



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

MELINA MARQUES HOLDERBAUM

DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne paranaensis* EM TRÊS GENÓTIPOS DE *Coffea arabica*

Londrina
2019

MELINA MARQUES HOLDERBAUM

DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne paranaensis* EM TRÊS GENÓTIPOS DE *Coffea arabica*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, área de concentração em Fitossanidade.

Orientadora: Prof^a Dr^a Débora Cristina Santiago
Co-orientadora: Dr^a Andressa Cristina Zamboni Machado

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

M522 HOLDERBAUM, MELINA MARQUES.
DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne paranaensis* EM TRÊS GENÓTIPOS DE *Coffea arabica* / MELINA MARQUES HOLDERBAUM.
- Londrina, 2019.
49 f. : il.

Orientador: Débora Cristina Santiago.
Coorientador: Andressa Cristina Zamboni Machado.
Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2019.
Inclui bibliografia.

1. *Coffea arabica* - Tese. 2. Melhoramento genético - Tese. 3. Nematóide das galhas - Tese. I. Santiago, Débora Cristina. II. Machado, Andressa Cristina Zamboni. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

MELINA MARQUES HOLDERBAUM

**DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne paranaensis*
EM TRÊS GENÓTIPOS DE *Coffea arabica***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia da Universidade Estadual de Londrina, área de concentração em Fitossanidade.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Dr^a. Débora Cristina Santiago
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Dr. Gustavo Hiroshi Sera
Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR

Dr. Dhalton Shiguer Ito
Instituto Agronômico do Paraná - IAPAR

Londrina, 29 de março de 2019.

DEDICO

A Deus e a minha família, em especial ao meu esposo Izaias, meu filho Natan, meus pais Maria da Guia e Ewaldo e meus irmãos Tobias e Maria Carolina.

AGRADECIMENTOS

Sou grata a Deus por esta oportunidade, permitindo alcançar meus objetivos,

Ao meu esposo, Josimar Izaias Ferreira, por todo companheirismo e dedicação, e ao meu filho, Natan Holderbaum Ferreira, um presente que Jesus nos deu.

À toda minha família, em especial, aos meus pais, Maria da Guia Marques Holderbaum e Ewaldo Holderbaum, por todo esforço e amor incondicional, sem vocês eu não teria chegado até aqui, e meus irmãos Tobias Marques Holderbaum e Maria Carolina Marques Holderbaum pelo apoio e incentivo.

À Universidade Estadual de Londrina, coordenação e aos docentes do Programa de Pós Graduação em Agronomia, por todo aprendizado e conhecimento transmitidos.

À Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR), ao Laboratório de Nematologia e ao Laboratório de Melhoramento de Café, pela disponibilidade da infraestrutura para realização deste projeto.

À professora Dr^a Débora Cristina Santiago pela orientação, conhecimento científico e experiência para o desenvolvimento deste trabalho.

À Dr^a Andressa Cristina Zamboni Machado pela oportunidade de fazer parte da sua equipe, pela orientação, amizade e por todos os ensinamentos, sempre serei grata a você e ao técnico agrícola Santino Aleandro da Silva por tudo que fizeram.

Ao Dr. Gustavo Hiroshi Sera e ao Dr. Tumoru Sera, pelos ensinamentos e experiência transmitidos.

Aos membros integrantes da comissão examinadora pela presença e contribuições que foram muito importantes pra a melhoria do trabalho, em especial o Dr. Dhalton Shiguer Ito.

A toda colaboração da equipe do Laboratório de Nematologia do IAPAR e a equipe do Laboratório de Melhoramento Genético de Café.

Aos amigos por todas as palavras de incentivo e momentos de alegria que me proporcionaram.

A todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho.

HOLDERBAUM, Melina Marques. **Desenvolvimento e reprodução de *Meloidogyne paranaensis* em três genótipos de *coffea arábica***. 2019. 47 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento e reprodução de *Meloidogyne paranaensis* em três genótipos de café arábica, pela análise de penetração, desenvolvimento de juvenis e reprodução de *M. paranaensis* nas raízes. Foram utilizadas as cultivares IPR 106 e Mundo Novo IAC 376-4 como padrões de resistência e suscetibilidade, respectivamente, além do genótipo IAPAR 88480-8-4. Para o experimento de avaliação da multiplicação do nematoide, o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 7 (genótipos x período de avaliação), com sete repetições. Foram inoculados 1000 ovos e J2 de *M. paranaensis* (população inicial = Pi) e os períodos de avaliação foram 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após a inoculação (DAI) do nematoide, sendo obtida a população final do nematoide (Pf) em cada período. No experimento para observação da penetração e desenvolvimento dos juvenis nos genótipos de café avaliados, o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 8 (genótipos x períodos de avaliação), sendo as avaliações realizadas aos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 DAI, com cinco repetições, sendo realizada também avaliação do fator de reprodução (FR) aos 60 e 104 DAI. As plantas no estágio cotiledonar foram transplantadas para tubetes e inoculadas quando atingiram o estágio de um par de folhas, com suspensão de inóculo contendo 3000 ovos de *M. paranaensis* (penetração e desenvolvimento de juvenis). As avaliações foram iniciadas aos 5 DAI, sendo feitas avaliações a cada cinco dias para o estudo da penetração e desenvolvimentos dos juvenis do nematoide e, aos 60 e 104 DAI para FR. Concluiu-se que o genótipo IAPAR 88480-8-4, que tem apresentado bom desenvolvimento em condições de campo, não apresenta resistência a *M. paranaensis*, apesar de ter sido observado atraso no desenvolvimento inicial do nematoide nesse genótipo. Estudos posteriores que visem elucidar a tolerância desse genótipo ao nematoide devem ser realizados, para comprovar as observações de campo quanto ao bom desenvolvimento. IPR 106 apresenta maior quantidade inicial de nematoides, mas a taxa de crescimento da população é menor que a dos outros genótipos. Além disso, IPR 106 apresenta valores significativamente menores de FR e Nema.g⁻¹ que aqueles observados nos demais genótipos, confirmando sua importância para o manejo desse nematoide em condições de campo. Entretanto, sua utilização em áreas infestadas deve ser acompanhada de manejo para redução populacional de *M. paranaensis*.

Palavras chave: *Coffea arábica*. Melhoramento genético. Nematoide das galhas.

HOLDERBAUM, Melina Marques. **Development and reproduction of *Meloidogyne paranaensis* in three *coffea arabica* genotypes** 2019. 47 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate development and reproduction of *Meloidogyne paranaensis* in three Arabic coffee genotypes through the analyze of the biology and development of *M. paranaensis* in the genotypes. Cultivars IPR 106 and Mundo Novo IAC 376-4 were included as resistant and susceptible standards, respectively, besides the genotype IAPAR 88480-8-4. To evaluate the nematode multiplication, experiment was conducted in a completely randomized design in factorial arrangement 3 x 7 (genotypes x evaluation date), with 7 replicates. 1,000 *M. paranaensis* eggs and J2 were inoculated (initial population = IP) and the evaluation dates were 60, 90, 120, 150, 180, 210, and 240 days after inoculation (DAI), in which the final nematode population (FP) was obtained in each date. To observe the penetration, the development and the reproduction factor (RF) of *M. paranaensis* in the coffee genotypes evaluated, experiments were conducted in the completely randomized design, in factorial arrangement 3 x 8, with five replicates. Plants in the cotyledonal stage were transplanted to plastic tubes and inoculated when reached the one-leaf pair stage, and a suspension containing 3,000 *M. paranaensis* eggs (penetration and development) was inoculated. Evaluations were done 5 DAI, with evaluations at each five days to study the nematode penetration and development and at 60 e 104 DAI to RF. We can conclude that IAPAR 88480-8-4, which has been showed good development under field conditions, since in the presence of *M. paranaensis*, did not had resistance to this nematode. Future studies to elucidate the tolerance level of this genotype to this nematode must be realized to prove the field observations in relation to its good development in the presence of the nematode. in relation to IPR 106, although of the lower RF values obtained in both experiments, we verified that this cultivar allowed the nematode multiplication and, therefore, its use in infested areas must be accompanied by a management to reduce the *M. paranaensis* population.

Key words: *Coffea Arabica*. Genetic breeding. Root-knot nematode.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estádios de desenvolvimento de <i>Meloidogyne</i> spp. Adaptado de: Ferraz; Brown (2016).....	24
Figura 2	Curvas da análise de regressão realizada com os dados de fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (Nema.g-1) de <i>Meloidogyne paranaensis</i> nos genótipos de <i>Coffea arabica</i> , IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 aos 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 DAI.....	31
Figura 3	Número de juvenis de segundo estágio (J2) pré-parasitas nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação.....	33
Figura 4	Número de juvenis de segundo estágio (J2) parasitas nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação.....	33
Figura 5	Número de juvenis de terceiro estágio (J3) nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação.....	34
Figura 6	Número de juvenis de quarto estágio (J4) nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação.....	35
Figura 7	Número de fêmeas imaturas nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação.....	36
Figura 8	Número de fêmeas maduras nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação.....	37
Figura 9	Número total de <i>Meloidogyne paranaensis</i> observado no sistema radicular dos genótipos IPR 106 (A), IAPAR 88480-8-4 (B) e Mundo Novo IAC 376-4 (C), ao longo de um ciclo reprodutivo.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (Nema.g ⁻¹) de <i>Meloidogyne paranaensis</i> em três genótipos de <i>Coffea arabica</i> , IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4, aos 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após a inoculação 28
Tabela 2	Quadro da análise de variância para os dados de fator de reprodução (FR) na análise fatorial entre datas de avaliação e genótipos de <i>Coffea arabica</i> 29
Tabela 3	Parâmetros estimados ($(\beta_0)^{\wedge}$ e $(x_i)^{\wedge}$) para o ajuste do modelo reparametrizado usado para avaliação dos genótipos de <i>Coffea arabica</i> estudados, Mundo Novo, IAPAR 88480-8-4 e IPR 106, em função do fator de reprodução de <i>Meloidogyne paranaensis</i> 30
Tabela 4	Quadro da análise de variância para os dados de número de nematoide por grama de raízes (Nema.g ⁻¹) na análise fatorial entre datas de avaliação e genótipos de <i>Coffea arabica</i> 30
Tabela 5	Parâmetros estimados ($(\beta_0)^{\wedge}$ e $(x_i)^{\wedge}$) para o ajuste do modelo reparametrizado usado para avaliação dos genótipos de <i>Coffea arabica</i> estudados, Mundo Novo, IAPAR 88480-8-4 e IPR 106, em função do número de nematoides por grama de raízes (Nema.g ⁻¹) de <i>Meloidogyne paranaensis</i> 31
Tabela 6	Massa fresca de raiz (MFR), fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (Nema.g ⁻¹) de <i>Meloidogyne paranaensis</i> nos genótipos de <i>Coffea arabica</i> IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4. Inoculação de 3000 ovos e avaliação aos 60 e 104 dias após a inoculação 38

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	ASPECTOS GERAIS DO CAFEIEIRO	11
2.2	NEMATOIDES NO CAFEIEIRO	12
2.3	MANEJO DE NEMATOIDES	13
2.4	MELOIDOGYNE PARANAENSIS	16
2.5	RESISTÊNCIA A MELOIDOGYNE PARANAENSIS	17
3	ARTIGO A	19
3.1	RESUMO	19
3.2	ABSTRACT	19
3.3	INTRODUÇÃO	20
3.4	MATERIAL E MÉTODOS	21
3.4.1	Material Vegetal	21
3.4.2	Obtenção, Quantificação e Inoculação dos Nematoides	21
3.4.3	Avaliação Da Multiplicação De M. Paranaensis Nos Genótipos De Café.....	22
3.4.3.1	Condução e instalação do experimento	22
3.4.3.2	Avaliação.....	22
3.4.4	Análise Da Penetração, Desenvolvimento De Juvenis E Reprodução De Meloidogyne Paranaensis Nos Genótipos De Café.....	23
3.4.4.1	Condução e instalação do experimento	23
3.4.4.2	Coloração das raízes e avaliação	23
3.4.5	Análises Estatísticas	25
4	CONCLUSÕES GERAIS	40
	REFERÊNCIAS	41

1 INTRODUÇÃO

O café é uma das principais commodities agrícolas mundiais, sendo o Brasil o maior produtor e exportador, produzindo aproximadamente um terço do café consumido no mundo. As principais espécies cultivadas no mundo são *Coffea arabica* L. e *C. canephora* P. A cultura do cafeeiro sofre perdas econômicas por diversos fatores bióticos e abióticos que interferem na produtividade e qualidade do produto. Os fitonematoides do gênero *Meloidogyne* representam um grave problema para a cafeicultura brasileira, ocorrendo com maior severidade nos Estados do Paraná, São Paulo, Espírito Santo, Goiás e Minas Gerais.

Na cafeicultura paranaense, *Meloidogyne incognita* e *M. paranaensis* são as principais espécies, afetando drasticamente o sistema radicular das plantas, ocasionando perdas na produtividade e até a morte de plantas. Em áreas já infestadas, o cultivo de café principalmente com cultivares suscetíveis se torna inviável economicamente, pois a adoção de outras medidas de controle tem sido limitada e difícil de ser realizada.

Os controles químico, biológico e cultural diminuem a população dos nematoides, porém quando utilizados de forma individual, nem sempre são eficientes, devido ao fato de o café ser uma cultura perene, permanecendo por longo período em campo. Portanto, a utilização de cultivares resistentes é a medida de controle mais eficiente, constituindo uma das principais formas de manejo de *Meloidogyne* spp.

A resistência em cafeeiros a *M. paranaensis* tem sido observada em poucas cultivares de café arábica. Estas cultivares apresentam elevado nível de resistência, entretanto, existem poucos estudos relatando a existência de outros genótipos da cultura com resistência a *M. paranaensis*. Estudos realizados identificaram resistência intermediária em genótipos derivados de Sarchimor IAC 1669-33, porém ainda não foi estudado como estes se comportam em diferentes níveis populacionais e como afetam a biologia e reprodução de *M. paranaensis*.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento e reprodução de *M. paranaensis* em três genótipos de *Coffea arabica*, com base em análises de penetração, desenvolvimento de juvenis e reprodução de *M. paranaensis* nos sistemas radiculares.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS DO CAFEIEIRO

O cafeeiro pertence à classe das Angiospermas, subclasse Eudicotiledônea, família Rubiaceae e gêneros *Coffea* e *Psilanthus*. As espécies do gênero *Coffea* apresentam anteras e estigmas proeminentes e estilo longo, enquanto que o gênero *Psilanthus* possui o estilo curto e flores com anteras e estigmas inclusos, que não ultrapassam o tubo da corola (CARVALHO, 2008). O gênero *Coffea* reúne 124 espécies (DAVIS et al., 2011), mas apenas *C. arabica* e *C. canephora* são cultivadas comercialmente (GUERREIRO FILHO et al., 2008). As espécies *C. liberica*, *C. dewevrei*, *C. congensis*, *C. racemosa*, *C. eugenoides*, *C. kapakata*, entre outras, são utilizadas no melhoramento genético (CARVALHO et al., 2008).

O café é uma das principais commodities agrícolas mundiais, produzido em mais de 50 países em desenvolvimento (ICO, 2019). No Brasil, a área total cultivada (café arábica e conilon) totaliza 2,16 milhões hectares, tendo uma estimativa de produtividade entre 27,4 e 29,58 sacas por hectare. Os principais estados produtores são Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás, Mato Grosso e Amazonas. A área plantada de café arábica no país soma 1,74 milhão de hectares, correspondendo a 80,7% da área existente, e estima-se uma produtividade entre 24,67 e 36,06 sacas por hectare (CONAB, 2019).

O cafeeiro apresenta um sistema radicular pivotante, com algumas raízes axiais que crescem verticalmente a uma profundidade de aproximadamente 2 metros e muitas raízes laterais. Os ramos apresentam nós e entrenós. Cada nó possui duas folhas opostas em relação ao eixo do ramo ou gemas. Os entrenós não possuem folhas ou gemas, tendo seu tamanho geneticamente controlado, determinando tanto em altura quanto em diâmetro da copa o porte da planta (SAKIYAMA et al., 2015).

O café é formado por dois tipos de ramos morfológicamente distintos, denominados ortotrópico que cresce verticalmente e emite o primeiro par de ramos plagiotrópicos a partir do sexto ao décimo nó. O ramo plagiotrópico cresce lateralmente numa inclinação variável em relação ao ramo ortotrópico (SAKIYAMA et al., 2015).

As sementes apresentam normalmente formato plano convexo, algumas vezes oval ou elíptico, e são constituídas por espermoderma, chamada também de película prateada, endosperma, um tecido triploide ($3n$) de maior volume na semente e embrião, que é formado por hipocótilo e dois cotilédones cordiformes, localizados na superfície convexa da

semente (GUIMARÃES; MENDES, 1998). O fruto do café é climatérico, tendo como desenvolvimento as fases de chumbinho, expansão do fruto, granação, maturação e senescência (SAKIYAMA et al., 2015).

2.2 NEMATOIDES NO CAFEIEIRO

Na cafeicultura brasileira, destacam-se os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematoides das galhas radiculares, sendo as espécies que mais causam danos *M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis* (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2007). Ocorrem em diversas regiões produtoras no Brasil, sendo uma ameaça constante à produtividade das lavouras. São patógenos biotróficos, que penetram o ápice radicular das plantas hospedeiras e migram em direção ao cilindro vascular, nos quais induzem a diferenciação das células radiculares em células gigantes, hipertrofiadas, que constituem local de alimentação necessário para o seu desenvolvimento (ROSSO et al., 2011).

Como resultado do parasitismo, as raízes do cafeeiro infectadas apresentam deficiência na absorção e translocação de nutrientes para a planta, ficando debilitada e podendo chegar conseqüentemente à morte (SALGADO et al., 2011).

As espécies *M. incognita* e *M. paranaensis* têm sido relatadas como mais agressivas e prejudiciais quando comparadas a *M. exigua*, pela intensidade dos danos que causam. Porém *M. exigua* está amplamente disseminada em importantes regiões cafeeiras do país, como Mogiana - SP, Alto Paranaíba - MG, Triângulo Mineiro - MG, Zona da Mata - MG e Sul de Minas - MG (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2001). Sua ocorrência, também, foi relatada nos Estados do Paraná, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Bahia, Distrito Federal e Ceará (SANTOS, 1997).

No Brasil, *M. paranaensis* Carneiro et al., 1996 está amplamente disseminado e já foi encontrado nos Estados do Paraná (PORTZ et al., 2006), São Paulo (CARNEIRO et al., 2005), Minas Gerais (CASTRO; NAVES; CAMPOS, 2003; CASTRO; CAMPOS, 2004; CASTRO et al., 2008), Espírito Santo (BARROS et al., 2011) e Goiás (SILVA; OLIVEIRA; ZAMBOLIM, 2009). Em Minas Gerais, *M. paranaensis* está se disseminando em várias regiões e está se tornando um problema grave para a cultura.

Meloidogyne incognita foi identificado em propriedades cafeeiras dos Estados do Espírito Santo (LORDELLO; HASHIZUME, 1971), Minas Gerais (LIMA et al., 1985; CAMPOS; MELLES, 1987) e Bahia (SOUZA et al., 2000), sendo encontrado também

na Guatemala, Havaí (CARNEIRO; COFCEWICZ, 2008) e, recentemente, no México (LOPEZ-LIMA et al., 2015).

Foram caracterizadas duas raças (1 e 2) em *M. exigua*, quatro raças (1, 2, 3 e 4) em *M. incognita* e somente uma em *M. paranaensis* (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2001). Em um estudo de levantamento parcial de *Meloidogyne* spp. em cafeeiros na região noroeste do estado do Paraná (ITO et al., 2013), em um total de 26 amostras analisadas, observaram que 73,1% continham *M. paranaensis*, 15,4% *M. incognita* e 7,7% uma mistura de *M. incognita* e *M. javanica*. Segundo Portz et al. (2006), das 85 amostras avaliadas, foram encontrados 40 a 45% de frequência de *M. exigua* e 33 a 60% de *M. paranaensis* parasitando cafeeiros em dois municípios da região Oeste do Paraná.

Considerados de importância secundária, por não causarem danos significativos ao cafeeiro (PINHEIRO et al., 2000), outros fitonematoides também são encontrados associados à cultura, como os dos gêneros *Aphelenchus*, *Mesocriconema*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchus* e *Tylenchus* (CAMPOS et al., 1985). Algumas espécies de *Pratylenchus* podem causar prejuízos à cultura, sendo as principais espécies para a cafeicultura brasileira *P. coffeae*, *P. jaehni* e *P. brachyurus* (OLIVEIRA; ROSA, 2018).

2.3 MANEJO DE NEMATOIDES

Diversas espécies de fitonematoides considerados de importância para agricultura estão presentes nas áreas de produção de café (FERRAZ et al., 2010), limitando a viabilidade de cultivo, devido às dificuldades para o controle, uma vez que a erradicação é praticamente impossível. Portanto, medidas de manejo devem ser adotadas para evitar sua disseminação, como a escolha de mudas sadias livres de nematoides, a limpeza correta de máquinas e implementos, que podem carregar partículas de solo contaminadas (REIS; CUNHA, 2010), assim como evitar sua disseminação em solos, águas e culturas com fitonematoides (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2001).

As estratégias de manejo disponíveis incluem o controle cultural, químico, biológico e genético (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2001). No Brasil, são utilizadas principalmente as seguintes estratégias de manejo: rotação de culturas, manejo do solo com plantas não hospedeiras e o uso de porta-enxerto resistente ou variedades resistentes (MACHADO et al., 2013).

A utilização de rotação de culturas é uma medida de controle difícil de ser adotada para espécies de nematoides com ampla gama de hospedeiros, como é o caso do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.), necessitando um planejamento criterioso para o uso desse sistema, com o conhecimento e identificação das espécies presentes na área de cultivo e as características das plantas introduzidas no sistema; ao serem planejadas corretamente, é possível reduzir a densidade populacional dos nematoides com a utilização de plantas de cobertura ou adubação verde (FERRAZ et al., 2010).

O controle químico, também, é uma medida utilizada para o manejo destes parasitas, que busca reduzir a densidade populacional dos nematoides em curto prazo. Entretanto, para o uso de tais produtos, é necessário fazer uma análise levando-se em consideração o custo-benefício da sua aplicação e a condição econômica do agricultor, para que essa medida seja utilizada de maneira adequada (SALGADO et al., 2011).

Anteriormente, o principal método de controle em viveiros de café era a utilização de fumigantes, como brometo de metila, que por ser muito tóxico, teve sua comercialização e produção proibidos (CAMPOS; SILVA, 2008). Os grupos químicos cadusafós (organofosforado), terbufós (organofosforado), fenamifós (organofosforado), fostiazato (organofosforado), carbofurano (metilcarbamato de benzofuralina) e fluensulfona (fluroalkenyle (-thiother)) são os nematicidas registrados para a cultura do café (AGROFIT, 2018).

Recentemente, Arita (2018) avaliou a eficiência de quatro nematicidas químicos (cadusafós, carbofurano, fluopyram e fluensulfone) no controle de *M. paranaensis*, em condições de casa de vegetação, quando aplicados no momento do plantio e 60 dias após a inoculação do nematoide, utilizando-se a cultivar suscetível Mundo Novo. Os resultados mostraram que fluensulfone e fluopyram, moléculas recentes e com menor toxicidade, foram bastante eficientes em reduzir a população do nematoide em ambas as datas de aplicação. O autor relata reduções do fator de reprodução (FR) do nematoide de 99 a 100% com a utilização destes nematicidas. Neste estudo, carbofurano e cadusafós causaram fitotoxidez às plantas de café.

Alternativamente ao controle químico, o controle biológico também é uma opção para o manejo de nematoides, sendo caracterizado pela ação de organismos que podem limitar ou estabilizar as populações dos nematoides através de mecanismos de competição, parasitismo, predação e produção de compostos tóxicos. Vários atributos são necessários para que um organismo seja considerado um bom agente de controle biológico, como não ser patogênico às plantas, animais ou seres humanos, ser eficiente na redução da população de

nematoides em alta densidade, sobreviver em condições extremas de solo, ser facilmente e economicamente produzidos em massa, entre outros (FERRAZ et al., 2010).

Fungos considerados nematófagos podem ser divididos em endoparasitas, predadores, parasitas de ovos e fêmeas e aqueles que produzem metabólitos tóxicos aos nematoides. Devido a essa capacidade, são estudados diversos gêneros e espécies no controle biológico de nematoides, sendo conhecidos cerca de 70 gêneros e 160 espécies (FERRAZ et al., 2010). O primeiro relato no Brasil da utilização do fungo *Purpureocillium lilacinum* como parasita de ovos de *Meloidogyne* sp. foi feito por Freire e Bridge (1985).

Na cultura do café, foi avaliada a eficácia na utilização de fungos dos gêneros *Arthrobotrys*, *Paecilomyces* e *Verticilium* para controle de *M. exigua* (CAMPOS e CAMPOS 1997). Para *M. incognita* e *M. javanica*, foi observado potencial de controle entre os isolados de *Arthrobotrys* spp. em estudos de predação *in vitro* (OLIVEIRA et al. 2003). Para *M. paranaensis*, foi observado potencial de controle em isolados de *P. lilacinus* que mostraram habilidade para infectar ovos em meio BDA (CADIOLI et al., 2007). Além disso, Arita (2017) avaliou a eficiência de *P. lilacinus* e *Trichoderma harzianum* no controle de *M. paranaensis* em plantas de café cultivar Mundo Novo e observou que *P. lilacinus* proporcionou melhora no desenvolvimento das plantas de café, especialmente na ausência do nematoide, o que poderia constituir um efeito fitotônico à cultura.

A utilização da resistência genética é considerada a medida de controle mais eficiente, sendo uma das principais estratégias de manejo de fitonematoides, possibilitando a manutenção de populações do patógeno abaixo do nível de dano econômico, em especial os do gênero *Meloidogyne* que apresentam uma interação especializada e complexa com seus hospedeiros (REIS; CUNHA, 2010).

Existem alguns mecanismos de resistência a nematoides, como os pré-infeccionais, nos quais os processos infecciosos destes são completamente inibidos e os pós-infeccionais que, ainda que o nematoide penetre as raízes das plantas, podem inibir o desenvolvimento do patógeno. Também podem ser afetados por substâncias nematotóxicas pré-existentes nos tecidos vegetais, como compostos fenólicos, ácido clorogênico, entre outros (FERRAZ et al., 2010). Os mecanismos de defesa expressos em uma planta podem interferir nas diversas fases do ciclo de vida e do parasitismo do nematoide, impedindo ou prevenindo a sua multiplicação (ROBERTS, 2002).

2.4 MELOIDOGYNE PARANAENSIS

Inicialmente, *M. paranaensis* foi identificado como *M. incognita*, sendo considerado apenas uma variante desta espécie que expressava alta virulência ao cafeeiro. Por volta dos anos 1990, essa população representava cerca de 52% das infestações causadas por nematoides de galhas no Paraná, sendo posteriormente descrita e designada como *M. paranaensis*, com base em diferenças morfológicas e biológicas (CARNEIRO et al., 1996). A diferenciação da espécie pode ser realizada, também, com marcadores do tipo SCAR (RANDIG et al., 2002; 2004) e através de seus fenótipos de α -esterase [Est P1 (=Est F1) e P2] (CARNEIRO et al., 2004).

Meloidogyne paranaensis possui padrão perineal retangular a ovalado, geralmente com arco dorsal alto, quadrado, as estrias laterais variam de finas a grossas, lisas ou onduladas, as linhas do campo lateral são descontínuas, levemente marcadas por pausas e garfos. As variantes apresentam configuração triangular das estrias na região após o ânus (CARNEIRO et al., 1996).

A fêmea possui corpo globoso e a região anterior forma um “pescoço”, possui coloração esbranquiçada e deposita todos os ovos em um único local da raiz, originando um aglomerado ou massa que pode conter mais de 400 ovos, onde uma substância aderente secretada pelas glândulas retais da fêmea os mantêm unidos. No interior destes ovos, estão contidos juvenis de primeiro estágio (J1), que sofrem a primeira ecdise originando juvenis de segundo estágio (J2), ainda dentro dos ovos, conhecidos como J2 pré-parasitas, de corpo filiforme e móveis, que, ao saírem dos ovos, migram no solo procurando raízes do hospedeiro (FERRAZ, 2018).

Após a penetração, que ocorre preferencialmente nos ápices radiculares, o J2 pré-parasita migra intercelularmente para o cilindro vascular, onde se posiciona, estabelecendo ali o parasitismo, injetando secreções esofagianas através do estomatoestilete, que estimulam a formação de um grupo de células modificadas, hipertrofiadas, com citoplasma denso e núcleos evidentes (FERRAZ, 2018). São conhecidas como células nutridoras, essenciais à nutrição e ao desenvolvimento do nematoide, bem como à produção de descendentes (FERRAZ, 2018).

Após o estabelecimento de seu parasitismo na planta, o J2 fica mais robusto, tornando-se sedentário, pois perde sua capacidade de se movimentar, sendo agora denominado de J2 parasita. Atingindo o ápice de seu crescimento, sofre a segunda ecdise, originando juvenil de terceiro estágio (J3) que, em seguida, dá origem ao juvenil de quarto

estádio (J4). Nestas duas últimas fases, não conseguem mais se alimentar, pois perdem a funcionalidade do estilete bucal e têm o esôfago parcialmente degenerado (FERRAZ, 2018). Por fim, sofre a última ecdise, formando-se fêmeas e/ou machos. Esta espécie se reproduz por partenogênese mitótica obrigatória, sendo assim, não necessita do macho para completar o ciclo de vida, possuindo populações basicamente constituídas por fêmeas. Os machos resultantes de reversão sexual do J4 possuem corpo filiforme e bem alongado, com um só testículo e cauda desprovida de bolsa de cópula (bursa); aparentemente, não são parasitas e aparecem apenas sob condições ambientais especiais, como estresse nutricional e superpopulação na raiz atacada (FERRAZ, 2018).

Os cafeeiros infestados por este nematoide têm o sistema radicular danificado, inclusive a raiz principal, apresentam severos descortiçamentos, rachaduras e necrose no tecido do córtex, podendo ocorrer redução no sistema radicular. Na parte aérea, apresentam crescimento reduzido, sintomas de deficiências minerais, declínio geral e desfolha acentuada, podendo levar à morte da planta (CARNEIRO et al., 1996).

2.5 RESISTÊNCIA A *MELOIDOGYNE PARANAENSIS*

O uso de resistência genética leva à redução da densidade populacional de nematoides, pois os mecanismos de resistência da planta impedem o desenvolvimento do nematoide, ou proporcionam taxas baixas de reprodução do patógeno, reduzindo os danos à cultura (SALGADO et al., 2014). São escassas as cultivares de *C. arabica* com resistência a *M. paranaensis*, sendo esta característica identificada em algumas espécies de *C. canephora* (SERA et al., 2006) e em acessos de *C. arabica* da Etiópia (ANTHONY et al., 2003; BOISSEAU et al., 2009; FATOBENE et al., 2017). Em cafeeiros arábicos com introgressão de genes de *C. canephora*, como na linhagem 925 de Icatu (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2007) e nos seus derivados (SHIGUEOKA et al., 2016a), também, pode ser encontrada resistência para este nematoide.

Foi identificada resistência a *M. exigua* em acessos de *C. racemosa* (ANTHONY et al., 2003) e em cafeeiros derivados do Híbrido de Timor (HT) (GONÇALVES; PEREIRA, 1998; SILVAROLLA et al., 1998; RIBEIRO et al., 2005; SALGADO et al., 2005; DIAS et al., 2009), que é um cafeeiro arábico com genes de *C. canephora* que foi utilizado em vários programas de melhoramento no mundo, como fonte de resistência ao fungo *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., agente causal da ferrugem alaranjada (VÁRZEA e MARQUES, 2005). A resistência a *M. paranaensis* em derivados de HT foi

relatada em apenas alguns estudos (SERA et al., 2009; SALGADO et al. 2014; SHIGUEOKA et al., 2016b).

Anthony et al. (2005) relatam, a partir de estudo histopatológico, que a resistência conferida pelo gene *Mex-1* está associada a um fenótipo da reação de hipersensibilidade (HR), no qual tinham sido observadas alterações ultraestruturais após a infecção por *M. exigua*. A resistência do cafeeiro aos nematoides poderia, portanto, estar associada à reação de hipersensibilidade (RODRIGUES et al., 2000) com base na caracterização do gene de resistência *Mex-1* (NOIR et al., 2003). Para *M. paranaensis*, Shigueoka et al. (no prelo), também, observaram que o mecanismo de resistência de cultivares de café a este nematoide se dá por hipersensibilidade, a exemplo do que ocorre com *M. exigua*.

O uso de enxertia hipocotiledonar permitiu, em curto prazo, o cultivo de café em áreas infestadas por nematoides a partir de 1987 (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2007). Nesse sentido, relata-se que o porta-enxerto Apatã IAC-2258 de *C. canephora* é resistente a *M. exigua* (FAZUOLI et al., 1987; SALGADO et al., 2005), *M. incognita* (FAZUOLI et al., 1987; SERA et al., 2006) e *M. paranaensis* (SERA et al., 2006).

Atualmente, vem sendo recomendada a cultivar de café arábica IPR 100 (“Catuaí” x (“Catuaí” x “série BA-10”), que possui resistência a *M. paranaensis* e *M. incognita*, lançada em 2012 (SERA et al., 2017). Em 2017, o IAPAR lançou outra cultivar de *C. arabica*, denominada IPR 106 (“Icatu”), com resistência a *M. paranaensis* e *M. incognita* (ITO et al., 2008). Assim, apenas estas duas cultivares de café arábica resistentes a *M. paranaensis* estão disponíveis.

3 ARTIGO A

DESENVOLVIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Meloidogyne paranaensis* EM TRÊS GENÓTIPOS DE *Coffea arabica*

3.1 RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento e reprodução de *Meloidogyne paranaensis* em três genótipos de cafeeiro, pela análise de penetração, desenvolvimento de juvenis e reprodução de *M. paranaensis* nas raízes. Foram utilizadas as cultivares IPR 106 e Mundo Novo IAC 376-4 como padrões de resistência e suscetibilidade, respectivamente, além do genótipo IAPAR 88480-8-4. Para o experimento de avaliação da multiplicação do nematoide, o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 7 (genótipos x período de avaliação), com sete repetições. Foram inoculados 1000 ovos e J2 de *M. paranaensis* (população inicial = Pi) e os fatores consistiram em três genótipos e sete períodos de avaliação (60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após a inoculação do nematoide, DAI), sendo obtida a população final do nematoide (Pf) em cada período. No experimento para observação da penetração e desenvolvimento dos juvenis nos genótipos de café avaliados, o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 8 (genótipos x períodos de avaliação), com avaliações aos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 DAI, com cinco repetições, sendo realizada também avaliação do fator de reprodução (FR). As plantas no estágio cotiledonar foram transplantadas para tubetes e inoculadas quando atingiram o estágio de um par de folhas, com suspensão de inóculo contendo 3000 ovos de *M. paranaensis* (penetração e desenvolvimento de juvenis). As avaliações foram iniciadas aos 5 DAI, sendo feitas a cada cinco dias para o estudo da penetração e desenvolvimento dos juvenis do nematoide e, para FR aos 60 e 104 DAI. Neste trabalho, concluiu-se que o genótipo IAPAR 88480-8-4, que, mesmo na presença de *M. paranaensis*, tem apresentado bom desenvolvimento em condições de campo, não apresenta resistência a esse nematoide. Assim, novos estudos que visem elucidar a tolerância deste genótipo ao nematoide devem ser realizados para comprovar as observações de campo quanto ao bom desenvolvimento na presença de *M. paranaensis*. Em relação a IPR 106, apesar dos menores valores de FR obtidos em ambos os experimentos, verificou-se que este permite a multiplicação do nematoide e, portanto, sua utilização em áreas infestadas deve ser acompanhada de manejo para redução populacional de *M. paranaensis*.

Palavras chave: *Coffea arabica*, melhoramento genético, nematoide das galhas.

DEVELOPMENT AND REPRODUCTION OF *Meloidogyne paranaensis* IN THREE *Coffea arabica* GENOTYPES

3.2 ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the development and reproduction of *Meloidogyne paranaensis* in three Arabic coffee genotypes, through the analysis of the biology and development of *M. paranaensis* in the roots. Cultivars IPR 106 and Mundo Novo IAC 376-4 were included as resistant and susceptible standards, respectively, besides the genotype IAPAR 88480-8-4. To evaluate the nematode multiplication, an experiment was conducted in a completely randomized design in factorial arrangement 3 x 7 (genotypes x evaluation date),

with 7 replicates. 1,000 *M. paranaensis* eggs and J2 (initial population = IP) were inoculated and the factors consisted of three genotypes and seven evaluation dates after nematode inoculation (DAI) (60, 90, 120, 150, 180, 210, and 240 DAI), in which the final nematode population (FP) was obtained in each date. To observe the penetration, the development and the reproduction factor (RF) of *M. paranaensis* in the coffee genotypes evaluated, experiments were conducted in the completely randomized design, in factorial arrangement 3 x 8, with five replicates. Plants in the cotyledonal stage were transplanted to plastic tubes and inoculated when reached the one-leaf pair stage, with a suspension containing 3,000 *M. paranaensis* eggs (penetration and development of juveniles). Evaluations were done from 5 DAI, with evaluations at each 5 days to study the nematode penetration and development of juveniles and to RF at 60 and 104 DAI. We can conclude that IAPAR 88480-8-4, which has been showed good development under field conditions, since in the presence of *M. paranaensis*, did not had resistance to this nematode. Future studies to elucidate the tolerance level of this genotype to this nematode must be realized to prove the field observations in relation to its good development in the presence of the nematode. in relation to IPR 106, although of the lower RF values obtained in both experiments, we verified that this cultivar allowed the nematode multiplication and, therefore, its use in infested areas must be accompanied by a management to reduce the *M. paranaensis* population.

Key words: *Coffea arabica*, genetic breeding, root-knot nematode.

3.3 INTRODUÇÃO

O café é uma das principais commodities agrícolas mundiais, produzido em mais de 50 países em desenvolvimento (ICO, 2019). No Brasil, a área total cultivada (café arábica e conilon) totaliza 2,16 milhões hectares, com uma estimativa de produtividade entre 27,4 e 29,58 sacas por hectare. Os principais estados produtores são Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás, Mato Grosso e Amazonas (CONAB, 2019).

Diversas espécies de fitonematoides consideradas de importância para agricultura estão presentes nas áreas de produção de café (FERRAZ et al., 2010), limitando a viabilidade de cultivo, devido às dificuldades para o controle (REIS; CUNHA, 2010). Na cafeicultura brasileira, destacam-se os nematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, conhecidos como nematoides das galhas radiculares, sendo as espécies que mais causam danos *M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis* (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2007).

São escassas as cultivares de *C. arabica* com resistência a *M. paranaensis*, sendo esta característica identificada em algumas espécies de *C. canephora* (SERA et al., 2006) e em acessos de *C. arabica* da Etiópia (ANTHONY et al., 2003; BOISSEAU et al., 2009). A cultivar de café arábica IPR 100 foi lançada em 2012 e possui resistência a *M. paranaensis* e *M. incognita* (SERA et al., 2017). Em 2017, o IAPAR lançou outra cultivar de

C. arabica, denominada IPR 106, com resistência a *M. paranaensis* e *M. incognita* (ITO et al., 2008).

Estudos realizados por Shigueoka et al. (2016b) identificaram resistência intermediária em genótipos derivados de Sarchimor IAC 1669-33, porém, ainda não foi estudado como estes se comportam em diferentes níveis populacionais e como afetam a biologia e reprodução de *M. paranaensis*. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o desenvolvimento e reprodução de *M. paranaensis* em três genótipos de café arábica, Mundo Novo IAC 376-4, IPR 106 e IAPAR 88480-8-4, com base em análises de penetração, desenvolvimento de juvenis e reprodução de *M. paranaensis*.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1 Material Vegetal

Foi avaliado um genótipo derivado de Sarchimor IAC 1669-33 (Villa Sarchi CIFIC 371/10 x Híbrido de Timor CIFIC 832/2), denominado IAPAR 88480-8-4, originado da linhagem F₅ da seleção IAPAR 88480-8 que apresentou resistência intermediária a *M. paranaensis*. IAPAR 88480-8-4 é um genótipo de *C. canephora* originado do Híbrido de Timor CIFIC 832/2 (SHIGUEOKA et al., 2016b). Além disso, em condições de campo, este genótipo tem apresentado bom desenvolvimento, mesmo na presença de *M. paranaensis* (Gustavo Hiroshi Sera, comunicação pessoal). Como comparativos utilizou-se as cultivares Mundo Novo IAC 376-4 e IPR 106, sabidamente suscetível e resistente, respectivamente, ao nematoide.

3.4.2 Obtenção, Quantificação e Inoculação dos Nematoides

A população de *M. paranaensis* utilizada como inóculo nos experimentos foi obtida no município de Londrina (Paraná, Brasil). A confirmação específica de *M. paranaensis* foi realizada através de análise de seus fenótipos de α -esterase (CARNEIRO; ALMEIDA, 2000) e exame do padrão perineal de fêmeas (HARTMAN; SASSER 1985).

Para obtenção da população purificada, uma massa de ovos de uma única fêmea foi separada e multiplicada em tomateiro cv. Santa Clara. Após essa multiplicação, a população foi mantida em cafeeiro cv. Mundo Novo IAC 376-4. Cerca de 60 dias antes da instalação do experimento, ovos e J2 foram extraídos das raízes do cafeeiro e inoculados em

plantas de tomate cv. Santa Clara para multiplicação do inóculo. O inóculo foi, então, obtido pela extração de ovos e J2 a partir das raízes destas plantas de tomateiro (BONETI; FERRAZ, 1981). Foram inoculados 1000 ou 3000 ovos e/ou J2 de *M. paranaensis* (população inicial = Pi), respectivamente, para a avaliação da multiplicação do nematoide e da penetração nas raízes, contidos em 1 mL de suspensão aplicada diretamente no colo da planta.

3.4.3 Avaliação Da Multiplicação De *M. Paranaensis* Nos Genótipos De Café

3.4.3.1 Condução e instalação do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), em Londrina, PR, Brasil (23°21'20,0"S; 51°09'58,2"O), entre os meses de setembro de 2017 a fevereiro de 2018. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 7, com sete repetições representadas por uma planta cada. Os fatores consistiram de três genótipos e sete períodos de avaliação após a inoculação dos nematoides (60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias). Durante o experimento, as médias de temperatura máxima e mínima foram de 47 e 10 °C.

As mudas foram obtidas através de semeadura em germinadores contendo areia, sendo transplantadas para tubetes quando atingiram o estágio cotiledonar. As mudas com três a quatro pares de folhas foram transplantadas para copos de isopor com capacidade de 900 mL e, após um mês, foram inoculadas com o nematoide. O substrato foi composto por uma mistura de solo e areia na proporção 1:3, previamente esterilizado em estufa a 160 °C por 3 horas e umidade próxima da capacidade de campo. A adubação foi realizada com a aplicação de 2 g de Osmocote Plus® (15% N, 9% P₂O₅, 12% K₂O, 1% Mg, 2,3% S, 0,05% Cu, 0,45 % Fe, 0,06% Mn, 0,02% Mo) por planta, no momento do transplante.

3.4.3.2 Avaliação

As avaliações foram realizadas aos 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após a inoculação (DAI), sendo descartada a parte aérea e recolhidos os sistemas radiculares, lavados em água corrente e pesados, obtendo-se a massa fresca de raiz (MFR). Em seguida, ovos e/ou J2 foram extraídos, empregando-se a metodologia de Boneti; Ferraz (1981). Após a extração, a população final (Pf) de *M. paranaensis* em cada planta foi quantificada, com auxílio de câmara de Peters sob microscópio de luz. Com os dados da massa fresca das raízes

(MFR) e da quantificação dos nematoides, foi determinado o número de ovos e/ou J2 por grama de raízes (Nema.g^{-1}). Na sequência, foi determinado o fator de reprodução (FR), através da fórmula: $\text{FR} = \text{Pf} / \text{Pi}$ (OOSTENBRINK, 1966), para classificação como resistente ($\text{FR} \leq 1$) e suscetível ($\text{FR} \geq 1$).

3.4.4 Análise Da Penetração, Desenvolvimento De Juvenis E Reprodução De *Meloidogyne Paranaensis* Nos Genótipos De Café

3.4.4.1 Condução e instalação do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), em Londrina, PR, Brasil ($23^{\circ}21'20,0''\text{S}$; $51^{\circ}09'58,2''\text{O}$), entre os meses de novembro de 2017 a março de 2018. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3×8 , com cinco repetições. Os fatores consistiram de três genótipos (IAPAR 88480-8-4, Mundo Novo IAC 376-4 e IPR 106) e oito períodos de avaliação após a inoculação dos nematoides (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 dias), sendo as avaliações realizadas a cada cinco dias. Além disso, oito plantas remanescentes foram avaliadas para determinação do FR, aos 60 e 104 dias após a inoculação, visando-se confirmar a viabilidade do inóculo, as boas condições experimentais e a capacidade infectiva do nematoide. As médias de temperatura máxima e mínima foram, respectivamente, 42°C e 17°C durante o período experimental.

As mudas de café foram obtidas através de semeadura em germinadores contendo areia. As plantas no estágio cotiledonar foram transplantadas para tubetes com capacidade para 115 cm^3 , contendo substrato Mecplant[®], o qual foi adubado com 2 g de Osmocote Plus[®] (15% N, 9% P_2O_5 , 12% K_2O , 1% Mg, 2,3% S, 0,05% Cu, 0,45 % Fe, 0,06% Mn, 0,02% Mo). As mudas com um par de folhas foram transplantadas para copos de isopor com capacidade para 500 mL, contendo substrato formulado pela mistura de solo e areia 1:3, previamente esterilizado em estufa a 160°C por 3 horas.

3.4.4.2 Coloração das raízes e avaliação

As avaliações foram iniciadas aos 5 DAI, através da coloração das raízes pelo método de hipoclorito-fucsina ácida (BYRD; KYRPATRICK; BARKER, 1983). A cada

cinco dias, até o 40º dia, foram retiradas quatro plantas de cada genótipo, eliminando-se o substrato para que as raízes fossem lavadas, com o auxílio de balde com capacidade para 5 L de água. Em seguida, as raízes foram cuidadosamente lavadas em água corrente e submersas em uma solução de NaClO comercial (2,0 – 2,5% de cloro ativo) e água (3:5, v:v), por 6 minutos, sendo as raízes agitadas com um bastão de vidro durante esse período para auxiliar na clarificação. Posteriormente, as raízes foram lavadas e embebidas em água por 15 minutos, sob homogeneização com o bastão de vidro.

Após este procedimento, as raízes foram lavadas novamente com água e transferidas para recipientes contendo 30 mL de água e 1 mL de solução de fucsina ácida e submetidas à fervura por 45 segundos em forno micro-ondas. Após este processo, as raízes foram lavadas em água corrente e armazenadas em glicerina acidificada, para posterior confecção das lâminas contendo todo o sistema radicular das amostras. As lâminas montadas foram visualizadas em microscópio de luz, em aumento de 100 x, para contagem dos indivíduos presentes no interior das raízes e análise dos estádios de desenvolvimento dos mesmos. Foram contados os nematoides nos estádios J2 pré-parasita, J2 parasita, J3, J4, fêmea imatura e fêmea madura (Figura 1).

Para avaliação do fator de reprodução (FR) aos 60 e 104 DAI, foi utilizada a metodologia de Boneti; Ferraz (1981) descrita anteriormente.

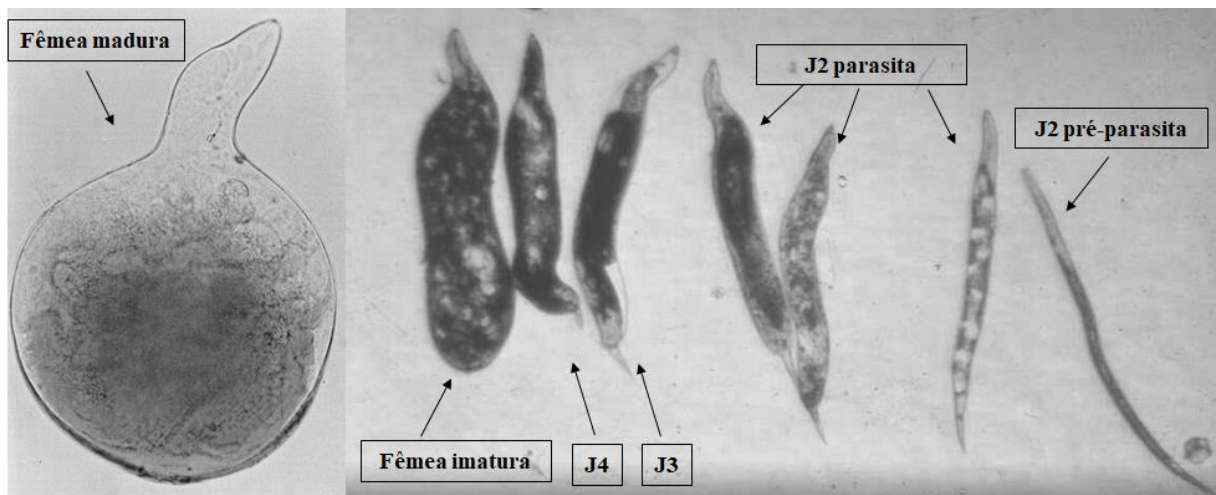


Figura 1. Estádios de desenvolvimento de *Meloidogyne* spp. Adaptado de: Ferraz; Brown (2016).

3.4.5 Análises Estatísticas

Os dados de MFR, Nema.g⁻¹ e FR foram submetidos à análise de variância, teste de normalidade dos resíduos de Shapiro-Wilk, teste de homogeneidade das variâncias de Bartlett e ao teste de médias de Tukey a 5% de significância, por meio do programa R versão 3.3.0 (R CORE TEAM, 2016), pacote ExpDes (FERREIRA et al., 2013). Foi necessária a adoção de modelos não-lineares para melhor interpretação dos parâmetros analisados, sendo para o FR adotado o modelo cúbico incompleto para o genótipo IAPAR 88480-8-4 e o cúbico completo para Mundo Novo e IPR 106 e, para a variável Nema.g⁻¹, o modelo cúbico completo foi adotado para todos os genótipos.

Os dados referentes à observação dos diferentes estádios do desenvolvimento do nematoide observados no interior das raízes de cada genótipo, durante o período de 40 DAI, foram analisados por meio de esquema fatorial, sendo que a análise de variância indicou interação entre os fatores. Os dados foram transformados, sendo observados por meio do processo de BoxCox, submetidos aos testes de normalidade dos resíduos de Shapiro-Wilk, teste de homogeneidade das variâncias de Bartlett, seguidos do desdobramento das interações com o uso do agrupamento de médias de Scott-Knott a 5% de significância, utilizando-se o programa R versão 3.3.0 (R CORE TEAM, 2016)

Os dados das contagens do total de nematoides nos diferentes estágios de desenvolvimento foram submetidos ao modelo de análise de regressão, sendo que o modelo linear geral, considerando-se distribuição binomial negativa, foi o que apresentou melhor ajuste e atendeu aos pressupostos do modelo. Como os parâmetros diferiram entre os genótipos, foram apresentados separadamente os gráficos dos ajustes de regressão, utilizando-se os pacotes lattice extra (SARKAR; ANDREWS, 2016), hnp (MORAL; HINDE; BORGES, 2017) e rddtools (STIGLER, 2015) do programa R versão 3.3.0 (R CORE TEAM, 2016).

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.5.1 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA

Na análise descritiva das avaliações da multiplicação de *M. paranaensis* nos genótipos de café aos 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 DAI (Tabela 1), com base na variável FR, pode-se observar que todos os genótipos avaliados foram considerados suscetíveis, de acordo com Oostenbrink (1966), inclusive IPR 106, considerado resistente

(ITO et al., 2008), uma vez que os valores de FR ficaram acima de 1,0 em todas as datas de avaliação. Entretanto, mesmo com valores de FR acima de 1,0, IPR 106 apresentou porcentagem de redução do FR, em comparação a Mundo Novo, de 73,88%, 94,77%, 96,06%, 83,88%, 94,92%, 97,25% e 86,66%, respectivamente para as datas de avaliação realizadas, indicando que esta cultivar poderia ser indicada para cultivo em áreas infestadas pelo nematoide, integrando-se a outras ferramentas de manejo para aumentar sua longevidade. Tal característica pode ser devida à origem da cultivar IPR 106, Icatu, que possui genes de resistência a *M. paranaensis* proveniente de *C. canephora* (SHIGUEOKA, 2017).

Os valores de FR obtidos para Mundo Novo e IAPAR 88480-8-4 (Tabela 1) foram bastante elevados em todas as datas de avaliação, exceto aos 60 DAI. Isso indica que a data de avaliação é determinante para a correta classificação dos genótipos de café a *M. paranaensis*, assim como já relatado por Silva et al. (no prelo), que sugeriram que avaliações entre 90 e 180 DAI garantem os melhores resultados para avaliação da resistência/suscetibilidade de genótipos de café a *M. incognita*.

Em relação à variável Nema.g⁻¹ (Tabela 1), como observado para FR, os valores foram sempre menores em IPR 106, em relação a Mundo Novo e IAPAR 88480-8-4. Nas duas primeiras datas de avaliação (60 e 90 DAI), os valores de Nema.g⁻¹ em Mundo Novo e IAPAR 88480-8-4 foram menores que aqueles observados nas outras datas de avaliação.

O genótipo IAPAR 88480-8-4, originado da linhagem F5 da seleção IAPAR 88480-8, apresentou menor suscetibilidade a *M. paranaensis* em estudo prévio (SHIGUEOKA et al., 2016b), mas, no presente trabalho, em alguns casos (120, 150 e 180 DAI), os valores de FR e Nema.g⁻¹ neste genótipo ficaram superiores àqueles obtidos em Mundo Novo. No referido trabalho, os autores inocularam uma densidade populacional do nematoide semelhante à utilizada neste trabalho, ou seja, 1000 e 1400 nematoides por planta, em dois experimentos realizados, o que não explicaria a diferença de multiplicação do nematoide em função da Pi utilizada. A avaliação naquele trabalho foi feita aos 90 DAI, obtendo-se valores de FR de 4,35 e 4,99. No presente estudo, a variável FR neste genótipo apresentou valor intermediário (FR = 21,92) entre Mundo Novo e IPR 106 nesta data de avaliação, o que poderia configurar uma “resistência intermediária”, apesar de ser um valor maior que aquele obtido por Shigueoka et al. (2016b). As porcentagens de redução do FR para o genótipo IAPAR 88480-8-4, em relação ao padrão de suscetibilidade utilizado, foram de 88,57% (Shigueoka et al., 2016b) e 76,12% (presente trabalho).

A origem da população de *M. paranaensis* utilizada em ambos os trabalhos também poderia explicar as diferenças observadas. Shigueoka et al. (2016b) utilizaram uma população originária de Apucarana, PR, enquanto que neste trabalho a população foi coletada em Londrina, PR. Ambas as populações foram estudadas recentemente por Shigueoka (2017), que inoculou 11 populações de *M. paranaensis* em 13 genótipos de café, visando avaliar a variabilidade da reação dessas populações. Os valores de FR observados em IPR 106 (SHIGUEOKA, 2017) foram de 0,24 e 0,08, para as populações de Apucarana e Londrina, respectivamente. Naquele trabalho, foi sugerido que essas populações poderiam apresentar diferenças em relação à virulência em cultivares portadoras de genes de resistência, uma vez que ambas foram capazes de se multiplicar em IPR 100, cultivar de café resistente a *M. paranaensis* (SERA et al., 2017).

Tabela 1. Fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (Nema.g⁻¹) de *Meloidogyne paranaensis* em três genótipos de *Coffea arabica*, IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4, aos 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 dias após a inoculação.

Genótipo	60		90		120		150		180		210		240	
	FR	Nema.g ⁻¹	FR	Nema.g ⁻¹	FR	Nema.g ⁻¹	FR	Nema.g ⁻¹	FR	Nema.g ⁻¹	FR	Nema.g ⁻¹	FR	Nema.g ⁻¹
Mundo Novo	4,02	596,83	91,80	7806,50	66,77	5398,83	95,73	6507,17	63,62	4344,33	275,34	12544,67	356,58	12156,00
IAPAR 88480-8-4	3,06	320,00	21,92	1944,33	139,17	8878,83	143,42	7296,17	102,20	5330,00	130,65	5002,33	133,48	4458,50
IPR 106	1,05	181,50	4,80	547,83	2,63	281,17	15,43	570,00	3,23	123,33	7,57	248,00	47,56	1308,83

Cada valor representa a média de sete repetições. Dados apresentados são apenas descritivos.

A análise de variância (Tabelas 2 e 4) mostrou que houve interação entre os fatores data de avaliação e genótipos. De acordo com a dispersão dos dados, foi necessária a adoção de modelos não-lineares para melhor interpretação dos parâmetros analisados. Os modelos adotados para o FR foram o cúbico incompleto para o genótipo IAPAR 88480-8-4 e o cúbico completo para Mundo Novo e IPR 106. Para a variável $Nema.g^{-1}$, o modelo cúbico completo foi adotado para todos os genótipos. Os modelos foram reparametrizados para o modelo cúbico para o ponto de mínimo com equação $y = \beta_0 + \beta_1(x - x_l)^3$ (cúbico incompleto) e $y = \beta_0 + \beta_1(x - x_l)^2 + \beta_2(x - x_l)^3$ (cúbico completo), onde x_l é o ponto de mínimo observado nos modelos (Tabelas 3 e 5).

Tabela 2. Análise de variância para os dados de fator de reprodução (FR) no esquema fatorial entre datas de avaliação e genótipos de *Coffea arabica*.

Causas de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Média dos quadrados	P(>F)
Datas	6	182.32	30,39	$2.2e^{-16}***$
Genótipos	2	193.35	96,68	$2.2e^{-16}***$
Datas:genótipos	12	32.74	2,73	$2.2e^{-12}***$
Resíduos	105	29.72	0,28	

*** 0,01% de significância. Valores foram transformados por log (FR).

Para FR (Tabela 3), de acordo com o parâmetro x_l , independentemente do genótipo, o ponto de mínimo observado nos modelos se sobrepõe. Isso significa que os genótipos respondem ao parasitismo do nematoide de maneira semelhante, mas, entretanto, com base no parâmetro β_0 e os intervalos de confiança para os genótipos estudados, pode-se afirmar que Mundo Novo não difere estatisticamente de IAPAR 88480-8-4, enquanto IPR 106 difere de ambos. Em IAPAR 88480-8-4, o modelo ajustado foi o cúbico incompleto, enquanto que para os outros genótipos, foi o cúbico completo, indicando que o aumento populacional em IAPAR 88480-8-4 é mais estável que em Mundo Novo e IPR 106, pois não apresenta ponto de inflexão.

Tabela 3. Parâmetros estimados ($\widehat{\beta}_0$ e \widehat{x}_I) para o ajuste do modelo reparametrizado usado para avaliação dos genótipos de *Coffea arabica* estudados, Mundo Novo, IAPAR 88480-8-4 e IPR 106, em função do fator de reprodução de *Meloidogyne paranaensis*.

Parâmetros estimados	Mundo Novo	IAPAR 88480-8-4	IPR 106
$\widehat{\beta}_0$	4,54	4,84	1,35
C.I (β_0)*	[4,23; 4,85]	[4,57; 5,11]	[0,93; 1,77]
\widehat{x}_I	176,56	187,06	164,55
C.I (x_I)**	[158,41; 194,71]	[165,71; 208,42]	[133,46; 195,64]

*intervalo de confiança para o parâmetro β_0 ; valores apresentados foram transformados por log (FR). **intervalo de confiança para x_I ; valores apresentados estão em escala original.

Tabela 4. Quadro da análise de variância para os dados de número de nematoide por grama de raízes (Nema.g⁻¹) na análise fatorial entre datas de avaliação e genótipos de *Coffea arabica*.

Causas de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Média dos quadrados	P(>F)
Datas	6	79,06	13,17	2.2 ^{e-16} ***
Genótipos	2	203,64	101,81	2.2 ^{e-16} ***
Datas:genótipos	12	30,91	2,57	1.24 ^{e-10} ***
Resíduos	105	33,19	0,31	

*** 0,01% de significância. Valores foram transformados por log (Nema.g⁻¹).

Para Nema.g⁻¹ (Tabela 5), todos os genótipos se ajustaram ao mesmo modelo, cúbico completo, sendo que, nesse caso, tanto para Mundo Novo quanto para IAPAR 88480-8-4, baseando-se nos parâmetros β_0 e x_I , pode-se afirmar que tais genótipos não diferem estatisticamente entre si, enquanto que IPR 106 difere de ambos. Com base no parâmetro x_I , pode-se verificar que os valores de mínimo para Nema.g⁻¹ são observados antes daqueles de FR, indicando que o aumento populacional do nematoide danifica as raízes, causando limitação nos sítios de alimentação, o que, conseqüentemente, irá limitar o aumento do FR. O comportamento de FR, portanto, é determinado pela relação entre o ataque do patógeno e a conseqüente limitação do desenvolvimento fisiológico da planta. Altas densidades

populacionais iniciais impactam negativamente no desenvolvimento da planta, causando interferências que podem prejudicar a correta classificação dos genótipos em resistentes ou suscetíveis a *M. paranaensis*.

Tabela 5. Parâmetros estimados ($\widehat{\beta}_0$ e \widehat{x}_i) para o ajuste do modelo reparametrizado usado para avaliação dos genótipos de *Coffea arabica* estudados, Mundo Novo, IAPAR 88480-8-4 e IPR 106, em função do número de nematoides por grama de raízes (Nema.g⁻¹) de *Meloidogyne paranaensis*.

Parâmetros estimados	Mundo Novo	IAPAR 88480-8-4	IPR 106
$\widehat{\beta}_0$	8,90	8,88	5,96
C.I. (β_0)*	[8,62; 9,17]	[8,66; 9,10]	[5,49; 6,42]
\widehat{x}_i	130,87	144,73	104,73
C.I. (x_i)**	[117,61; 144,13]	[132,94; 156,53]	[95,22; 114,24]

*intervalo de confiança para o parâmetro β_0 ; valores apresentados foram transformados por log (Nema.g⁻¹). **intervalo de confiança para x_i ; valores apresentados estão em escala original.

A Figura 2 mostra graficamente os modelos ajustados para os dados de FR e Nema.g⁻¹, onde as interações e comportamentos descritos anteriormente são mais facilmente visualizados.

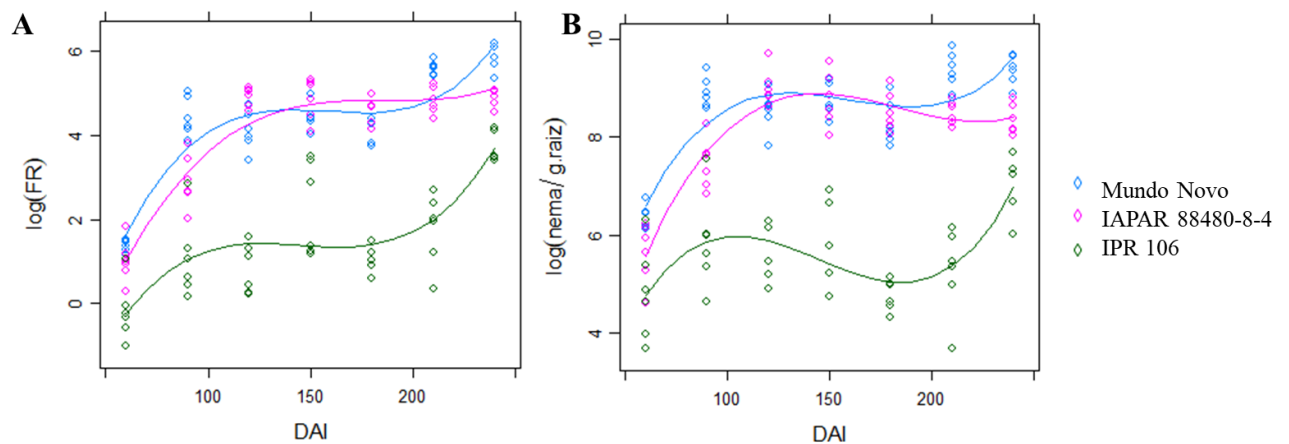


Figura 2. Curvas da análise de regressão realizada com os dados de fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (Nema.g⁻¹) de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos de *Coffea arabica*, IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 aos 60, 90, 120, 150, 180, 210 e 240 DAI.

3.5.2 Avaliação da penetração, desenvolvimento de juvenis e reprodução de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos de café

Na avaliação da penetração e desenvolvimento de juvenis de *M. paranaensis* nos três genótipos de café estudados, foi observada interação entre os fatores analisados, sendo que cada desdobramento das interações pode ser visualizado nas Figuras 3 a 8.

Em relação aos J2 pré-parasitas observados nos genótipos de café (Figura 3), número significativamente menor foi observado em IAPAR 88480-8-4 nas avaliações realizadas aos 5 e 40 DAI, em relação a Mundo Novo e IPR 106, enquanto maior quantidade foi observada em Mundo Novo aos 35 DAI, em relação aos dois outros genótipos. Em Mundo Novo, a maior quantidade de J2 pré-parasitas observada aos 35 DAI, em relação a IPR 106 e IAPAR 88480-8-4, sugere que o ciclo do nematoide pode ter sido completado em menor tempo naquele genótipo, uma vez que o aumento do número de J2 pré-parasitas a partir dos 30 DAI pode significar que os juvenis da segunda geração eclodiram dos ovos formados a partir da primeira geração inoculada e penetraram as raízes. O menor tempo para completar o ciclo em Mundo Novo indica maior suscetibilidade do mesmo ao nematoide, o que confere condições mais propícias ao desenvolvimento de *M. paranaensis*. No desdobramento das datas de avaliação (Figura 3), maior número de J2 pré-parasitas foi observado em Mundo Novo nas avaliações realizadas aos 5, 10, 35 e 40 DAI, em IAPAR 88480-8-4 aos 10 DAI e em IPR 106 aos 5 e 10 DAI, o que confirma o fechamento do ciclo do nematoide mais precocemente em Mundo Novo.

Já para a quantidade de J2 parasitas (Figura 4), em IPR 106 os menores valores foram observados aos 15, 35 e 40 DAI e em IAPAR 88480-8-4 aos 35 e 40 DAI. Maiores quantidades foram obtidas em Mundo Novo aos 15, 35 e 40 DAI e em IAPAR 88480-8-4 aos 15 DAI. O número de J2 parasitas começou a aumentar a partir dos 15 DAI, nos três genótipos avaliados, correspondendo à menor quantidade de J2 pré-parasitas (Figura 3) nesta data, o que indica que aqueles J2 que penetraram as raízes até a avaliação de 10 DAI iniciaram seu parasitismo.

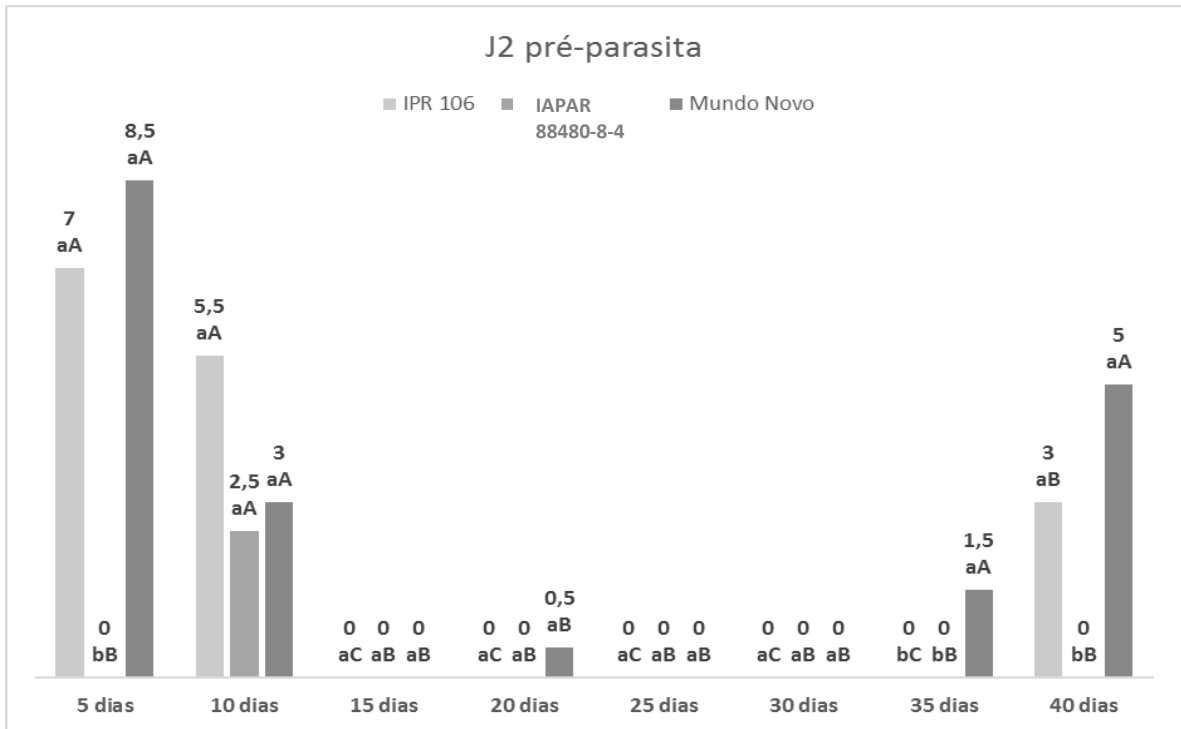


Figura 3. Número de juvenis de segundo estágio (J2) pré-parasitas de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observado aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação. Médias seguidas pela mesma letra minúscula para genótipo e maiúscula para data de avaliação não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

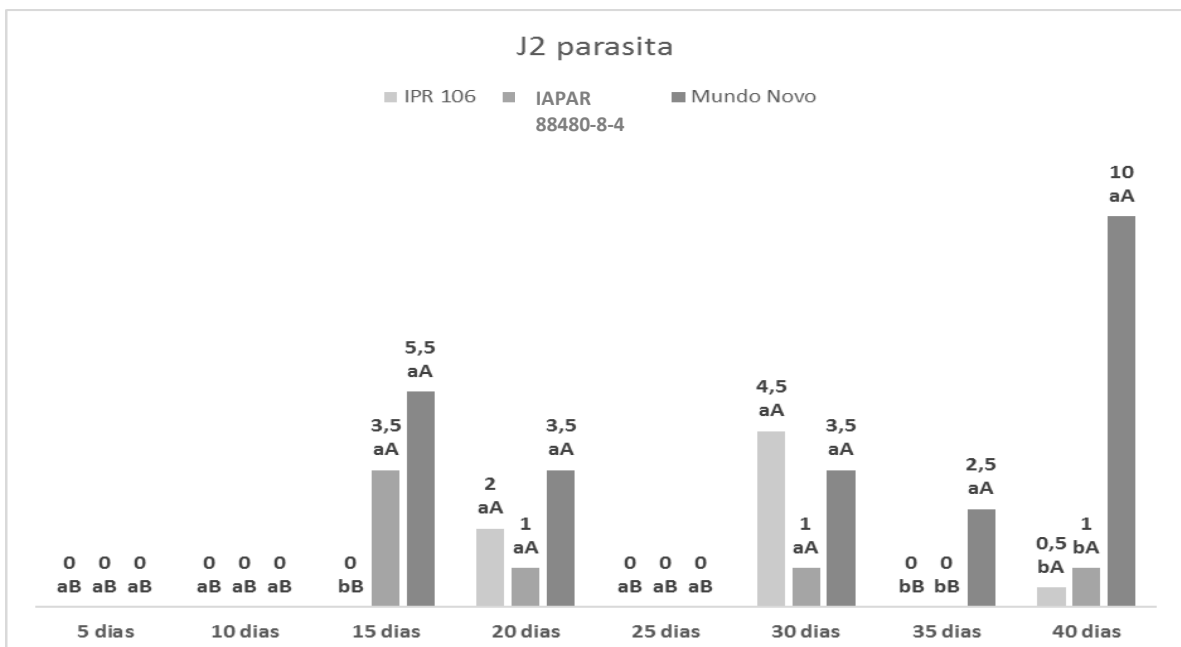


Figura 4. Número de juvenis de segundo estágio (J2) parasitas de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação. Médias seguidas pela mesma letra minúscula para genótipo e maiúscula para data de avaliação não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Maior número de J3 (Figura 5) foi observado em IPR 106 aos 15, 20 e 40 DAI, enquanto que em Mundo Novo aos 20, 30 e 40 DAI e em IAPAR 88480-8-4 apenas aos 40 DAI. Em relação às datas de avaliação (Figura 5), maior quantidade de J3 foi observada em IPR 106 a partir dos 15 DAI, o que sugere que o desenvolvimento inicial dos estádios de desenvolvimento de *M. paranaensis* pode ter sido mais acelerado neste genótipo. Ao contrário, em IAPAR 88480-8-4 apenas aos 40 DAI os J3 começaram a aparecer em maior número, o que sugere que o desenvolvimento do nematoide pode ter sido prejudicado nesse genótipo, o que poderia alongar o ciclo do mesmo.

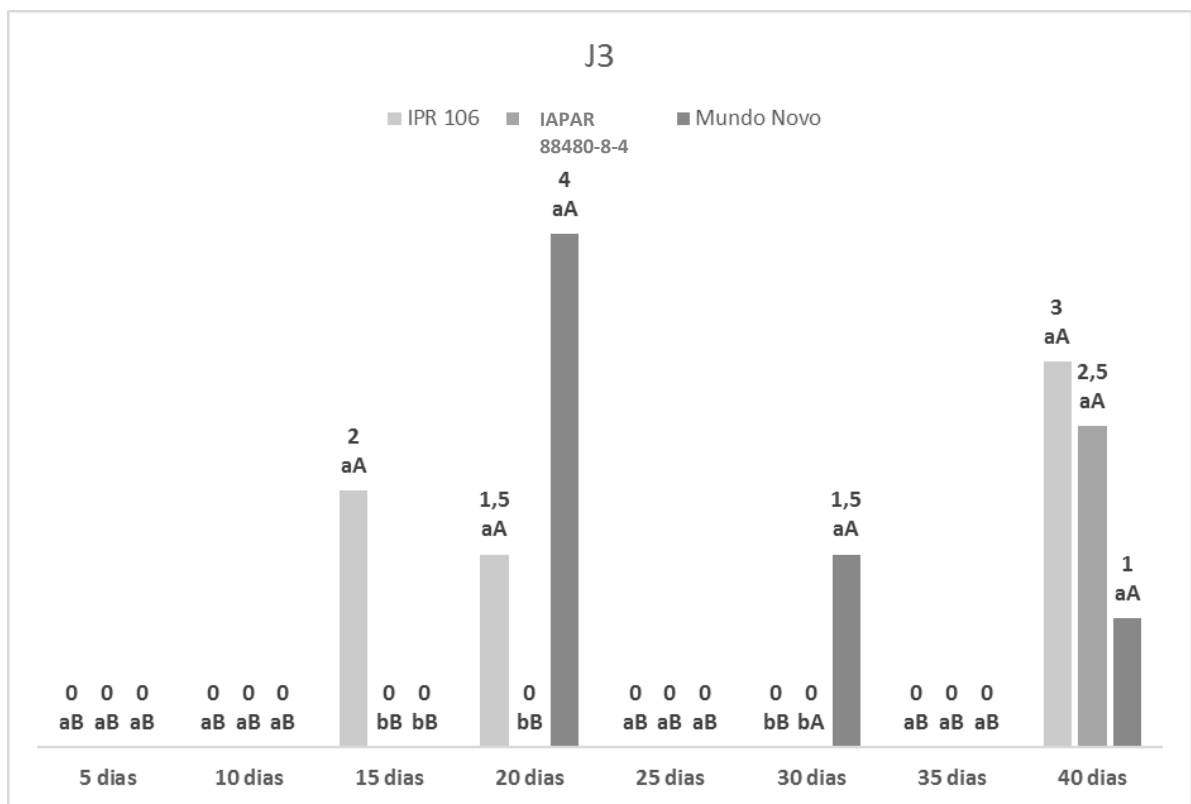


Figura 5. Número de juvenis de terceiro estágio (J3) de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação. Médias seguidas pela mesma letra minúscula para genótipo e maiúscula para data de avaliação não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Espécimes no estágio J4 (Figura 6) foram inicialmente observados a partir dos 20 DAI, com maior quantidade em IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo aos 20, 25 e 30 DAI, enquanto que em IPR 106 apenas a partir dos 35 DAI a quantidade observada foi maior, não havendo diferenciação estatística entre os genótipos a partir dessa data. A menor quantidade de J4 em IPR 106, apesar de J3 terem sido encontrados aos 15 e 20 DAI em maior abundância nesse genótipo, pode indicar que a resistência de IPR 106 a *M. paranaensis* ocorre de maneira

mais tardia, não impedindo a penetração e desenvolvimento inicial de juvenis, mas gerando um atraso na formação de J4 e, conseqüentemente, de fêmeas. Em relação aos demais genótipos, IPR 106 permitiu o desenvolvimento de J4 apenas nas avaliações mais tardias, indicando que o ciclo do nematoide foi alongado nesse genótipo. Shigueoka et al. (no prelo) observaram que IPR 106 não impediu a penetração de *M. paranaensis* aos 15 DAI e descartaram a hipótese de resistência pré-infeccional. Entretanto, aqueles autores verificaram a presença de células nutridorras degeneradas e nematoides em colapso aos 30 DAI, em IPR 106, e sugeriram que um mecanismo de resistência pós-infeccional pode estar presente nesse genótipo, o que corrobora as observações realizadas no presente trabalho.

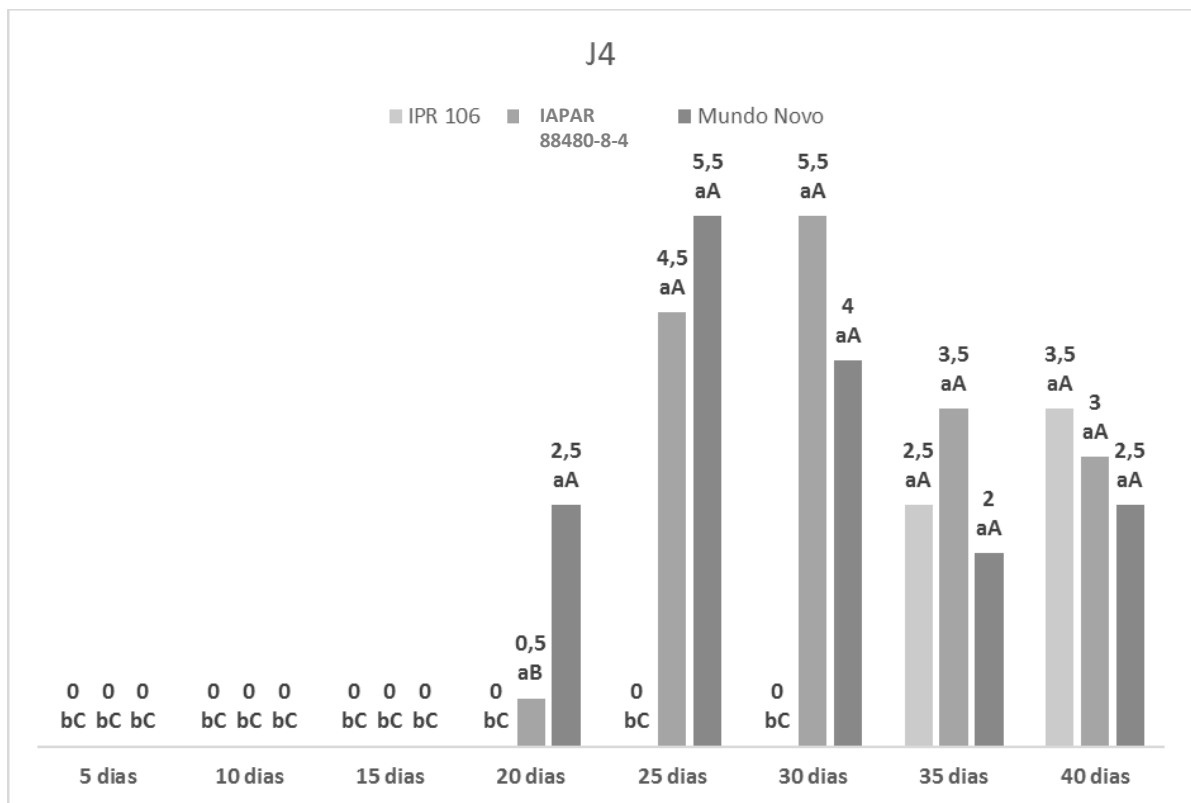


Figura 6. Número de juvenis de quarto estágio (J4) de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação. Médias seguidas pela mesma letra minúscula para genótipo e maiúscula para data de avaliação não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Fêmeas imaturas (Figura 7) começaram a ser observadas a partir dos 15 DAI nos genótipos IPR 106 e Mundo Novo, enquanto que em IAPAR 88480-8-4, apenas aos 25 DAI estas foram observadas. Mesmo com um aparente atraso no desenvolvimento do nematoide, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo não se diferenciaram estatisticamente em relação à quantidade de fêmeas imaturas formadas a partir dos 25 DAI, demonstrando que

ambos os genótipos permitem o adequado desenvolvimento do ciclo do nematoide. A partir de 35 DAI, não houve diferenciação estatística entre os genótipos para a quantidade de fêmeas imaturas formadas.

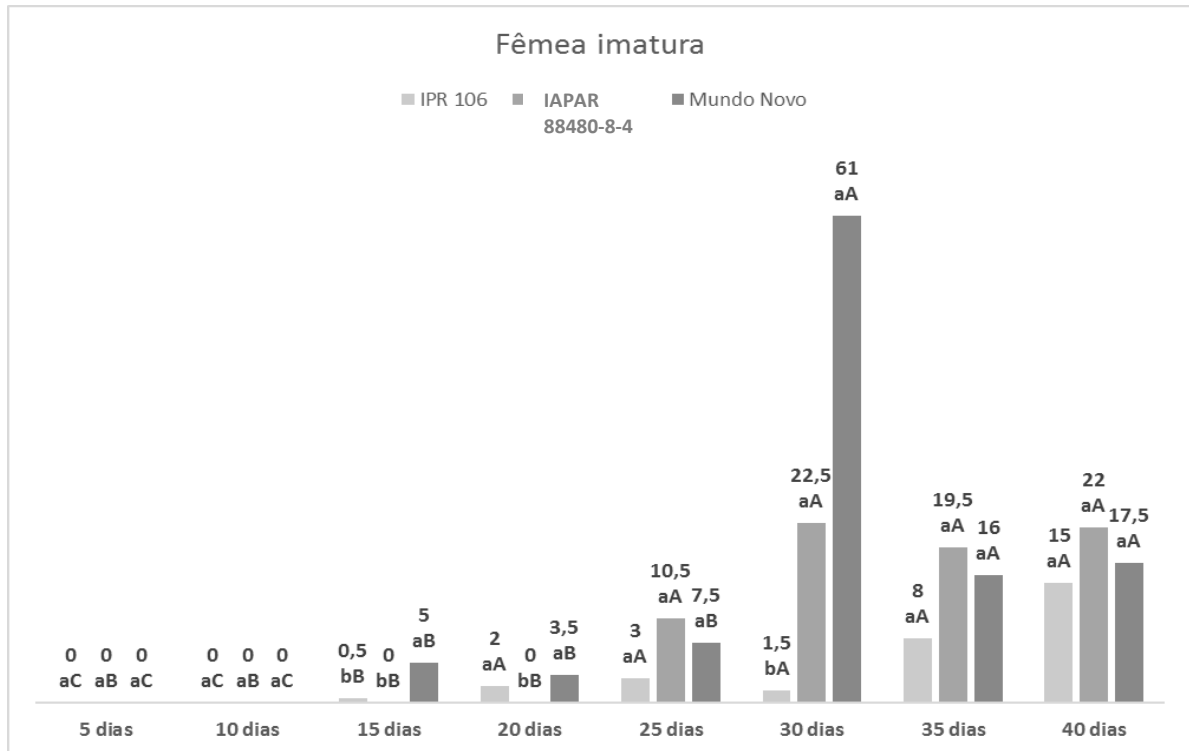


Figura 7. Número de fêmeas imaturas de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação. Médias seguidas pela mesma letra minúscula para genótipo e maiúscula para data de avaliação não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Em relação às fêmeas maduras (Figura 8), observou-se sua presença a partir dos 25 DAI nos três genótipos avaliados, sendo que apenas a partir dos 35 DAI houve diferenciação significativa em relação à quantidade de fêmeas maduras em IPR 106 em relação aos demais genótipos, indicando, mais uma vez, que o desenvolvimento tardio do nematoide é prejudicado neste genótipo, em função de um possível mecanismo de resistência pós-infeccional. Aos 40 DAI, o número de fêmeas maduras em IAPAR 88480-8-4 foi superior ao observado em Mundo Novo, o que indica que, apesar de terem sido observados indícios de atraso no desenvolvimento do ciclo do nematoide nesse genótipo, a formação de fêmeas maduras não é prejudicada, o que, juntamente com os resultados de FR e Nema.g⁻¹ do experimento descrito anteriormente, descarta a hipótese de que IAPAR 88480-8-4 possa ser um genótipo com níveis intermediários de resistência a *M. paranaensis*.

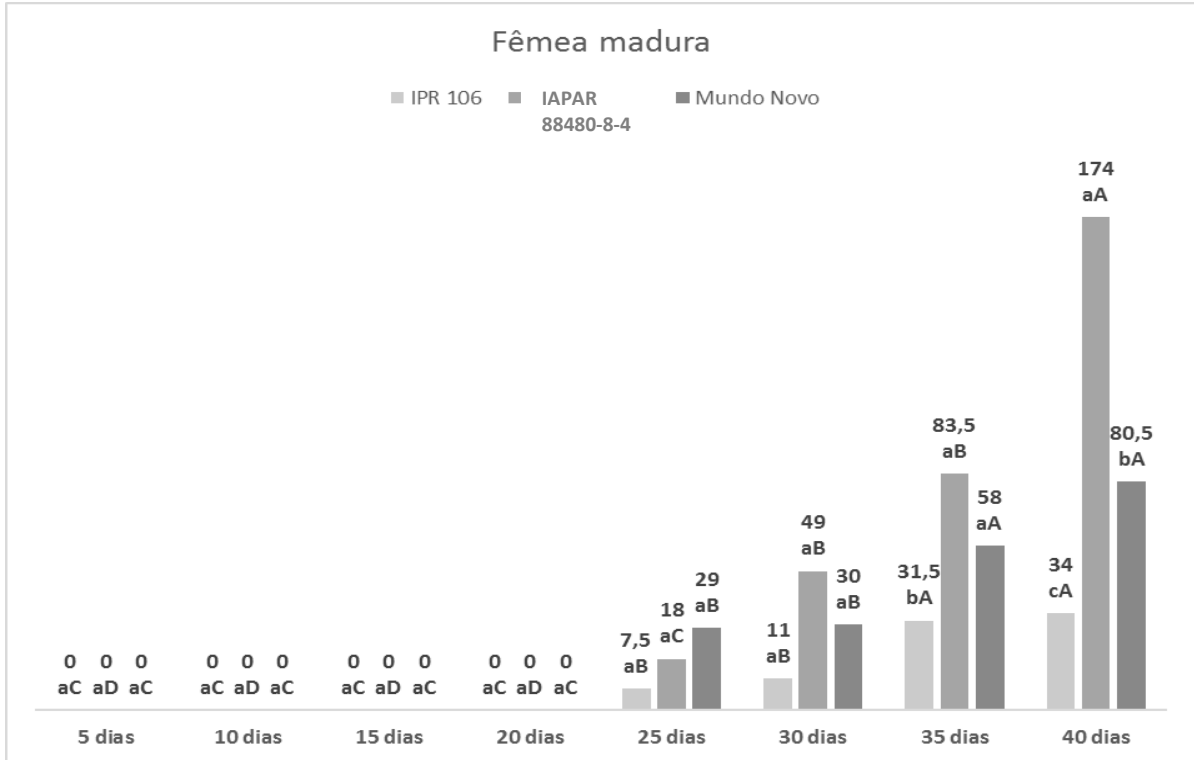


Figura 8. Número de fêmeas maduras de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4 observados aos 5, 10, 15, 20, 30, 35 e 40 dias após a inoculação. Médias seguidas pela mesma letra minúscula para genótipo e maiúscula para data de avaliação não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

Quando se analisa a soma total de nematoides no interior das raízes nos genótipos avaliados (Figura 9), observa-se que, até o fechamento do ciclo reprodutivo, que se deu por volta de 30 DAI, a quantidade de nematoides presentes no interior das raízes, desconsiderando o estágio dos mesmos, seguiu um comportamento de crescimento que correspondeu a uma binomial negativa, cujo ajuste linear foi o que melhor se ajustou a esse comportamento, apresentando parâmetros $\beta_0 = 1,55$ e $x_i = 0,03$ para o genótipo resistente IPR106 (Figura 9A), $\beta_0 = -1,72$ e $x_i = 0,20$ para o genótipo IAPAR 88480-8-4 (Figura 9B) e $\beta_0 = 0,78$ e $x_i = 0,12$ para Mundo Novo (Figura 9C).

Para o genótipo Mundo Novo, a taxa de acréscimo populacional é de 0,12 ($x_i = 0,12$) a cada dia do ciclo, a partir dos 5 DAI, sendo que a quantidade inicial de nematoides observada no interior das raízes em Mundo Novo ($\beta_0 = 0,78$) é intermediária entre IAPAR 88480-8-4 e IPR 106. Para IAPAR 88480-8-4, o valor para o número de nematoides inicialmente observado é o menor entre os genótipos ($\beta_0 = -1,72$), mas a taxa de crescimento é de 0,20, maior que aquela observada em Mundo Novo. Já para IPR 106, a quantidade inicial de nematoides é a maior ($\beta_0 = 1,55$), mas a taxa de crescimento ($x_i = 0,03$) é menor que nos

outros genótipos. Isso demonstra que a população cresce mais rapidamente nos genótipos Mundo Novo e IAPAR 88480-8-4, e mais lentamente no resistente, IPR 106.

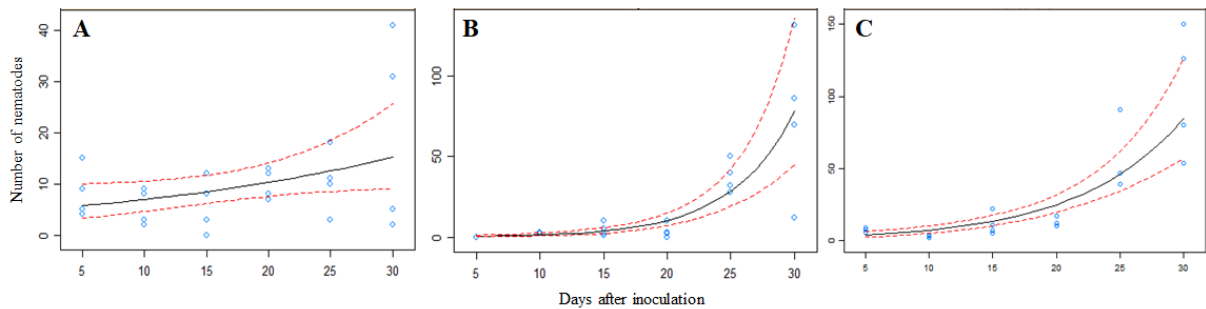


Figura 9. Número total de *Meloidogyne paranaensis* observado no sistema radicular dos genótipos IPR 106 (A), IAPAR 88480-8-4 (B) e Mundo Novo IAC 376-4 (C), ao longo de um ciclo reprodutivo.

Em relação à multiplicação de *M. paranaensis* nas plantas remanescentes dos três genótipos de café, avaliados quanto ao desenvolvimento dos estádios infectivos, foram observados valores elevados de FR e Nema.g⁻¹ no genótipo suscetível, Mundo Novo IAC 376-4, e em IAPAR 88480-8-4, não havendo diferenciação estatística entre os dois genótipos aos 60 DAI (Tabela 6). Já em IPR 106, os valores de FR e Nema.g⁻¹ foram significativamente menores que aqueles observados nos demais genótipos nos dois períodos de avaliação (Tabela 6).

Tabela 6. Massa fresca de raiz (MFR), fator de reprodução (FR) e número de nematoides por grama de raízes (Nema.g⁻¹) de *Meloidogyne paranaensis* nos genótipos de *Coffea arabica* IPR 106, IAPAR 88480-8-4 e Mundo Novo IAC 376-4. Inoculação de 3000 ovos e avaliação aos 60 e 104 dias após a inoculação.

Genótipo	MFR (g)		FR		Nema.g ⁻¹	
	60	104	60	104	60	104
IPR 106	6,36 a	15,09 a	0,16 b	0,62 c	88,62 b	40,83 c
IAPAR 88480-8-4	5,19 a	14,46 a	3,39 a	58,42 b	2089,62 a	5039,25 b
Mundo Novo	4,51 a	8,72 b	5,63 a	164,50 a	3853,00 a	19.185,92 a

Cada valor representa a média de oito repetições. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Os valores de FR e Nema.g⁻¹ observados no experimento que visava avaliar a multiplicação do nematoide nos genótipos de café comprovam que a inoculação de 1000 ovos de *M. paranaensis* para a avaliação da resistência / suscetibilidade de genótipos de café a este nematoide é uma quantidade adequada. A utilização de densidades populacionais muito altas pode interferir nos resultados obtidos, uma vez que valores de FR menores que 1,0 podem ser obtidos, levando-se a uma classificação errônea da resistência dos genótipos, como já relatado por Silva et al. (no prelo) para a avaliação de genótipos de café a *M. incognita*. Isso ocorre devido a uma maior competição por sítios de alimentação, o que compromete o sistema radicular e, conseqüentemente, resulta em redução natural na população do nematoide (GRECO; DI VITO, 2009).

No trabalho de PEREIRA et al. (2009), testando genótipos de café quanto à resistência a *M. exigua*, foi utilizada uma população inicial do nematoide de 10000 ovos, 10 vezes maior que a utilizada no presente trabalho, com avaliação aos 120 DAI. Os resultados apresentados por aqueles autores para o genótipo suscetível Mundo Novo (FR = 1,18) podem ter levado à classificação equivocada de vários genótipos testados que apresentaram FR < 1,0 e, com base no índice de classificação de Moura; Régis (1987), foram classificados como altamente suscetíveis. Santos et al. (2017), avaliando a reação de clones de *C. canephora* a *Meloidogyne* spp., inocularam 5000 ovos e avaliaram os clones aos 150 DAI, observando genótipos com FR = 0,23, classificados como resistentes, mas com índice de galhas de 29,17, considerados como suscetíveis. Outros trabalhos são relatados na literatura mostrando a falta de padronização de metodologias para avaliação em plantas de café quanto à reação a nematoides de galhas, além da problemática envolvida quando se utilizam elevadas populações. A caracterização equivocada de um genótipo pode gerar prejuízos ao agricultor, pois, além de não reduzir a população do nematoide no solo, ainda terá seu desenvolvimento prejudicado, em função do parasitismo do mesmo.

4 CONCLUSÕES GERAIS

No presente trabalho, o genótipo IAPAR 88480-8-4 não apresenta resistência a *Meloidogyne paranaensis*, apesar de ter sido observado atraso no desenvolvimento inicial do nematoide nesse genótipo. Estudos posteriores que visem elucidar a tolerância desse genótipo ao nematoide ou o comportamento desse genótipo em campo com manejo integrado devem ser realizados, para comprovar as observações de campo quanto ao bom desenvolvimento na presença de *M. paranaensis*.

IPR 106 apresenta maior quantidade inicial de nematoides, mas a taxa de crescimento da população é menor que a dos outros genótipos. Além disso, IPR 106 apresenta valores significativamente menores de FR e Nema.g⁻¹ que aqueles observados nos demais genótipos, confirmando sua importância para o manejo desse nematoide em condições de campo. Entretanto, sua utilização em áreas infestadas deve ser acompanhada de manejo para redução populacional de *M. paranaensis*.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. **Nematicidas registrados para a cultura do café**. Disponível em: <
http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 20 de ago.
 de 2018.
- ANTHONY, F.; TOPART, P.; ASTORGA, C.; ANZUETO, F.; BERTRAND, B. La
 resistencia genética de *Coffea* spp. a *Meloidogyne paranaensis*: identificación y utilización
 para la caficultura latinoamericana. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, v.67, p. 5-
 12, 2003.
- ANTHONY, F.; TOPART, P.; MARTINEZ, A.; SILVA, M.; NICOLE, M. Hypersensitive-
 like reaction conferred by the *Mex-1* resistant gene against *Meloidogyne exigua* in coffee.
Plant Pathology, v. 54, p. 476-482, 2005.
- ARITA, L.Y. Eficiência de nematicidas químicos e biológicos no controle de *Meloidogyne*
paranaensis e fitotoxicidade em mudas de café. 41 f. Dissertação (Mestrado). Londrina:
 IAPAR. 2018.
- BARROS, A.F.; OLIVEIRA, R.D.L.; ZAMBOLIN, L.; FERREIRA, A.O.; COUTINHO,
 R.R. *Meloidogyne paranaensis* attacking coffee trees in Espírito Santo state, Brazil.
Australasian Plant Disease, v.6, p. 43-45, 2011.
- BOISSEAU, M.; ARIBI, J.; SOUSA, F. R. de, CARNEIRO, R. M. D. G.; ANTHONY, F.
 Resistance to *Meloidogyne paranaensis* in wild *Coffea arabica*. **Tropical Plant Pathology**,
 Brasília, v.34, n.1, p. 38-41, 2009.
- BONETI, J. I.; FERRAZ, S. Modificações no método de Hussey & Barker para extração de
 ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, p.
 533, 1981.
- BYRD, D.W.; KIRPATRICK, T.; BARKER, K.R. An improved technique for clearing and
 staining plant tissue for detection of nematodes. **Journal of Nematology**, Riverside, v.15 p.
 142-143, 1983.
- CAMPOS, V.P., LIMA, R.D., ALMEIDA, V.F. Nematoides parasitas do cafeeiro. **Informe**
Agropecuário, v.11, p.50-58, 1985.
- CAMPOS, V.P.; MELLES, C.C.A. Ocorrência e distribuição de espécies de *Meloidogyne* em
 cafezais dos campos das vertentes e do sul de Minas. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.11,
 p. 233-241, 1987.
- CAMPOS, H. D.; CAMPOS, V. P. Efeito da época e forma de aplicação dos fungos
Arthrobotrys conoides, *Arthrobotrys musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Verticillium*
chlamydosporium no controle de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**,
 Fortaleza, v.22, n.3, p. 261-265, 1997.

- CAMPOS, V.P.; SILVA, J.R.C. Management of *Meloidogyne* spp. in coffee plantations. In: SOUZA, R.M. (ed). **Plant-parasitic Nematodes of Coffee**, Springer Science Business Media B.V., p.149-163, 2008.
- CADIOLI, M.C.; SANTIAGO, D.C.; HOSHINO, A.T.; HOMECHIN, M. Crescimento micelial e parasitismo de *Paecilomyces lilacinus* sobre ovos de *Meloidogyne paranaensis* em diferentes temperaturas “*in vitro*”. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.31, n.2, p. 305-311, 2007.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; CARNEIRO, R.G.; ABRANTES, I.M.O.; SANTOS, M.S.N.A.; ALMEIDA, M.R.A. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidade), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Journal of Nematology**, Riverside, v.28, p.177-189, 1996.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; ALMEIDA, M.R.A. Distribution of *Meloidogyne* spp. on coffee in Brazil: identification, characterization and intraspecific variability. In: **Mejoramiento sostenible del café arabica por los recursos genéticos, asistido por los marcadores moleculares, com énfasis en la resistencia a los nematodos**. CATIE/IRD, Turrialba, 2000. p. 43-48.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M.R.A.; SARAH, J.L. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. **Nematology**, Leiden, v.6, n.2, p. 287-298, 2004.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; RANDIG, O.; ALMEIDA, M.R.A.; GONÇALVES, W. Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiro nos estados de São Paulo e Minas Gerais através dos fenótipos de esterase e SCAR-multiplex-PCR. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.29, n.2, p. 233-241, 2005.
- CARNEIRO, R.M.D.G.; COFCEWICZ, E.T. The taxonomy of *Meloidogyne* spp. from coffee. In: SOUZA, R.M. (Ed). **Plant Parasitic Nematodes of Coffee**. New York, NY, USA: APS Press & Springer, 2008. p. 87–122.
- CARVALHO, A. M.; PEREIRA, A.A.; CARVALHO, G.R.; MENDES, A.N.; BOTELHO, C.E. Avaliação de progênies de cafeeiros obtidas do cruzamento entre ‘Catuaí’ e ‘Híbrido de Timor’. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.9, n.2, p. 249-253, 2008.
- CASTRO, J.M.C.; NAVES, R.L.; CAMPOS, V.P. Ocorrência de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro na região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.28, n.5, p. 565, 2003.
- CASTRO, J.M.C.; CAMPOS, V.P. Detecção de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiros do Sul de Minas Gerais. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.4, p. 507, 2004.
- 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 fitonematóides em cafezais do Sul de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.32, n.1, p. 56-64, 2008.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira: café** - primeiro levantamento, janeiro 2019, v.5, n.1, Brasília: CONAB

2019. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/cafes>>. Acesso em: 01 de fev. 2019.

DAVIS, A. P.; TOSH, J.; RUCH, N.; FAY, M. F. Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 167, n. 4, p. 357-377. 2011.

DIAS, P.P.; VIEIRA, H.D.; BARBOSA, D.H.S.G.; VIANA, A.P.; GONÇALVES, W.; ANDRADE, W.E. de B. Avaliação do desenvolvimento vegetativo e do comportamento de mudas de café (*Coffea arabica*) infectadas ou não por uma população fluminense de *Meloidogyne exigua*. **Coffee Science**, Lavras, v.4, n.1, p. 1-10, 2009.

FATOBENE, B. J. dos R.; ANDRADE, V. T.; ALOISE, G. S.; SILVAROLLA, M. B.; GONÇALVES, W.; GUERREIRO FILHO, O. Wild *Coffea arabica* resistant to *Meloidogyne paranaensis* and genetic parameters for resistance. **Euphytica**, v. 213, p. 1-9.

FAZUOLI, L.C.; LIMA, M.M.A.; GONÇALVES, W.; COSTA, W.M. Melhoramento do cafeeiro visando resistência a nematoides: utilização de porta-enxerto resistente. In: CONGRESSO PAULISTA DE AGRONOMIA, 6, 1987, Piracicaba. **Anais...** São Paulo, AEASP, 1987. p. 171-180.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. de; LOPES, E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. **Manejo sustentável de fitonematóides**. Viçosa, MG: UFV, 2010. 306 p.

FERRAZ, L.C.C.B. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A.M.; BERGAMIM FILHO, A. (Eds). **Manual de fitopatologia**. 5ª edição. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, p. 195-211, 2018.

FERREIRA, E.B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA, D.A. **ExpDes: experimental designs package**. R package version 1.1.2. 2013

FREIRE, F.C.O.; BRIDGE, J. Parasitism of eggs, females and juveniles of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Verticillium chlamyosporium*. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.10, p. 213-218, 1985.

GONÇALVES, W.; PEREIRA, A.A. Resistência do cafeeiro a nematóides IV – Reação de cafeeiros derivados do Híbrido de Timor a *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p. 39-50, 1998.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M. B. Nematoides parasitos do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Tecnologias de produção de café com qualidade**. Viçosa: UFV, 2001. p. 199-268.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M. B. A luta contra a doença causada pelos nematoides parasitos do cafeeiro. **O Agrônomo**, Campinas, v.59, n.1, p. 54-56, 2007.

GRECO N.; DI VITO, M. Population dynamics and damage levels. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Eds) **Root-knot nematodes**, CAB International, p. 246-274, 2009.

GUERREIRO FILHO, O.; MENDES, A.N.G.; CARVALHO, G.R.; SILVAROLLA, M.B.; BOTELHO, C.E.; FAZUOLI, L. Origem e classificação do cafeeiro. In: CARVALHO, C.H.S. **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. Brasília: Embrapa Café, 2008. p. 27-32.

GUIMARÃES, R. J., MENDES, A. N. **Morfologia/Fisiologia do cafeeiro**. Lavras: UFLA, 1998. 28p.

HARTMAN, R.M.; SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host and perineal pattern morphology. In: BARKER, K.R.; CARTER, C.C.; SASSER, J.N. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne**. Graphics NCSU, Raleigh v.2, methodology, p.69-77, 1985.

ICO. INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. Disponível em: <http://www.ico.org/pt/Benefits_ICA2007_p.asp>. Acesso em: 23 de Ago. de 2019.

ITO, D. S.; SERA, G. H.; SERA, T.; SANTIAGO, D. C.; KANAYAMA, F. S.; DEL GROSSI, L. Progenies de café com resistência aos nematoides *Meloidogyne paranaensis* e raça 2 de *Meloidogyne incognita*. **Coffee Science**, Lavras, v.3, n.2, p. 156-163, 2008.

ITO, D.S.; MACHADO, A.C.Z.; SILVA, S.A.; DORIGO, O. F.; GARDIANO, C.G.; MATTEI, D. Levantamento parcial de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiros na região do arenito (noroeste) do estado do Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, v.8. 2013, Salvador, **Anais...** Brasília: EMBRAPA-CAFÉ, 2013.

LIMA, R.D. de; CAMPOS, V.P.; HUANG, S.P.; MELLES, C.C.A. Reprodutividade e parasitismo de *Meloidogyne exigua* em ervas daninhas que ocorrem em cafezais. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.9, p. 63-72, 1985.

LOPEZ-LIMA, D.; SANCHEZ-NAVA, P.; CARRION, G.; MONTEROS, A.E.; VILLAIN, L. Corky-root symptoms for coffee in central Veracruz are linked to the root-knot nematode *Meloidogyne paranaensis*, a new report México. **European Journal of Plant Pathology**, v.141, p. 623–629, 2015

LORDELLO, L.G.E.; HASHIZUME, H. Suscetibilidade da variedade Konillou de *C. canephora* a um nematóide. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v.46, p. 157-158, 1971.

MACHADO, A.C.Z.; ITO, D.S.; SILVA, S.A.; DORIGO, O.F. Agressividade de populações de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro ‘Mundo Novo’. VIII Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil. **Anais...** Salvador, 2013.

MORAL, R.A.; HINDE, J.; DEMETRIO, C.G.B. hnp: Half-Normal Plots with Simulation Envelopes. R package version 1.2-3. 2017. <https://CRAN.R-project.org/package=hnp>

MOURA, R.M.; REGIS, E.M.O. Reações de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) em relação ao parasitismo de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* (Nematoda: Heteroderidae). **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 10, p. 215-225, 1987.

- NOIR, S.; ANTHONY, F.; BERTRAND, B.; COMBES, M.C.; LASHERMES, P. Identification of a major gene (*Mex-1*) from *Coffea canephora* conferring resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea arabica*. **Plant Pathology**, v.52, p. 97–103, 2003
- OLIVEIRA, R. D. L.; FERRAZ, S.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Eficácia de isolados de *Arthrobotrys* spp. no controle de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.26, n.1, p. 49-57, 2003.
- OLIVEIRA, C.M.G. de; ROSA, J.M.O. **Boletim técnico nematoides parasitos do cafeeiro**. Instituto Biológico: São Paulo, n.32, 2018. p. 1-28.
- OOSTENBRINK, M. Major characteristic of the relation between nematodes and plants. **Mededlingen voor Landlb Hoogeschool Wageningen**, v.66. p. 3-46, 1966.
- PEREIRA, T.B.; SALGADO, S. M.de L.; CARVALHO, G.R.; PEREIRA, A.A.; FERREIRA, A.D.; OLIVEIRA, L.P.V. Reação de genótipos de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) a *Meloidogyne exigua* população sul de minas. **Coffee Science**, Lavras, v.7, n.1, p. 84-90, 2012.
- PINHEIRO, J.B., SANTOS, M.A., SANTOS, C.M. & LELLES, A.M. Ocorrência de fitonematóides em amostras oriundas de cafezais do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas **Anais...**, p. 257-259, 2000.
- PORTZ, R. L.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; BALBI-PENA, M. I.; FURLANETTO, C. *Meloidogyne* spp. associadas à cafeicultura em municípios do oeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 30, n. 1, p. 23-27. 2006.
- RANDIG, O.; BONGIOVANNI, M.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. **Genome**, Canadá, v.45, p. 862-870, 2002.
- RANDIG, O.; CARNEIRO, R.M.D.G.; CASTAGNONE-SERENO, P. Identificação das principais espécies de *Meloidogyne* parasitas do cafeeiro no Brasil com marcadores SCAR-café em multiplex-PCV. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.28, n.1, p. 1-10. 2004.
- R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. 2016. URL <https://www.R-project.org/>.
- REIS, P.R.; CUNHA, R.L. **Café Arábica do plantio a colheita**. Lavras: U.R. EPAMIG SM, 2010. 896p.
- RIBEIRO, R.C.F.; PEREIRA, A.A.; OLIVEIRA, C.H.; LIMA, R.D. de. Resistência de progênies de híbridos interespecíficos de *Coffea arabica* e *Coffea canephora* a *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.29, n.1, p. 11-16, 2005.
- ROBERTS, P.A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J.L; COOK, R.; BRIDGE, J. Plant resistance to parasitic nematodes. **CAB INTERNACIONAL**, 2002. p. 23-41.

- RODRIGUES, A.; ABRANTES, I. M. D.; MELILLO, M. T.; BLEVE-ZACHEO, T. Ultrastructural response of coffee roots to root-knot nematodes, *Meloidogyne exigua* and *M. megadora*. **Nematropica**, Flórida, v.30, p. 201–210, 2000.
- ROSSO, M. N.; VIEIRA, P.; ALMEIDA-ENGLER, J.; CASTAGNONE-SERENO, P. Proteins secreted by root-knot nematodes accumulate in the extracellular compartment during root infection. **Plant Signaling & Behavior**, Edinburgh, v.6, p. 1232-1234, 2011.
- SAKIYAMA, N. S.; MARTINEZ, H. E. P.; TOMAZ, M. A.; BORÉM, A. **Café arabica: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: UFV, 2015. 316p.
- SALGADO, S.M.L.; RESENDE, M.L.V.; CAMPOS, V.P. Reprodução de *Meloidogyne exigua* em cultivares de cafeeiros resistentes e suscetíveis. **Fitopatologia Brasileira**, Lavras, v.30, n.4, p. 413-415, 2005.
- SALGADO, S. M. L.; CARNEIRO, R. M. D. G.; PINHO, R. S. C. Aspectos técnicos dos nematoides parasitas dos cafeeiros. **Boletim técnico**, Belo Horizonte: EPAMIG, 2011. 60p.
- SALGADO, S.M.L.; REZENDE, J.C.; NUNES, J.A.R. Selection of coffee progenies for resistance to nematode *Meloidogyne paranaensis* in infested area. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.14, p. 94-101, 2014.
- SANTOS, J. M. dos. **Estudo das principais espécies de *Meloidogyne Goeldi* que infectam o cafeeiro no Brasil com descrição de *Meloidogyne Goeldii* sp. n. 1997**. 153 f. Tese (Doutorado). Botucatu: UNESP/ FCA. 1997.
- SANTOS, A.V.; ROCHA, R.B.; FERNANDES, C. F.; SILVEIRA, S. F.; RAMALHO, A. R.; VIEIRA JUNIOR, J. R. Reaction of *Coffea canephora* clones to the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **African Journal of Agricultural Research**, v. 12, p. 916-922, 2017.
- SARKAR, D.; ANDREWS, F. LatticeExtra: Extra Graphical Utilities Based on Lattice. R package version 0.6-28. 2016. <https://CRAN.R-project.org/package=latticeExtra>.
- SERA, G. H.; SERA, T.; AZEVEDO, J. A. de; MATA, J. S. da; RIBEIRO-FILHO, C.; DOI, D. S.; ITO, D. S.; FONSECA, I. C. de B. Porta-enxertos de café robusta resistentes aos nematoides *Meloidogyne paranaensis* e *M. incognita* raças 1 e 2. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.27, n.2, p. 171-184, 2006.
- SERA, G. H.; SERA, T.; MATA, J. S. da; ALEGRE, C. R.; FONSECA, I. C. de B.; ITO, D. S.; KANAYAMA, F. S.; BARRETO, P. C. Reaction of coffee cultivars Tupi IAC 1669-33 and IPR 100 to nematode *Meloidogyne paranaensis*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.9, p. 293-298, 2009.
- SERA, T.; SERA, G.H.; FAZUOLI, L.C.; MACHADO, A.C.Z.; ITO, D.S.; SHIGUEOKA, L.H.; SILVA, S.A. IPR 100 – Rustic dwarf Arabica coffee cultivar with resistance to nematodes *Meloidogyne paranaensis* and *M. incognita*. **Crop Breeding Applied Biotechnology**, Viçosa, v.17, p. 175-179, 2017.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L.; ZAMBOLIN, L. Primeiro relato de ocorrência de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro no estado de Goiás. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, p.187-190, 2009.

SILVA, S.A.; BICALHO, A.C.G.; SANTIAGO, D.C.; CUNHA, L.S.; MACHADO, A.C.Z. Inoculum densities interfere in the coffee genotype phenotyping to evaluate the resistance to *Meloidogyne incognita*. **Nematology**, Leiden, in press, 2019.

SILVAROLLA, M.B.; GONÇALVES, W.; LIMA, M.M.A. Resistência do cafeeiro a nematóides V – Reprodução de *Meloidogyne exigua* em cafeeiros derivados da hibridação de *Coffea arabica* com *C. canephora*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.22, n.1, p. 51-59, 1998.

SHIGUEOKA, L.H.; SERA, G.H.; SERA, T.; FONSECA, I.C. de B.; ANDREAZI E.; CARVALHO F.G.; CARDUCCI, F.C.; ITO, D.S. Reaction of Arabica coffee progenies derivative from Icatu to *Meloidogyne paranaensis*. **Bragantia**, Campinas, v.75, p. 193-198. 2016a.

SHIGUEOKA, L.H.; SERA, G.H.; SERA, T.; SILVA, S.A.; FONSECA, I.C. de B.; MACHADO, A.C.Z. Host reaction of arabica coffee genotypes derived from Sarchimor to *Meloidogyne paranaensis*. **Nematoda**, Campos dos Goytacazes, v.3, p. 10-16, 2016b.

SHIGUEOKA, L. H. Caracterização morfológica, bioquímica e fenotípica de populações de *Meloidogyne paranaensis* associadas ao cafeeiro. 2017. 78f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2017.

SHIGUEOKA, L.H.; DORIGO, O.F.; ARITA, L.Y.; FONSECA, I.C.B.; SILVA, S.A.; SERA, G.H.; MACHADO, A.C.Z. Histopathological characterization of *Coffea arabica* cultivar IPR 106 resistance to *Meloidogyne paranaensis*. **Scientia Agricola**, Piracicaba, no prelo, 2019.

SOUZA, S.E.; SANTOS, J.M.; MATOS, R.V.; RAMOS, J.A.; SANTOS, F.S.; FERRAZ, R. C.N.; CARVALHO, G.S.; OLIVEIRA, C.A. Levantamento preliminar de *Meloidogyne* em cafeeiros no Estado da Bahia – Planalto da Vitória da Conquista e Chapada Diamantina. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, 2000, Poços de Caldas. **Anais...** Brasília: EMBRAPA. p. 167-170. 2000.

STIGLER, M.; QUAST, B. Rddtools: Toolbox for Regression Discontinuity Design ('RDD'). R package version 0.4.0. 2015. <https://CRAN.R-project.org/package=rddtools>

VÁRZEA, V.M.P. & MARQUES, D.V. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: Zambolim, L., Maciel-Zambolim, E. & Várzea, V.M.P. (Eds.) Durable Resistance to Coffee Leaf Rust. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 2005. pp. 53-74.