanto, diferente ‘reproductive fitness’ ou capacidade reprodutiva. Na maioria dos relatos da literatura onde K_5 e C_1 foram testados em *C. arabica* ‘Mundo Novo’ e ‘Catuaí Vermelho’ os resultados foram semelhantes (DEMANT, 2004; WILCKEN et al., 2008; SILVA; INOMOTO, 2002; SILVA, 2000). Quanto à banana este é o primeiro relato de suscetibilidade à *P. jaehni* (C_1). Isto prova que as duas populações são raças (TRUDGILL, 1991) de *P. jaehni*. Duncan et al. (1999) e Silva e Inomoto (2002) já haviam levantado esta hipótese, porém sem resultados conclusivos.

4.4 Conclusões

- O porta-enxerto limão-cravo é suscetível à *P. jaehni* (K₅), enquanto que tangerina ‘Cleópatra’, tangerina ‘Sunki’, trifoliata ‘Limeira’, citrange ‘Carrizo’, laranja azeda, limão ‘Volkameriano’ e citrumelo ‘Swingle’ são porta-enxertos resistentes;
- Dentro da espécie *P. jaehni* há duas raças: K₅, que se multiplica em cafeeiro arábico, mas não em banana ‘Nanicão’ e C₁ que se multiplica em banana ‘Nanicão’ mas não em cafeeiro arábico;
- Sorgo granífero ‘Sara’ é o hospedeiro mais favorável de *Pratylenchus* sp. (IB01P), *Pratylenchus* sp. (IB02P), *P. jaehni* (K₅) e *P. jaehni* (C₁);
- Café ‘Mundo Novo’ e limão-cravo são resistentes à *Pratylenchus* sp. (IB01P) e (IB02P);
- Banana ‘Nanicão’ é moderadamente suscetível à *Pratylenchus* sp. (IB01P) e resistente à *Pratylenchus* sp. (IB02P).

REFERÊNCIAS

ADAMS, B.J. Species concepts and the evolutionary paradigm in modern nematology. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 30, n.1, p. 1-21, 1998.

CALZAVARA, A.S. **Descrição dos sintomas de laranjeiras infectadas por *Pratylenchus jaehni*, resistência de porta-enxertos, faixa de hospedeiros e desenvolvimento de plantas jovens inoculadas**. 2007. 52 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2007.

CALZAVARA, A.S., SANTOS, J.M, FAVORETO, L. Resistência de porta-enxertos cítricos a *P. jaehni* (Nematoda:Pratylenchidae). **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.31, n.1, p.7-11, 2007.

CAMPOS, A.S. **Distribuição de *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni* em citros, no Estado de São Paulo, e estudo morfométrico comparativo de populações anfimíticas de *Pratylenchus* spp.** 2002. 65 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia Agrícola) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2002.

COOLEN, W.A.; D' HERDE, C.J. **A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue**. Ghent: State Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77 p.

DEMANT,C.A.R. **Reprodução de *P. coffeae* e *P. jaehni* em citros e cafeeiro**. 2004. 34p. Dissertação (Mestrado em Proteção de Plantas) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2004.

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**, Bradenton, v.29, n.1, p.61-80, 1999.

GRAHAM, T.W. **Nematode root rot of tobacco and other plants**. Clemsom: South Carolina Agricultural Experimental Station, 1951, p. 1-25. (Technical Bulletin, 390.)

HOOPER, D.J. Extraction of free-living stages from soil. In: SOUTHEY, J.F. (Ed.). **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**. London: Her Majesty's Stationery Office, 1986. p. 5-30.

INSERRA, R.N. ; DUNCAN, L. W.; TROCOLI, A. ; dos SANTOS, J.M.; KAPLAN, D. ; VOVLAS, N. *Pratylenchus jaehni* sp.n. from citrus in Brazil and its relationship with *P. coffeae* and *P. loosi* (Nematoda: Pratylenchidae). **Nematology**, Leiden, v. 3, p. 653-665, 2001.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 48, p. 692, 1964.

OLIVEIRA, C.M.G.; KUBO, R.K.; HARAKAVA, R. Diagnose de *Pratylenchus* spp. de cafezais paulistas pela aplicação da tecnologia do código de barras do DNA. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 6, 2009, Vitória. **Anais...** Vitória: Zazen, 2009. 1 CD-ROM.

OWE, T.; CORBETT, D.C.M. Aspects of the biology of *Pratylenchus brachyurus* and *P. zaeae*. **Nematologica**, Leiden, v. 22, p. 202-211, 1976.

RADEWALD, J.D.; O'BANNON, J.H.; TOMERLIN, A.T. Temperature effects on reproduction and pathogenicity of *Pratylenchus coffeae* and *P. brachyurus* and survival of *P. coffeae* in roots of *Citrus jambhiri*. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 3, p. 390-394, 1971.

SHANER, G.; STROMBERG, E.L.; LACY, G.H.; BARKER, K.R.; PIRONE, T.P. Nomenclature and concepts of pathogenicity and virulence. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 47-66, 1992.

SILVA, R.A. **Caracterização de dois isolados de *Pratylenchus coffeae* coletados no Brasil**. 2000. 53 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.

SILVA, R.A; INOMOTO, M.M. Host-range characterization of two *Pratylenchus coffeae* isolates from Brazil. **Journal of Nematology**, Riverside, v.34, n.2, p.135-139, 2002.

TRUDGILL, D.L. Resistance to and tolerance of plants parasitic nematodes in plants. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 29, p. 167-192, 1991.

WEISCHER, B.; BROWN, D.J.F. **Conhecendo os nematóides**: nematologia geral. Tradução de FERRAZ, L.C.C.B. Moscou: Pensoft, 2001. 209 p.

WILCKEN, S.R.S.; MORI, E.S.; BACCI, M.; FERRAZ, L.C.C.B.; OLIVEIRA, C.M.G.; INOMOTO, M.M. Relationships among *Pratylenchus jaehni* and *P. coffeae* populations from Brazil. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n.3, p. 194-199, 2008.