

**ALINE FERREIRA BARROS**

**CARACTERIZAÇÃO DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne* spp. EM  
CAFEZAIS DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO E DA ZONA DA  
MATA DE MINAS GERAIS**

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

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2010**

**Aline Ferreira Barros**

**CARACTERIZAÇÃO DE POPULAÇÕES DE *Meloidogyne* spp. EM  
CAFEZAIS DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO E DA ZONA DA  
MATA DE MINAS GERAIS**

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

Aprovada: 24 de fevereiro de 2010.

---

Prof. Leandro Grassi de Freitas  
(Coorientador)

---

Dr. Antônio Alves Pereira  
(Coorientador)

---

Prof. José Rogério de Oliveira

---

Prof. Laércio Zambolim

---

Prof<sup>ª</sup>. Rosângela D' Arc de Lima Oliveira  
(Orientadora)

A Deus,  
Aos meus queridos e amados pais Sebastião e  
Maria das Graças,  
Aos meus irmãos,  
Aos meus avós,  
À toda minha família e amigos.

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização do Programa de Pós-Graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

À professora Rosângela D’Arc de Lima Oliveira, pela orientação, paciência e pelos ensinamentos.

Aos professores Leandro Grassi de Freitas, José Rogério de Oliveira, Laércio Zambolim e ao pesquisador Dr. Antônio Alves Pereira (EPAMIG), pelas sugestões e informações necessárias à correção deste trabalho.

Aos técnicos extensionistas do INCAPER: Valcir, Ernesto, Edmo, Agner, João e Max pelo auxílio nas coletas.

Ao pesquisador do INCAPER Inorbert de Melo Lima e seus bolsistas Amanda e Erick pela amizade, sugestões e auxílio nas coletas.

Ao prof. Laércio Zambolim e seu técnico Sérgio pelo auxílio nas coletas.

Ao professor Rodrigo Vieira da Silva do Instituto Federal Goiano – Campus Morrinhos pelas sugestões.

Aos bolsistas, Raul e Aline pela ajuda no desenvolvimento dos experimentos.

Aos produtores, que gentilmente nos deixaram adentrar suas lavouras e prestaram informações relevantes para o trabalho.

Ao Técnico Elói pela amizade e apoio.

A todos os colegas do laboratório de Nematologia: Dalila, Douglas, Elder, Emílio, Liliane, Naylor, Patrícia.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

ALINE FERREIRA BARROS, filha de Sebastião Geraldo de Barros e Maria das Graças Ferreira Barros, nasceu em 08 de junho de 1983, em Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 2007, graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais.

Em março de 2008, iniciou o programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, em nível de Mestrado, na área de Nematologia, na Universidade Federal de Viçosa.

# CONTEÚDO

	<b>Página</b>
RESUMO.....	vi
ABSTRACT .....	viii
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Coleta e multiplicação das populações de <i>Meloidogyne</i> spp. ....	12
3.2. Extração de nematoides do solo .....	13
3.3. Caracterização isoenzimática das populações de <i>Meloidogyne</i> spp. ....	14
3.4. Caracterização fisiológica das populações de <i>Meloidogyne</i> spp. ....	15
4. RESULTADOS e DISCUSSÃO.....	17
4.1. Caracterização isoenzimática das populações de <i>Meloidogyne</i> spp. ....	17
4.2. Caracterização fisiológica das populações de <i>Meloidogyne</i> spp.. ....	30
4.3. Outros fitonematoides associados ao cafeeiro no Estado do Espírito Santo.	31
5. CONCLUSÕES .....	34
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35

## RESUMO

BARROS, Aline Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2010. **Caracterização de populações de *Meloidogyne* spp. em cafezais do Estado do Espírito Santo e da Zona da Mata de Minas Gerais.** Orientadora: Rosângela D'Arc de Lima Oliveira. Coorientadores: Leandro Grassi de Freitas e Antônio Alves Pereira.

Os nematoides das galhas pertencentes ao gênero *Meloidogyne* spp. representam um fator limitante à cafeicultura brasileira por causarem grandes perdas. Devido às escassas informações sobre a ocorrência desses nematoides, principalmente na cafeicultura capixaba, objetivou-se estudar a distribuição de *Meloidogyne* spp. em *Coffea* spp. no Estado do Espírito Santo e complementar os levantamentos na Zona da Mata de Minas Gerais. Amostras de solo e raízes foram coletadas em 18 municípios no Estado do Espírito Santo e em 5 municípios na Zona da Mata de Minas Gerais. A identificação das espécies de *Meloidogyne* spp. foi realizada pelo fenótipo da isoenzima esterase e pela gama de hospedeiros. No Estado do Espírito Santo foram detectadas diversas espécies de *Meloidogyne* nas amostras analisadas. *Meloidogyne incognita*, fenótipo I1 e I2, foi encontrada em 18% do total das propriedades amostradas, sendo que em 81,25% das propriedades infestadas se plantava *C. canephora*. Esta espécie está presente em 55,5% dos municípios amostrados sendo encontrada principalmente na região Serrana e Norte do Estado. Em uma propriedade do município de Brejetuba, ela foi encontrada em mistura com *M. exigua*, e no município de Sooretama, em mistura com *M. paranaensis*. *Meloidogyne exigua*, fenótipo E1, foi detectada em 43,6% das propriedades e apenas em lavouras de *C. arabica*. Esta espécie foi encontrada em todos os municípios amostrados da Região Sul e em 66,6% dos municípios amostrados da Região Serrana, regiões onde o café arábica é cultivado em larga escala. *Meloidogyne paranaensis*, fenótipo P1, foi detectado em todos os municípios amostrados da região Norte do Estado, e é relatada pela primeira vez no Estado do Espírito Santo. As espécies *M. arenaria*, fenótipo A2, e *M. javanica* (J3) foram detectadas em Laranja da Terra parasitando plantas daninhas presentes na área, mas não em cafeeiros. Já na Zona da Mata de Minas Gerais foi encontrada apenas *M. exigua*, fenótipo E1, parasitando as plantas de cafeeiro arábica em todos os municípios coletados exceto no município de Paula Cândido, onde nenhuma espécie de *Meloidogyne* foi encontrada. As populações foram submetidas ao teste com plantas hospedeiras diferenciadoras para determinação das raças fisiológicas. Foram encontradas as raças 1 e 2 de *M. incognita* e *M. exigua* no Estado do Espírito Santo, e a raça 2 de *M. exigua* na Zona da Mata de Minas Gerais.

Nematoides dos gêneros *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Aphelenchoides*, *Aphelenchus*, *Xiphinema*, *Mesocriconema*, *Psilenchus*, *Hemicriconemoides*, *Discocriconemella*, *Ditylenchus*, *Rotylenchus*, estavam associados com a rizosfera do cafeeiro.

## ABSTRACT

BARROS, Aline Ferreira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2010. **Characterization of *Meloidogyne* spp. populations in coffee crops in Espírito Santo and Zona da Mata of Minas Gerais.** Adviser: Rosângela D'Arc de Lima Oliveira. Co-advisers: Leandro Grassi de Freitas and Antônio Alves Pereira.

The root-knot nematodes, belonging to *Meloidogyne* spp., represent a restraint factor to the Brazilian coffee crop because they cause too many losses. There is only some information on the occurrence of these nematodes, especially in coffee plantations in Espírito Santo State (ES), thus it was aimed to study the distribution of *Meloidogyne* spp. in *Coffea* spp. in this State and to complement the investigation in Zona da Mata in Minas Gerais (MG). Samples of soil and roots were collected from 18 municipalities on ES and 5 municipalities on the region of Zona da Mata of MG. The identification of species of *Meloidogyne* spp. was performed through esterase phenotype and differential host test. On ES, different species of *Meloidogyne* spp. were detected in the analyzed samples. *Meloidogyne incognita*, I1 and I2 phenotypes, was found in 18% of the sampled farm estates, and in 81.25% of these infested farms *C. canephora* was cultivated. This species of root-knot nematodes is present in 55.5% of the sampled municipalities, and it is found mainly in the mountain region and in the north of the State. This species was found in a mixture with *M. exigua* in a coffee crop in Brejetuba, and it was found in a mixture with *M. paranaensis* in Sooretama. *Meloidogyne exigua*, E1 phenotype, was detected in 43.6% of the farms and only in *C. arabica* crops. This species was found in all sampled municipalities in the southern region and in 66% of the sampled municipalities in the mountain region where arabica coffee is grown in large scale. In the north of the state, *M. paranaensis*, P1 phenotype, was detected in the sampled municipalities and it is reported by the first time in the state of Espírito Santo. The species *M. arenaria*, A2 phenotype, and *M. javanica* (J3) were detected in Laranja da Terra parasitizing weeds in the area, but not in coffee trees. However, in Zona da Mata in Minas Gerais, it was found only *M. exigua*, E1 phenotype, parasitizing coffee trees in all the municipalities where collection was performed, except in Paula Cândido municipality, where no species of *Meloidogyne* was found. The populations were tested by differential host plants in order to determine physiological races. It was found *M. incognita* and *M. exigua* races 1 and 2 in Espírito Santo, and *M. exigua* race 2 in Zona da Mata in Minas Gerais. Nematodes from genus *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Aphelenchoides*, *Aphelenchus*, *Xiphinema*,

*Mesocrinonema*, *Psilenchus*, *Hemicriconemoides*, *Discocriconemella*, *Ditylenchus*, *Rotylenchus*, were associated to coffee tree rizosphere.

## 1- INTRODUÇÃO

O café é um dos mais importantes produtos agrícolas do agronegócio internacional e o Brasil é o principal país produtor. Dois estados brasileiros se destacam no comércio do café, Minas Gerais que lidera a produção nacional, é responsável por 98,6% do café tipo arábica (*Coffea arabica*), distribuídos na região do Sul de Minas com 48,8% da produção, na Zona da Mata com 32% e no Cerrado (Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba) com 19,2% (Conab, 2009). O Espírito Santo destaca-se como maior produtor de café do tipo Conilon (*C. canephora*) (Conab, 2009).

Ao avaliar a evolução da cafeicultura nacional observa-se que os fitonematoides constituem um dos principais fatores limitantes ao processo produtivo da cultura. Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são os mais importantes, do ponto de vista econômico, devido aos grandes prejuízos que causam e pelo fato de algumas espécies estarem amplamente distribuídas nas regiões cafeeiras do Brasil e do mundo (Campos *et al.*, 1990).

Vários estudos sobre a ocorrência do nematoide das galhas em lavouras cafeeiras foram realizados em diversos Estados do Brasil. Em levantamento realizado por Oliveira *et al.* (2005b), *M. exigua* foi a única espécie detectada parasitando cafeeiros nos municípios da Zona da Mata de Minas Gerais, porém, alguns municípios da região que se destacam pela importância cafeeira ainda não foram explorados. No Estado do Espírito Santo pouco se sabe sobre a distribuição destes fitonematoides, sendo necessário um estudo mais amplo sobre a ocorrência destes parasitas em lavouras de *Coffea arabica* e *C. canephora*. Até recentemente, acreditava-se que todos os materiais oriundos de *C. canephora* fossem resistentes aos nematoides das galhas, razão porque pouca importância foi dada aos estudos de sua ocorrência e distribuição. Apesar disso, já se sabe que alguns clones do grupo ‘Conilon’ de *C. canephora* apresentam suscetibilidade a *Meloidogyne* spp.

Sendo o Espírito Santo o segundo maior produtor de café e o maior de café Conilon torna-se imprescindível fazer um levantamento nematológico nesse Estado para estabelecer medidas preventivas visando impedir a disseminação desses nematoides.

Estudar a ocorrência destes parasitas é de suma importância para fornecer subsídios para o manejo das áreas infestadas e permitir o conhecimento da diversidade entre e dentro das espécies dos nematoides das galhas.

Desta forma, objetivou-se com esse trabalho: a) Estabelecer a atual distribuição geográfica das espécies de *Meloidogyne* nos Estados do Espírito Santo e Zona da Mata de Minas Gerais; b) Avaliar a diversidade de *M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis* por meio de caracterização enzimática e fisiológica de diferentes populações de cada espécie; c) Detectar os demais fitonematoides que estão associados ao cafeeiro no Estado do Espírito Santo.

## 2- REVISÃO DE LITERATURA

O café é uma importante fonte de renda para a economia brasileira, devido a sua participação na receita cambial, transferência de renda aos outros setores da economia, contribuição à formação de capital no setor agrícola do país e expressiva capacidade de absorção de mão-de-obra.

O Brasil destaca-se como maior produtor e exportador mundial de café. Para safra de 2009 estima-se uma produção de 39,07 milhões de sacas e uma exportação de 25,1 milhões de sacas de café (Conab, 2009). Além disto, o Brasil ocupa a segunda posição entre os maiores consumidores, sendo a primeira posição ocupada pelos Estados Unidos.

Os principais Estados brasileiros produtores de café são: Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Paraná, Rondônia e Rio de Janeiro, totalizando 98,2% da produção nacional (Conab, 2009). O gênero *Coffea* apresenta aproximadamente 100 espécies de cafeeiros, porém, somente duas espécies, *C. canephora* e *C. arabica*, representam a totalidade comercializada da produção mundial de café (Ferreira *et al.*, 2005).

A produção do café tipo arábica representa 72,49% da produção do País, ou seja, 28,3 milhões de sacas de café beneficiado. O Estado de Minas Gerais se destaca como maior produtor de café arábica com uma produção de 18,97 milhões de sacas de café beneficiado (Conab, 2009).

No Estado do Espírito Santo são cultivadas as espécies de *C. arabica* e *C. canephora*, sendo que esta última se expandiu principalmente nas regiões com altitudes inferiores a 400 m e com temperatura média anual de 22-26 °C (Matiello *et al.*, 2004). Na região Norte do Estado é cultivada com predominância a espécie *C. canephora*, sendo o ‘Conilon’ a principal variedade e nas regiões Sul e Serrana destaca-se *C. arabica* (Dias *et al.*, 1996).

Atualmente, observa-se um aumento na participação da espécie *C. canephora* na produção mundial de café. A mesma tendência de crescimento ocorre no Brasil (Ponciano *et al.*, 2008). O Brasil é o segundo maior produtor mundial de Conilon. O mesmo participa da produção nacional com 27,5% (10,75 milhões de sacas de café beneficiado), sendo o Estado do Espírito Santo o maior produtor dessa variedade, com uma produção de 7,55 milhões de sacas de café beneficiado (Conab, 2009). Para o café do tipo arábica o Estado do Espírito Santo obteve uma produção de 2.603 milhões de

sacas de café no ano de 2009. Embora, seja de grande importância sócio-econômica para o Estado, a produtividade média do café Conilon (25,60 sacas beneficiadas por hectare) é baixa, isto é, aquém do potencial desta cultivar (Conab, 2009). Os principais municípios produtores de café do Estado do Espírito Santo são: Jaguaré, Sooretama, Linhares e Rio Bananal (Ponciano *et al.*, 2008).

Dentre os principais fatores limitantes à cafeicultura brasileira destacam-se os nematoides das galhas pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, os quais se encontram amplamente disseminados e distribuídos nas plantações de café do Brasil, onde causam grandes perdas para os produtores e para a economia do país (Campos & Villain, 2005).

No Brasil, os danos causados pelos nematoides em cafeeiros já são conhecidos desde 1878 com a visita de Jobert à província do Rio de Janeiro. Dando sequência a esses estudos, o suíço Emilio Goeldi preparou um relatório abrangente de suas viagens pelas lavouras cafeeiras do Rio de Janeiro, no qual descreveu o agente etiológico da doença e nomeou-o *Meloidogyne exigua*, estabelecendo deste modo o gênero *Meloidogyne* (Goeldi, 1892, reeditado por Moura, 1998).

Além dos nematoides das galhas outros fitonematoides são encontrados associados ao cafeeiro, formando um grupo numeroso de espécies pertencentes aos gêneros: *Aphelenchus*, *Mesocriconema*, *Ditylenchus*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchulus* e *Tylenchus* (Campos *et al.*, 1985). No entanto, estes são considerados como fitonematoides de importância secundária, não causando danos significativos para a cultura do cafeeiro (Pinheiro *et al.*, 2000).

Algumas espécies de *Pratylenchus*, como *P. coffeae* e *P. brachyurus*, podem causar grandes prejuízos a cultura (Campos *et al.*, 1990). No Brasil, apesar dessas espécies serem bastante disseminadas em plantações de café, aparentemente não tem causado danos expressivos. Gotoh (1985) relatou que *P. brachyurus* e *P. coffeae* podem causar desenvolvimento retardado, desfolha, redução no sistema radicular e fortes sintomas de deficiência nutricional em cafeeiros. Na Guatemala, Villain *et al.* (2000) observaram, em condições de campo, elevada mortalidade de cafeeiros causada por *Pratylenchus* spp., principalmente por *P. coffeae*.

Os fitonematoides causam perdas de aproximadamente 20% na cultura do cafeeiro, sendo os nematoides das galhas responsáveis por 80% destas perdas (Lordello, 1984), a qual implica em importante queda da produtividade global do café (Guerra Neto *et al.*, 1985; Campos *et al.*, 1990).

No Brasil, as espécies de nematoides das galhas economicamente mais importantes por infectarem os cafeeiros são *Meloidogyne incognita*, *M. exigua* e *M. paranaensis* (Campos & Villain, 2005). *M. coffeicola* e *M. hapla* são também parasitas do cafeeiro, mas não estão entre as espécies mais disseminadas (Gonçalves, 1992).

*Meloidogyne incognita* e *M. paranaensis* são as espécies mais destrutivas ao cafeeiro. Estas espécies causam rachaduras e degradação dos tecidos corticais, especialmente da raiz principal, podendo inclusive causar morte das plantas. A primeira possui incidência generalizada em regiões de solos arenosos do Estado de São Paulo e Paraná, onde aparece algumas vezes em populações isoladas, outras em mistura com *M. paranaensis* (Carneiro *et al.*, 2005b). A mesma já foi detectada em poucas propriedades cafeeiras dos Estados do Espírito Santo (Lordello & Hashizume, 1971), Ceará (Ponte & Castro, 1975), Minas Gerais (Lima & Ferraz, 1985), Bahia (Souza *et al.*, 2000), Rio de Janeiro (Barbosa *et al.*, 2004b) e Rondônia (Fernandes *et al.*, 2009). Já a segunda estava limitada ao Estado do Paraná, porém, atualmente, essa espécie já se encontra disseminada no Estado de São Paulo (Lordello & Lordello, 2001). Em Minas Gerais existem três municípios com relatos de sua ocorrência: Patrocínio e Serra do Salitre, na região do Alto Paranaíba (Castro *et al.*, 2003b) e Piumhi, no sul do Estado (Castro *et al.*, 2008). Em Goiás há apenas um relato no município de Catalão (Silva *et al.*, 2008).

*Meloidogyne exigua*, causa galhas tipicamente arredondadas, principalmente nas raízes mais finas e superficiais. Esta espécie apesar de ser menos agressiva quando comparada com *M. incognita* e *M. paranaensis*, é a que causa os maiores prejuízos a cafeicultura nacional em condições de solos arenosos (Gonçalves & Silvarolla, 2001; Silva, 2005). Isto se deve ao fato de estar amplamente disseminada nos cafezais brasileiros (Campos & Villain, 2005). Sua ocorrência é freqüente em regiões cafeeiras emergentes de Minas Gerais e da Bahia (Souza *et al.*, 2000; Pinheiro *et al.*, 2000).

*Meloidogyne coffeicola*, causa discreto engrossamento e rachaduras na região cortical, onde os ovos são depositados. As raízes infectadas apresentam pequenas manchas, muito numerosas, correspondendo às massas de ovos (Carneiro *et al.*, 1996b). Esse nematoide foi detectado por muitos anos em cafezais nos Estados do Paraná e de São Paulo. No Alto Paranaíba, *M. coffeicola* foi detectada em uma propriedade (Castro *et al.*, 2004) e também no Sul de Minas Gerais (Guerra Neto *et al.*, 1983). Acredita-se que *M. coffeicola* tenha sido erradicada de muitas plantações durante a renovação dos cafezais, principalmente após a geada de 1975 (Campos & Villain, 2005)

O foco de *M. coffeicola* que ocorria no município de Machado, no Sul de Minas Gerais (Guerra Neto *et al.*, 1983) foi erradicado juntamente com a eliminação do cafezal (Campos & Villain, 2005). Portanto, atualmente, não se tem constatação de cafezal infestado por *M. coffeicola* nesta região.

Em estudos recentes nos municípios do Oeste do Paraná, Portz *et al.* (2006) verificaram que 36,5% das propriedades rurais estavam infestadas com *Meloidogyne* spp. A ocorrência de meloidoginoses ficou restrita a infestações ocasionadas por *M. paranaensis* e *M. exigua*, enquanto *M. incognita* e *M. javanica* foram encontradas apenas parasitando plantas daninhas nas entrelinhas de algumas lavouras. Foi sugerido por estes autores que o não parasitismo de *M. incognita* a plantas de café no Oeste do Paraná poderia estar relacionado ao solo argiloso desta região.

O primeiro registro de nematoides parasitando cafeeiro na Bahia data de 1973, quando Sharma & Sher (1973) detectaram *Meloidogyne* sp. e outros gêneros de nematoides de importância secundária parasitando raízes de cafeeiros na região Sul da Bahia. Em levantamento realizado por Souza *et al.* (2000) no Estado da Bahia (Planalto de Vitória da Conquista e Chapada Diamantina) 57,3% dos cafeeiros estavam infectados com *M. exigua*, 18,1% com *M. incognita* e 15,9% com nematoides das lesões, *Pratylenchus* sp., associados a *M. exigua* e *M. incognita*.

No Estado do Rio de Janeiro, *M. exigua* foi detectada em 70% das lavouras amostradas e *M. incognita* foi detectada pela primeira vez parasitando *C. canephora* cv. Conilon no município de Bom Jesus de Itabapoana (Barbosa *et al.*, 2004b).

Em levantamento realizado por Dias *et al.* (1996) no Estado do Espírito Santo foram detectadas amostras de raízes de cafeeiros arábica infectadas por *M. exigua*. Estas amostras eram provenientes das regiões Serrana e Sul do Estado, onde o café arábica é cultivado em larga escala. *M. incognita* não foi encontrada neste levantamento, embora a sua presença no Estado já tenha sido assinalada em *C. canephora* cv. Conilon no município de Baixo Guandu (Lordello & Hashizume, 1971) e em *C. arabica*, no Município de Colatina (Sharma, 1976).

*Meloidogyne javanica* já foi identificado em diferentes regiões produtoras de café do Brasil, todavia, não foi comprovada a sua capacidade de infectar o cafeeiro (Portz *et al.*, 2006). Mesmo não sendo parasita dessa planta, dados sobre a ocorrência desse nematoide são epidemiologicamente importantes uma vez que lavouras de cafeeiro infestadas com estas espécies podem ser substituídas por lavouras comerciais de outras culturas hospedeiras (Roese *et al.*, 2001).

Os fitonematoides podem ser disseminados por partes propagativas como sementes e mudas, substratos contaminados, ferramentas, água de irrigação, trânsito de máquinas desde o preparo do solo até a colheita (Agrios, 1988). Apesar das normas proibitivas que controlam a comercialização de mudas de café infectadas por nematoides do gênero *Meloidogyne*, estas se tornaram o meio mais eficiente de disseminação destes parasitas à longa distância (Gonçalves & Silvarolla, 2001).

Recentemente, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) classificou as espécies de *Meloidogyne* que parasitam o cafeeiro como Praga Não Quarentenária Regulamentada (PNQR), o que foi publicado na portaria nº 47 de 26 de fevereiro de 2009 (Mapa, 2009). Contudo, a instrução normativa que regulamenta a produção e comercialização de mudas de cafeeiro no âmbito nacional ainda não foi publicada.

Mudas infectadas com nematoides já foram observadas em alguns viveiros dos Estados do Espírito Santo e Rondônia, que são os grandes produtores do café Conilon (Fernandes *et al.*, 2009). Certamente, o principal fator que contribui para essa contaminação é o uso de solo não desinfestado para a produção das mudas. Outro fator importante é o mito de que todos os materiais de *C. canephora* são resistentes aos nematoides das galhas. Nesse sentido, esses dois fatores podem estar, silenciosamente, contribuindo para uma disseminação passiva direta de *Meloidogyne* spp. nas áreas de cultivo.

O controle de fitonematoides em lavouras cafeeiras é na maioria das vezes ineficiente e se a área estiver infestada é praticamente impossível elimina-los (Gonçalves & Silvarolla, 2001). As medidas preventivas são de suma importância para evitar perdas causadas pelos nematoides das galhas. Estas medidas iniciam-se com o planejamento da implantação do cafezal, o que é fundamental para o sucesso sanitário da lavoura, devendo-se dar preferência a solos onde o café não tenha sido cultivado, nem mesmo com culturas suscetíveis aos nematoides que infectam o cafeeiro. Devem ser feitas amostragens do solo e das raízes das plantas presentes no local para realização de análise nematológica do solo.

O controle cultural, biológico, químico e genético são estratégias de manejo que visam reduzir a população de fitonematoides (Gonçalves & Pereira, 1998), porém a medida mais efetiva e segura para o controle destes parasitas é a utilização de cultivares resistentes principalmente como porta-enxerto. Assim, muito esforço é dedicado ao desenvolvimento de variedades resistentes (Fassuliotis, 1985). Entretanto, devido à

polifagia e a diferença biológica ligada ao parasitismo entre populações da mesma espécie, há uma dificuldade na implementação de programas de resistência varietal e rotação de culturas (Campos & Villain, 2005). Além disto, programas de melhoramento vegetal para a incorporação de genes de resistência a nematoides, constituem um processo que demanda tempo, considerando-se a perenidade que é peculiar ao cafeeiro (Gowen, 1994).

Ao contrário do que se verifica em *C. arabica*, fontes de resistência aos nematoides do gênero *Meloidogyne* foram encontradas em outras espécies de *Coffea*. Diversos autores relatam a resistência de *C. canephora*, *C. congensis*, *C. dewevrei*, *C. liberica*, *C. racemosa* e *C. salvatrix* à *M. exigua* (Curi *et al.*, 1970; Fazuoli & Lordello, 1977; Ribeiro *et al.*, 2001)

Estudos conduzidos com *M. incognita* e *M. paranaensis* revelaram plantas resistentes pertencentes a *C. canephora* e *C. congensis*, porém a maioria segregou para a resistência (Fazuoli *et al.*, 1978; Fazuoli *et al.*, 1983; Gonçalves & Ferraz, 1987; Lima *et al.*, 1987; Gonçalves *et al.*, 1988; Gonçalves *et al.*, 1996; Sera *et al.*, 2006).

A cultivar Apoatã, selecionada a partir de *C. canephora* cv. Robusta, apresenta resistência às raças 1, 2 e 3 de *M. incognita*, a *M. paranaensis* e imunidade a *M. exigua* (Fazuoli *et al.*, 2007). Seu uso se destina à enxertia com cultivares de café arábica, o que permitiu aos produtores de São Paulo e Paraná a renovação de lavouras improdutivas ou mortas, devido a ampla disseminação dos nematoides das galhas.

Estudos realizados por Gonçalves & Pereira (1998), Bertrand *et al.* (1997), Bertrand *et al.* (2001) e Silva *et al.* (2007) mostraram que muitas linhagens derivadas do híbrido interespecífico entre *C. arabica* e *C. canephora* (Híbrido de Timor) apresentaram resistência a *M. exigua* similar às observadas em *C. canephora*. Recentemente, foi identificado o gene Mex-1, obtido a partir de *C. canephora*, que confere resistência a *M. exigua* em *C. arabica* (Noir *et al.*, 2003).

Com relação à resistência genética de Conilon, há pouca informação na literatura. Lordello & Lordello (1987) observaram suscetibilidade do Conilon col. 67-14 às raças 1 e 2 de *M. incognita*. As plantas 10-1 e 10-2 de Conilon foram resistentes às raças 1 e 2 de *M. incognita* e à *M. paranaensis* segundo Sera *et al.* (2006).

Carneiro *et al.* (2009) avaliaram a resistência de clones de *Coffea canephora* da cultivar 'Vitória - Incaper 8142' e os clones 14 (tolerante a seca) e 22 (não tolerante a seca) a diferentes populações de *Meloidogyne* spp. e concluíram que existem fontes de resistência genética em variedades do grupo Conilon a *M. paranaensis*, a *M. exigua* e a

populações de *M. incognita* e que o clone 14 (resistente a seca) é resistente a todas as espécies e populações de *Meloidogyne* do cafeeiro estudadas no trabalho. A mesma informação se aplica aos estudos de Contarato *et al.* (2009) para uma população de *Meloidogyne exigua*.

Assim, o sucesso do uso de cultivares resistentes está na dependência do conhecimento das espécies ou raças dos nematoides presentes na área, pois a resistência é na maioria das vezes específica (Gonçalves & Silvarolla, 2001).

A identificação precisa dos nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp. até o momento é uma tarefa árdua e passível de muitos erros, mesmo para nematologistas experientes, devido as diferenças biológicas ligadas ao parasitismo das espécies ou raças e critérios taxonômicos subjetivos, demorados e pouco práticos (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990). Além disto, a diagnose é bastante dificultada pelo elevado número de espécies e pela variabilidade morfológica intra-específica. Essa variabilidade provavelmente se deve ao modo de reprodução desses nematoides, que varia de anfimixia à partenogênese facultativa ou obrigatória; ao grau de ploidia, que vai desde haplóide até vários níveis de poliploidia; além de variações no número de cromossomos somáticos, que variam de 14 a 74 (Carneiro & Almeida, 2000).

A identificação das espécies de *Meloidogyne* é feita com base em diferentes técnicas, como o estudo da configuração perineal de fêmeas (Taylor & Netscher, 1974); a morfologia da região labial e estilete de juvenis de segundo estágio, de machos e de fêmeas; a gama de hospedeiros (Hartman & Sasser, 1985); características citogenéticas (Triantaphyllou, 1985), análises bioquímicas (Hussey *et al.*, 1972) e moleculares (Curran *et al.*, 1986).

A configuração da região perineal de fêmeas maduras foi a técnica morfológica mais utilizada na identificação de espécies de *Meloidogyne*, pelo fato desta região conter inúmeras estrias formando desenhos característicos de cada espécie. Entretanto, Carneiro *et al.* (2005b) sugeriram que as espécies de *Meloidogyne* spp. de cafeeiros do Brasil e de outros países são freqüentemente identificadas incorretamente devido ao uso da região perineal e hospedeiros diferenciadores como caracteres específicos. Uma dificuldade da utilização desta técnica para fins taxonômicos é o surgimento de populações com configurações perineais atípicas, além do caráter subjetivo na avaliação das mesmas (Castro *et al.*, 2003a).

Outras técnicas bastante promissoras na identificação de espécies deste gênero são baseadas na análise de proteínas e DNA. *Meloidogyne* spp. apresentam atividades

para diferentes isoenzimas cujo fenótipo é utilizado para fins taxonômicos (Kunieda De Alonso & Alfenas, 1998).

Dentre as técnicas para análise de proteínas (enzimáticas ou não), a eletroforese em gel de poliacrilamida é a mais versátil e facilmente aplicável. Foi confirmado que o fenótipo de esterase é uma característica bioquímica de grande valor na identificação das principais espécies do gênero e de novas espécies em pesquisa (Carneiro *et al.*, 1996a). As isoenzimas malato desidrogenases são auxiliares na diferenciação de espécies cujas esterases são idênticas, como é o caso de *M. naasi* e *M. exigua* (Esbenshade & Triantaphyllou, 1990, 1985).

Estudos realizados por Carneiro *et al.* (1996b) confirmaram que esta técnica além de identificar as espécies mais frequentes possibilitou a detecção de uma nova espécie, *M. paranaensis*, que foi confundida com *M. incognita* durante 14 anos.

Em estudo realizado por Carneiro *et al.* (2004) com populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de cafezais de diferentes regiões do Brasil, América Central e E.U.A, houve a caracterização da diversidade genética dos nematoides de galhas, com base nos fenótipos de esterase, morfologia e polimorfismo molecular. Os fenótipos de esterase (Est) mostraram-se específicos e uma ótima ferramenta para identificar espécies de *Meloidogyne* em cafeeiro: *M. incognita* (Est I1, I2), *M. paranaensis* (Est P1, P2), *M. arenaria* (Neal, 1889) Chitwood, 1949 (Est A2), *M. arabicida* López & Salazar, 1989 (Est AR2), *M. exigua* (Est E1), *M. mayaguensis* Rammah & Hirschmann, 1988 (Est M2) e duas populações desconhecidas, (Est SA2, SA4), posteriormente descritas como *M. izalcoensis* (Carneiro *et al.*, 2005a). Porém, os padrões perineais, quando usados isoladamente, foram um critério subjetivo e pouco preciso, sendo útil como um método complementar junto com a caracterização enzimática para conferir a consistência morfológica da identificação. As características de machos foram importantes para confirmar a diagnose de algumas espécies que, desta forma, podem ser diferenciadas. Este é o caso de *M. paranaensis*, *M. konaensis* e *M. incognita*, estudadas neste trabalho.

Variações intra-específicas podem ser encontradas em populações a campo, devido ao elevado grau de parasitismo imposto por *Meloidogyne* spp. a seus hospedeiros. Raças fisiológicas já foram relatadas em diferentes espécies como *M. javanica* (Carneiro *et al.*, 2003), *M. incognita* e *M. arenaria* (Hartman & Sasser, 1985), *M. hapla* (Wofford *et al.*, 1989), *M. exigua* (Silva, 2005) e *M. chitwood* (Mojtahedi *et al.*, 1988).

A identificação de raças fisiológicas em espécies do gênero *Meloidogyne* é realizada pelo teste de hospedeiros diferenciadores proposto pela Universidade Estadual da Carolina do Norte, o qual auxilia na escolha de cultivares resistentes a raças específicas de uma determinada região (Franzener *et al.*, 2005).

Diante disto, pode-se perceber a importância do estudo da ocorrência e distribuição destes fitonematoides para obtenção de informações básicas que auxiliem na tomada de decisão, sendo imprescindível uma identificação correta das espécies ou raças que atacam o cafeeiro para o posterior manejo destes fitoparasitas em áreas infestadas. O conhecimento prévio dessa diversidade facilitará de forma efetiva as ações futuras em melhoramento genético visando resistência a *Meloidogyne* spp.

### 3- MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Coleta e multiplicação das populações de *Meloidogyne* spp.

Um total de duzentos e dezenove amostras de solos e raízes foram coletadas, ao acaso, em áreas produtoras de café cultivadas com *Coffea arabica* e *Coffea canephora* no Estado do Espírito Santo nos seguintes municípios: Laranja da Terra, Afonso Cláudio, Venda Nova do Imigrante, Domingos Martins, Brejetuba, Alegre, Jerônimo Monteiro, Muniz Freire, Iuna, Ibitirama, Ibatiba, Irupi, Castelo, Sooretama, Jaguaré, Baixo Guandu, Vila Valério, Linhares e na Zona da Mata de Minas Gerais nos municípios de Viçosa, Ervália, Araponga, São Miguel do Anta, Paula Cândido.

As amostras compostas de solo e raízes foram retiradas na projeção da copa de cafeeiros vivos e com sintomas, a uma profundidade de aproximadamente 20 cm por meio do caminhamento em zigue-zague na área.

Cerca de cinco a dez subamostras foram coletadas dependendo do tamanho da área de plantio da lavoura cafeeira, as quais foram misturadas para obtenção da amostra composta. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos, devidamente identificados, juntamente com uma ficha de informações e encaminhadas para o laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em caixa de isopor, onde as amostras foram processadas.

Raízes de cafeeiro contendo galhas foram diretamente dissecadas com auxílio de estiletes de ponta fina, e fêmeas de coloração branca leitosa foram removidas sob microscópio estereoscópio.

Amostras cujas raízes apresentavam-se em estado avançado de degradação tiveram suas raízes picadas em tamanho de aproximadamente 2 cm e misturada com o solo amostrado, colocados em vasos de plástico com capacidade de 1 L, para o qual uma muda de cafeeiro (Catuaí) e tomateiro (Santa Cruz Kada) ou pimentão (Early Califórnia Wonder) foram transplantadas para cada vaso. O cafeeiro é o hospedeiro tipo do nematoide a ser multiplicado, porém a reprodução de *Meloidogyne* spp. nessa planta é lenta e devido a isto, plantas de pimentão foram, também, transplantadas para vasos contendo solo mais raízes amostrados, quando estas apresentavam sintomas característicos de *M. exigua*. Quando as raízes apresentavam sintomas característicos de *M. incognita* ou *M. paranaensis* uma muda de tomateiro foi transplantada para o vaso. As plantas foram colocadas em condições de casa-de-vegetação no Departamento de

Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa para multiplicação dos nematoides e posterior caracterização bioquímica e fisiológica.

Após 60 dias as plantas tiveram seus sistemas radiculares lavados em água corrente para a verificação da presença ou ausência de galhas causadas pelo nematoide das galhas. As plantas receberam os devidos tratos culturais, além dos devidos cuidados para evitar a contaminação entre as diferentes populações em estudo.

### **3.2. Extração de nematoides do solo**

No laboratório, 92 amostras compostas de solo provenientes do Estado do Espírito Santo foram submetidas ao método de extração de nematoides conforme Jenkins (1964) ou método da flotação centrífuga em solução de sacarose: uma alíquota de 100 cm<sup>3</sup> de solo foi colocada em um béquer, e em seguida, adicionados 1,5 L de água. A suspensão resultante foi agitada até o completo destorroamento da amostra e deixada em repouso por 20 segundos. O líquido sobrenadante foi vertido em peneiras com abertura de 0,84 mm e 0,038 mm sobrepostas (20 mesh e 400 mesh, respectivamente); o material retido na peneira mais fina foi coletado com o auxílio de jatos de água emitidos por uma pisseta. Esse material foi transferido para tubo de centrífuga e submetido à centrifugação a 1750 rpm, por cinco minutos. O líquido sobrenadante foi eliminado cuidadosamente e ao tubo foi adicionada solução aquosa de sacarose (454g/L) para ressuspensão do material decantado, o qual foi então centrifugado novamente, à mesma rotação. O sobrenadante foi vertido sobre a peneira de 400 mesh e efetuadas lavagens com água corrente para eliminar a sacarose. O que ficou retido nessa peneira foi recolhido, com auxílio de jatos de água de uma pisseta, em um béquer. O volume final da suspensão foi ajustado para 4 mL. Os nematoides extraídos foram mortos a 45°C, por 5 minutos, em aquecimento tipo banho-maria. A seguir, os nematoides foram fixados em TAF (2 mL de trietanolamina, 7 mL de formaldeído a 40 % e 91 mL de água destilada) e montados em lâminas semipermanentes para observação em microscópio de luz. A identificação dos gêneros dos fitonematoides foi realizada com o auxílio de chave dicotômica (Mai e Lyon, 1996).

### 3.3. Caracterização isoenzimática das populações de *Meloidogyne* spp.

Fêmeas adultas em início de postura e com coloração branco-leitosa foram retiradas das amostras recém coletadas ou após 60 dias de multiplicação nas raízes de tomateiro/pimentão. Elas foram transferidas para microtubos (ependorf) de 0,5 mL, contendo 10 µL de tampão de extração de proteínas conforme metodologia de Ornstein (1964) e Davis (1964). Foi utilizado o sistema descontínuo de eletroforese vertical em gel de poliacrilamida, cujas concentrações de bis-acrilamida foram de 8 % e 4 % nos géis separador e empilhador, respectivamente. Quando a corrida eletroforética não foi realizada no mesmo dia, as fêmeas foram mantidas em congelador, à temperatura aproximada de -10 °C.

Anteriormente à aplicação das amostras no gel, as fêmeas foram trituradas com um bastão de plástico de extremidade arredondada, nos próprios microtubos (ependorf), sobre bloco de gelo, para evitar a desnaturação das proteínas.

Nas corridas eletroforéticas foram utilizadas 12 fêmeas de cada população, ou seja, uma fêmea por cavidade do gel, isto quando as plantas apresentaram sintomas de *M. incognita* ou *M. paranaensis*. Quando as plantas apresentavam galhas típicas de *M. exigua* foram utilizadas 25 fêmeas por cavidade do gel, para possibilitar a detecção da enzima avaliada, pois as fêmeas típicas dessa espécie, mesmo maduras, apresentam dimensões diminutas e baixo conteúdo de esterase.

O extrato protéico proveniente de *M. javanica* foi incluído na primeira, oitava e última cavidade de cada gel para garantir o padrão de comparação dos fenótipos encontrados.

A corrida eletroforética foi realizada em refrigerador, a aproximadamente 4 °C, mantendo-se a voltagem de 80 V na corrida de empilhamento e 200 V na corrida de separação das proteínas. A migração foi monitorada por meio do deslocamento da linha frontal do azul-de-bromofenol e a eletroforese foi interrompida quando faltava 1 cm para esta linha atingir a extremidade inferior do gel, isto é, cerca de 40 minutos após o início da corrida.

Após interromper a eletroforese, o gel foi retirado da placa, o gel empilhador foi descartado, e o gel de separação foi mergulhado em uma solução de revelação preparada imediatamente antes de seu uso, visando à revelação da isoenzima esterase (EST), conforme descrito por Alfenas *et al.*, (1991). Após 15 minutos, o gel foi lavado em água de torneira e colocado em uma mistura de água destilada, álcool metílico e ácido acético (na proporção 5:5:1) por no mínimo 30 minutos, para fixação das bandas. Após lavar o

excesso da solução fixadora com água da torneira, o gel foi submetido à secagem, utilizando-se o método do bastidor, descrito por Alfenas & Brune (1998). Após 24 horas, os géis foram removidos dos bastidores, etiquetados e arquivados, para posterior análise dos resultados. Os fenótipos isoenzimáticos apresentados pelas populações foram identificados segundo Esbenschade & Triantaphyllou (1990).

Para as populações relatadas pela primeira vez no Estado foram realizados outros padrões enzimáticos, tais como, a malato desidrogenase (MDH), superóxido dismutase (SOD) e glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT). Também para essas populações, pelo menos treze fêmeas branco-leitosas foram removidas de raízes infectadas e imediatamente transferidas para uma gota de solução de ácido láctico a 45%. A região perineal de cada fêmea foi cortada, limpa e montada em lâmina com glicerina, para identificação em microscópio de luz, conforme Taylor & Netscher (1974).

#### **3.4. Caracterização fisiológica das populações de *Meloidogyne* spp.**

As populações obtidas foram avaliadas quanto à variabilidade intraespecífica, submetendo-as ao teste de hospedeiros diferenciadores proposto pela Universidade Estadual da Carolina do Norte (Hartman & Sasser, 1985). Para *M. exigua*, usaram-se os diferenciadores propostos por Carneiro & Almeida (2000). As populações de *M. incognita* foram avaliadas em plantas de fumo cv. NC 95, algodão cv. Deltapine 61 e tomateiro cv. Rutgers e as populações de *M. exigua* foram multiplicadas em tomateiro cv. Rutgers e em cafeeiro cv. Catuaí Vermelho IAC 44.

Para tal, as sementes de cada uma destas espécies foram semeadas em bandejas para germinação e transplantadas quando atingiram o estágio de 2-3 pares de folhas totalmente desenvolvidas para vasos de 1L de capacidade, contendo uma mistura de solo e areia na proporção 2:1, tratado com brometo de metila.

A suspensão de ovos de cada população de *Meloidogyne* spp. foi obtida conforme Boneti & Ferraz (1981). Assim, raízes foram lavadas cuidadosamente em água corrente para retirar partículas de solo aderidas, picadas em pedaços de aproximadamente 1 a 2 cm e trituradas em liquidificador com solução de NaOCl 0,5% por 20 segundos. A suspensão de ovos e raízes foi vertida em uma peneira de 0,074 mm de abertura (200 “mesh”), acoplada a outra de 0,025 mm (500 “mesh”), ficando os ovos retidos nesta última. A contagem dos ovos foi feita em câmara de Peters, e a suspensão foi calibrada para 1000 ovos/mL em microscópio de luz.

Cada planta foi inoculada com 5000 ovos de nematoides da espécie a ser testada e para cada espécie vegetal diferenciadora foram utilizadas seis repetições distribuídas ao acaso. Após 60 dias da inoculação as raízes das diferentes espécies foram coloridas com Floxina B (150 mg em um litro de água), durante 15 a 20 minutos, e, então, o número de galhas e massas de ovos por sistema radicular foram avaliados para determinação da reação das plantas diferenciadoras, conforme escala proposta por Taylor & Sasser (1978). Considerou-se como hospedeiro susceptível as plantas que apresentaram índice maior que 2 (número de galhas ou massas de ovos  $> 10$ ), e resistente aquelas que apresentarem índices igual ou inferior a 2 (número de galhas ou massa de ovos  $\leq 10$ ).

## 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização isoenzimática das populações de *Meloidogyne* spp.

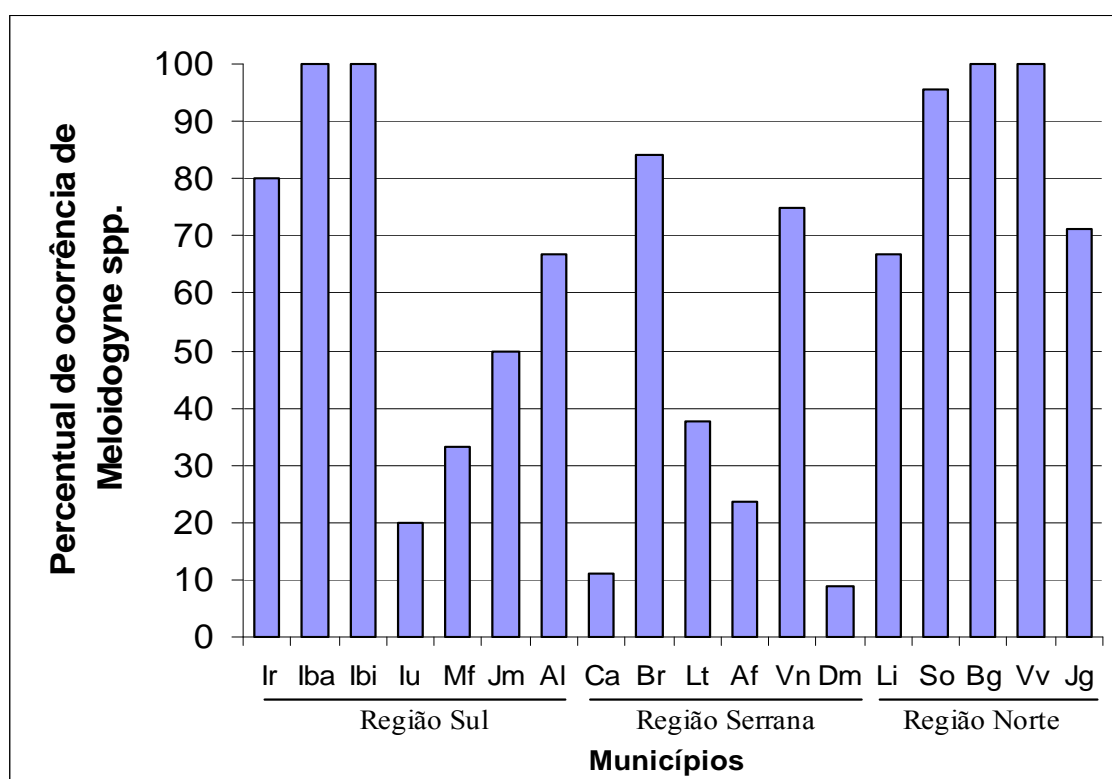
O nematoide das galhas foi detectado em todos os municípios avaliados numa frequência média de 64% das amostras coletadas (figura 1). A menor frequência de ocorrência foi verificada em Castelo e Domingos Martins com 11 e 9%, respectivamente. As maiores frequências foram observadas em Ibatiba, Ibitirama, Baixo Guandu e Vila Valério com 100% de ocorrência em cada um dos municípios (figura 1). Aproximadamente 62% das propriedades cafeeiras amostradas estavam infestadas com os nematoides do gênero *Meloidogyne*.

No Estado do Espírito Santo, *M. incognita*, foi detectada em 18% do total das propriedades amostradas e 16% do total das amostras (figura 2), sendo que 81,25% destas propriedades infestadas eram produtoras de *C. canephora*. Esta espécie de nematoide está presente em 55,5% dos municípios amostrados sendo encontrada principalmente na região Serrana e Norte do Estado (tabela 1 e figura 3). No município de Brejetuba, *M. incognita* foi detectada apenas em uma propriedade, onde foi encontrada em mistura com *M. exigua*. Em algumas áreas do município de Sooretama este nematoide foi encontrado em mistura com *M. paranaensis*. Em Vila Valério, *M. incognita* foi detectada em mistura com *M. arenaria* em uma propriedade. No entanto, *M. arenaria* estava apenas parasitando plantas daninhas presentes na área. Foram observados os fenótipos I1 e I2 de *M. incognita*, o primeiro foi encontrado em 53% das propriedades e o segundo em 47% das propriedades.

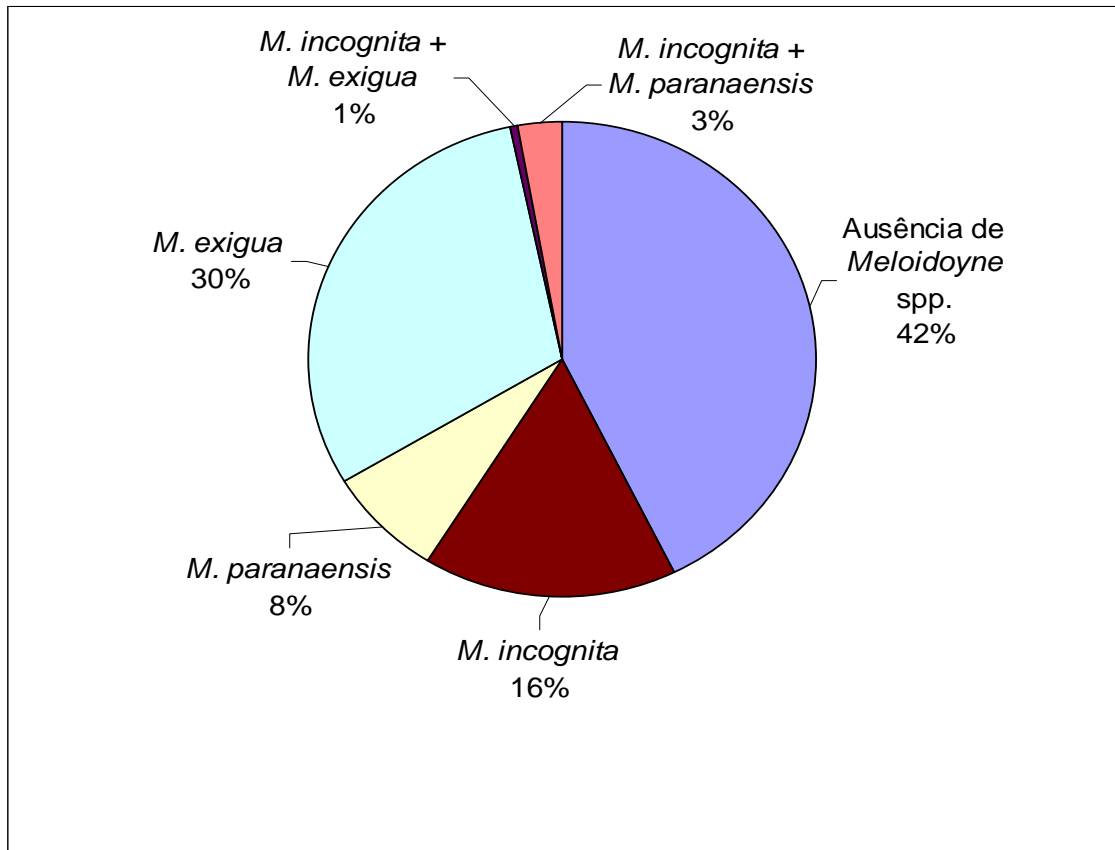
*Meloidogyne paranaensis* foi encontrado em 7,5% das propriedades amostradas e 8% das amostras (figura 2). Todas as propriedades cafeeiras infestadas estavam localizadas na região Norte do Estado (tabela 1 e figura 3). Apenas no município de Baixo Guandu as amostras eram provenientes de lavouras de *C. arabica*. Tais populações caracterizavam-se pelo fenótipo P1 de esterase, típico de *M. paranaensis* (Carneiro *et al.*, 1996) (figura 4B). Este é o primeiro relato da ocorrência de *M. paranaensis* no Estado do Espírito Santo. Por se tratar do primeiro relato, outros padrões enzimáticos foram analisados e confirmados, malato desidrogenase (MDH - N1), superóxido dismutase (SOD - KP2) e glutamato-oxaloacetato transaminase (GOT - N1) para confirmar a diagnose de *M. paranaensis* no Estado (figura 4). Também foi realizada a análise das configurações da região perineal que revelou configurações com

arco dorsal elevado, trapezoidal e estrias lisas a onduladas (figura 5), muito semelhantes ao padrão observado para *M. incognita*.

*Meloidogyne exigua*, fenótipo E1 (figura 6), foi detectada em 43,6% das propriedades e 30% das amostras (figura 2) e apenas em lavouras de *C. arabica*. Esta espécie foi encontrada em todos os municípios amostrados da Região Sul e em 66,6% dos municípios amostrados da Região Serrana, onde o café arábica é cultivado em larga escala (tabela 1 e figura 3).



**Figura 1** – Percentual de ocorrência de *Meloidogyne* spp. (*M. exigua*, *M. incognita*, *M. paranaensis*) em cento e oitenta e cinco amostras de cafeeiros provenientes de municípios produtores de café do Estado do Espírito Santo. Irupi (Ir), Ibatiba (Iba), Ibitirama (Ibi), Iúna (Iu), Muniz Freire (Mf), Jerônimo Monteiro (Jm), Alegre (Al), Castelo (Ca), Brejetuba (Br), Laranja da Terra (Lt), Afonso Cláudio (Af), Venda Nova do Imigrante (Vn), Domingos Martins (Dm), Linhares (Li), Sooretama (So), Baixo Guandu (Bg), Vila Valério (Vv), Jaguaré (Jg).

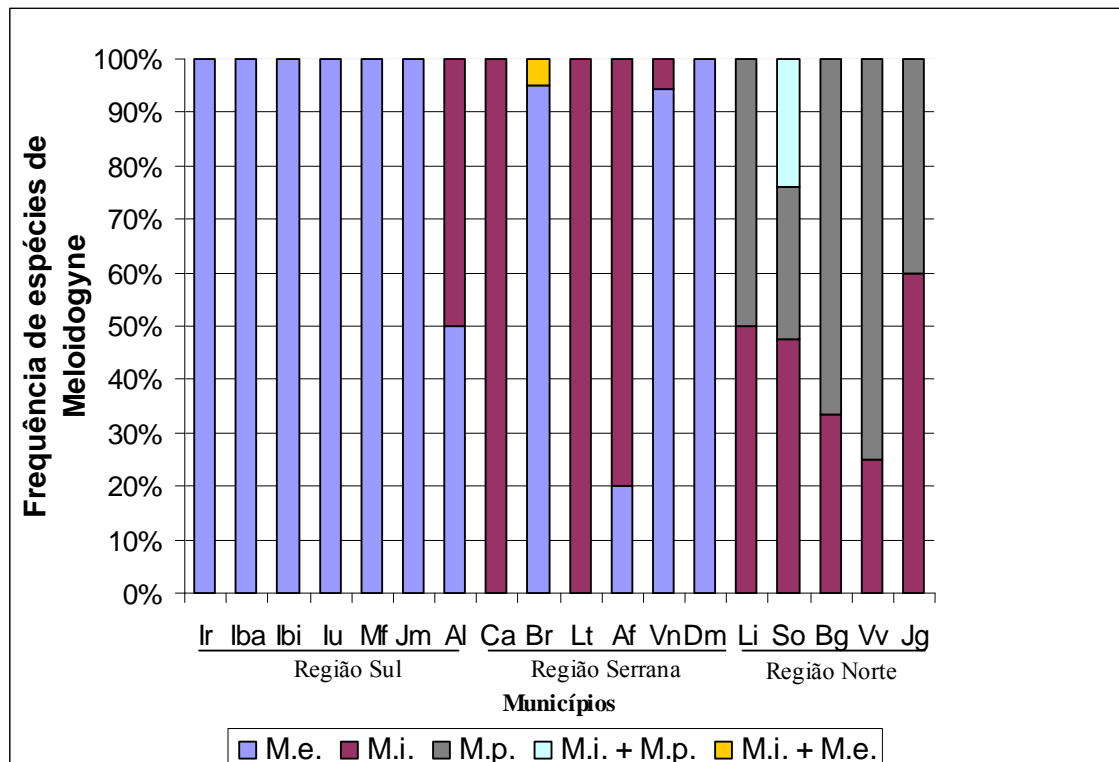


**Figura 2** - Distribuição de espécies de *Meloidogyne* spp. em 185 amostras coletadas em cafezais do Estado do Espírito Santo.

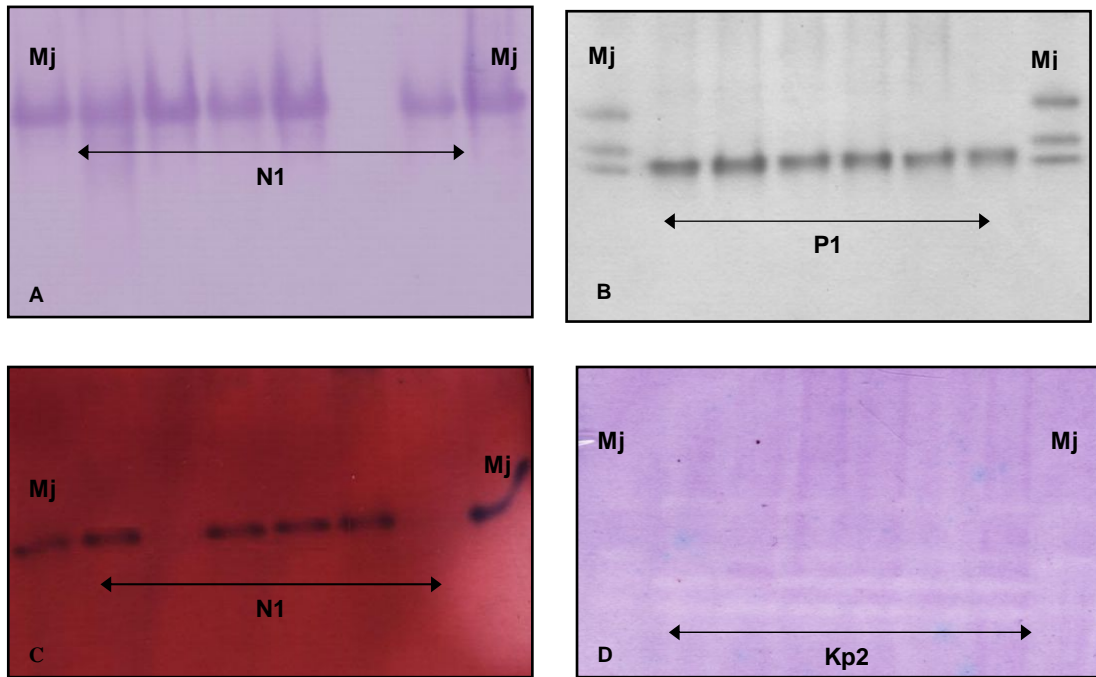
**Tabela 1** – Número de propriedades e de amostras avaliadas e infestadas com *Meloidogyne* spp. em cafeeiros (*C. arabica* e *C. canephora*) no Estado do Espírito Santo.

Municípios	N° propriedades (N° amostras)				Fenótipos de esterase*				
	<i>C. arabica</i>		<i>C. canephora</i>		M. i.		M. e.		M. p.
	Total	Com nematoide	Total	Com nematoide	I1	I2	E1	P1	
<b>Região Sul</b>									
Irupi	5(5)	4(4)	0(0)	0(0)	-	-	x	-	
Ibatiba	3(3)	3(3)	0(0)	0(0)	-	-	x	-	
Ibitirama	4(4)	4(4)	0(0)	0(0)	-	-	x	-	
Iúna	5(5)	1(1)	0(0)	0(0)	-	-	x	-	
Muniz Freire	4(4)	2(2)	2(2)	0(0)	-	-	x	-	
Jerônimo Monteiro	2(2)	1(1)	0(0)	0(0)	-	-	x	-	
Alegre	1(1)	1(1)	2(2)	1(1)	x	-	x	-	
<b>Região Serrana</b>									
Castelo	0(0)	0(0)	4(9)	1(1)	x	-	-	-	
Brejetuba	13(25)	12(21)	0(0)	0(0)	x	-	x	-	
Laranja da Terra	0(0)	0(0)	5(8)	3(3)	x	x	-	-	
Afonso Cláudio	3(4)	1(2)	12(37)	4(8)	x	x	x	-	
Venda Nova do Imigrante	12(24)	11(18)	0(0)	0(0)	x	-	x	-	
Domingos Martins	8(11)	1(1)	0(0)	0(0)	-	-	x	-	
<b>Região Norte</b>									
Linhares	0(0)	0(0)	3(3)	2(2)	x	-	-	x	
Sooretama	0(0)	0(0)	1 (22)	1(21)	-	x	-	x	
Baixo Guandu	2(3)	2(3)	0(0)	0(0)	-	x	-	x	
Vila Valério	0(0)	0(0)	3(4)	3(4)	-	x	-	x	
Jaguare	0(0)	0(0)	3(7)	2(5)	x	x	-	x	
TOTAL	62(91)	43(61)	35(94)	17(45)					

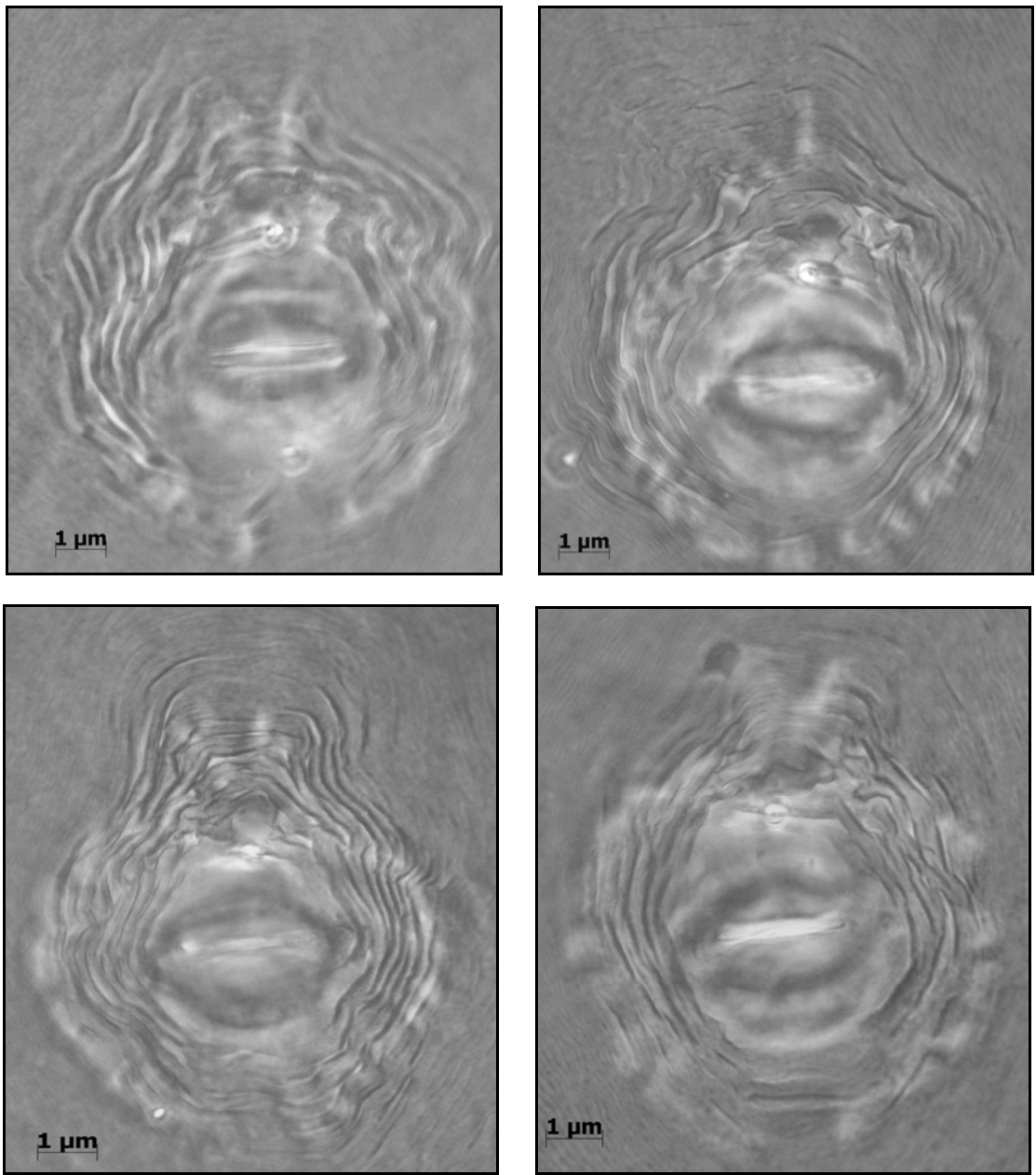
\*M.i. = *M. incognita*, M.e. = *M. exigua*, M.p. = *M. paranaensis*. x/- = presença/ausência.



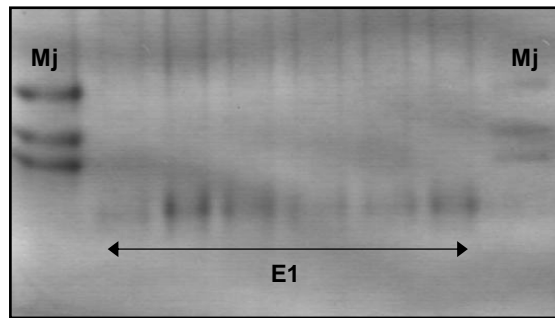
**Figura 3** – Frequência de espécies de *Meloidogyne* em amostras de cafeeiro provenientes de municípios do Estado do Espírito Santo: *M. incognita* (M.i.), *M. exigua* (M.e.), *M. paranaensis* (M.p.). Irupi (Ir), Ibatiba (Iba), Ibitirama (Ibi), Iúna (Iu), Muniz Freire (Mf), Jerônimo Monteiro (Jm), Alegre (Al), Castelo (Ca), Brejetuba (Br), Laranja da Terra (Lt), Afonso Cláudio (Af), Venda Nova do Imigrante (Vn), Domingos Martins (Dm), Linhares (Li), Sooretama (So), Baixo Guandu (Bg), Vila Valério (Vv), Jaguaré (Jg).



**Figura 4** - Fenótipos isoenzimáticos de *Meloidogyne paranaensis*. A: fenótipo N1 de malato desidrogenase; B: fenótipo P1 de esterase; C: fenótipo N1 de glutamato-oxaloacetato transaminase; D: fenótipo Kp2 de superóxido dismutase. Mj: fenótipo de *M. javanica* utilizado como padrão de comparação.



**Figura 5-** Padrões perineais de uma das populações de *Meloidogyne paranaensis* provenientes de lavouras de café do município de Jaguaré - ES.



**Figura 6.** Fenótipo E1 de esterase encontrado nas populações de *Meloidogyne exigua* do Estado do Espírito Santo e de Minas Gerais.

Na Zona da Mata de Minas Gerais o nematoide das galhas foi encontrado em todos os municípios amostrados exceto no município de Paula Cândido (tabela 2). *Meloidogyne exigua* foi à única espécie encontrada nessa região e todas as populações apresentaram o fenótipo E1 para esterase. Este nematoide foi detectado em 47,8% das amostras e 61,1% das propriedades cafeeiras.

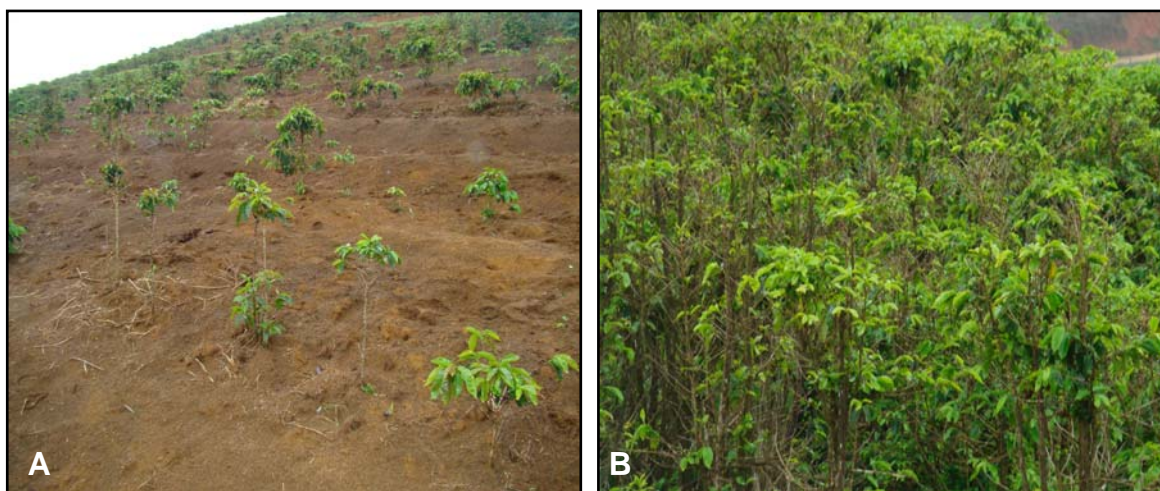
**Tabela 2** - Número de propriedades e de amostras avaliadas e infestadas com *Meloidogyne* spp. em cafeeiro (*C. arabica*) na Zona da Mata de Minas Gerais.

Municípios	N <sup>o</sup> propriedades (N <sup>o</sup> amostras)		Espécies identificadas
	<i>C. arabica</i>		<i>M. exigua</i>
	Total	Com nematoide	Fenótipo E1
Paula Cândido	3(6)	0(0)	-
Viçosa	6(8)	3(3)	x
Ervália	4(4)	4(4)	x
São Miguel do Anta	2(2)	1(1)	x
Araponga	3(3)	3(3)	x
<b>TOTAL</b>	<b>18(23)</b>	<b>11(11)</b>	

Em lavouras cafeeiras com a presença de *M. incognita* ou *M. paranaensis* foram observadas plantas com crescimento retardado, amareladas, com aspecto de deficiência nutricional (Figura 7). As raízes mais grossas apresentavam engrossamentos irregulares, sem caracterizar a formação de galhas típicas. Era comum a ocorrência de escamações (descorticamento) nessas raízes, mas escamações e galhas não eram observadas nas radículas (figura 8).

Os sintomas observados em cafeeiros infectados com *M. paranaensis* foram semelhantes àqueles observados para *M. incognita*. Em algumas áreas de *C. canephora* com a presença de *M. incognita* ou *M. paranaensis* não foi observado sintoma visível na parte aérea das lavouras cafeeiras, os quais eram observados apenas no sistema radicular.

Nas plantas parasitadas por *M. exigua* foram sempre observadas galhas arredondadas nas raízes finas e pouca morte das raízes laterais (figura 9).



**Figura 7.** Sintomas do parasitismo de *Meloidogyne paranaensis* na parte aérea de cafeeiro (*Coffea arabica*). A: Lavoura com 1 ano de idade no município de Baixo Guandu - ES. B: Lavoura com 8 anos de idade no município de Baixo Guandu – ES.



**Figura 8.** Sintomas típicos do parasitismo de *Meloidogyne* spp. no sistema radicular de cafeeiro. A: *M. paranaensis* em raiz de cafeeiro (*Coffea arabica* cv. Acauã) no município de Baixo Guandu - ES. B: *M. incognita* em raiz de cafeeiro (*C. canephora* clone 12V da variedade Vitória Incaper 8142) no município de Vila Valério - ES



**Figura 9.** Galhas típicas do parasitismo de *Meloidogyne exigua* no sistema radicular de cafeeiro (*Coffea arabica*).

Neste estudo, apenas o fenótipo E1 de *M. exigua* foi observado em lavouras cafeeiras do Estado do Espírito Santo e da Zona da Mata de Minas Gerais, no entanto, outros fenótipos de *M. exigua* já foram identificados em cafezais brasileiros, tais como, E1 (Esbenshade & Triantaphyllou 1990), E2 (Oliveira *et al.*, 2005b), E3 (Muniz *et al.*, 2008). O fenótipo E2a já foi detectado, em populações de *M. exigua* coletadas em seringueira no Estado do Mato Grosso do Sul (Carneiro & Almeida, 2000). Grande variabilidade intraespecífica é encontrada nas populações de *M. exigua* do café e da

seringueira o que pode ser explicado pela forma de reprodução, partenogenética meiótica facultativa, que apresenta menor estabilidade genética quando comparado a outras espécies que se reproduzem por partenogênese mitótica (Triantaphyllou, 1985).

Em contrapartida com o presente trabalho, em levantamento realizado por Oliveira *et al.*, (2005b) na Zona da Mata de Minas Gerais o fenótipo de esterase, E2, se mostrou amplamente disseminado nos diferentes municípios avaliados, sendo encontrado em 77,2% das populações caracterizadas. Carneiro *et al.* (2005b) e Muniz *et al.* (2008) confirmaram a ocorrência do fenótipo de esterase, E2, nessa região.

Na identificação das espécies pela caracterização do fenótipo isoenzimático, verificou-se que mesmo utilizando 25 fêmeas por cavidade de gel as populações de *M. exigua* apresentaram baixa atividade para esterase. As fêmeas de *M. exigua* são de tamanho reduzido, de 345 a 620 µm de comprimento e de 220 a 455 µm de largura (Lima & Ferraz, 1985), e apresentam menor quantidade dessa enzima.

Populações de *M. incognita* com os fenótipos de esterase I1, I2 e S1 já foram detectadas em cafezais brasileiros. O fenótipo S1 foi identificado recentemente no município de Garça SP parasitando plantas de cafeeiro por Oliveira *et al.* (2006). Esse fenótipo de esterase já fora relatado na Índia em estudo feito por Esbenshade & Triantaphyllou (1985). A separação dos fenótipos I1 e I2 é dificultado pelo fato da segunda banda do fenótipo I2 ser geralmente mais tênue (Carneiro *et al.*, 1996a), o que parece depender do estágio de desenvolvimento da fêmea sendo vista claramente quando mais de uma fêmea é colocada por cavidade do gel. É importante ressaltar, que todas as populações de *M. incognita* encontradas nos cafezais capixabas estavam parasitando o cafeeiro. No Estado de Minas Gerais, apesar das quatro raças de *M. incognita* estarem presentes em outras culturas e plantas daninhas, as mesmas foram incapazes de se reproduzir nas mudas de cafeeiro, independente da concentração de inóculo, da temperatura, do estágio de desenvolvimento e do genótipo de cafeeiro (Oliveira, 2006).

Por muito tempo *M. paranaensis* foi identificado como *M. incognita* com base apenas na configuração perineal, após sua detecção em 1996, essa população foi reavaliada e descrita como uma nova espécie, com base nos estudos morfológicos e morfométricos, na resposta de hospedeiros diferenciadores e, principalmente, no fenótipo de esterase (Carneiro *et al.*, 1996b).

Neste estudo, outras espécies de *Meloidogyne* foram observadas em lavouras cafeeiras no Estado do Espírito Santo, tais como, *M. javanica* e *M. arenaria*, a

ocorrência destas espécies no Estado não deve gerar preocupação para os produtores a não ser que estas lavouras sejam substituídas por lavouras de outras culturas hospedeiras, pois estas espécies estavam apenas parasitando plantas daninhas presentes na área. Até o momento, *M. javanica* não foi relatada parasitando plantas de café.

No Estado do Espírito Santo observou-se a maior ocorrência de *M. exigua*, no entanto, outras espécies de nematoides das galhas foram detectadas parasitando o cafeeiro no Estado, tais como, *M. incognita* e *M. paranaensis*. Em levantamentos anteriores, neste Estado, já fora relatada a presença de *M. exigua* em *C. arabica* (Dias *et al.*, 1996) e *M. incognita* em *C. canephora* (Lordello & Hashizume, 1971) e *C. arabica* (Sharma, 1976). Todavia, a identificação destas espécies de *Meloidogyne* foi baseada apenas na análise da configuração perineal de fêmeas. Entretanto, esta característica é muito subjetiva, podendo gerar dúvidas mesmo para nematologistas experientes na área, devido à variabilidade da configuração perineal dentro de uma mesma espécie do nematoide (figura 5). Ressalta-se, que o presente trabalho é o primeiro a utilizar a eletroforese de isoenzimas para a identificação de espécies de *Meloidogyne* no Estado do Espírito Santo.

A distribuição generalizada dos nematoides das galhas nos cafezais capixabas gera grande preocupação para o Estado, devido aos danos que podem ser causados por estes parasitas. Danos maiores são observados em lavouras infectadas por *M. incognita* e *M. paranaensis*, os quais expõem o sistema radicular das plantas à ocorrência de outras doenças e reduzem a capacidade da planta em absorver água podendo levá-la a morte, causando, assim, grandes prejuízos e arruinando lavouras cafeeiras em regiões de sua ocorrência (Matiello, 1997; Campos, 1997; Santos, 1997; Gonçalves, 1992). No município de Sooretama – ES, foi observado que o clone 12V da variedade Vitória Incaper 8142, quando parasitado por *M. incognita*, pode ter uma redução de 38% na altura da planta e 266% no número de folhas/planta e as folhas, individualmente, podem sofrer uma redução de até 28% na sua área foliar. As plantas parasitadas tiveram redução de 237% na sua produção, e os frutos delas oriundos tiveram acréscimo de 4% no número de fruto moça e 96% no número de frutos boia, quando comparadas às plantas sadias (Oliveira *et al.*, 2009). *M. exigua* apesar de não ser tão agressiva quando comparada com *M. incognita* e *M. paranaensis*, pode causar perdas de produtividade da ordem de 45% em lavouras cafeeiras (Barbosa *et al.*, 2004a).

*Meloidogyne paranaensis* é relatado pela primeira vez no Estado do Espírito Santo, o que é preocupante para a cafeicultura do Estado, devido ao grande poder destrutivo deste patógeno. Este parasita pode reduzir a produtividade a níveis antieconômicos já na primeira produção, em condições de alta infestação. Isto ocorre, tanto em solo arenoso quanto em argiloso para a cultivares altamente suscetíveis (Mata *et al.*, 2000).

Com a presença de uma nova espécie no Estado do Espírito Santo medidas de contenção de sua disseminação devem ser implementadas a fim de evitar maiores prejuízos aos produtores. Sua disseminação pode ocorrer pelo uso de mudas infectadas pelo nematoide, uso de máquinas e implementos agrícolas na área infestada e pela água das chuvas e, ou, de irrigação. Desta forma, é importante os produtores adquirir mudas isenta do fitonematoide, evitar que água de chuva e irrigação atravessem as reboleiras infestadas e fazer a limpeza do maquinário visando, assim, impedir que o parasita se espalhe rapidamente.

No Estado do Espírito Santo as espécies de nematoides mais agressivas ao cafeeiro, *M. incognita* e *M. paranaensis*, foram encontradas principalmente em lavouras de *C. canephora* mostrando a suscetibilidade desta espécie cafeeira aos nematoides das galhas. Por muito tempo acreditou-se que *C. canephora* fosse resistente aos nematoides das galhas. Atualmente, apesar dos poucos estudos existentes com este patossistema já se verifica a suscetibilidade de *C. canephora* a esses parasitas. Este fato, também, pode ser observado em estudos realizados por Carneiro *et al.* (2009) e Contarato *et al.* (2009) que obtiveram vários níveis de reprodução de *Meloidogyne* spp. em diversos clones da variedade Vitória – Incaper 8142 quando inoculados com as três principais espécies do nematoide das galhas que parasitam o cafeeiro.

A introdução e disseminação dos nematoides das galhas no Estado do Espírito Santo e na Zona da Mata de Minas Gerais, provavelmente foram devidas ao uso de mudas contaminadas. Assim deve-se evitar o transporte de mudas não certificadas de uma região cafeeira para outra, principalmente de mudas oriundas de regiões nas quais predominam as espécies mais agressivas ao cafeeiro (Gonçalves & Silvarolla, 2001). Por se tratar de um patógeno de solo e extremamente polífago, com capacidade de atacar mais de 2000 espécies de plantas hospedeiras (Jepson, 1987), cuidados adicionais devem ser dados às mudas de outras espécies vegetais que podem servir de porta de entrada para o nematoide na propriedade.

A maioria dos produtores de mudas não estão cientes da gravidade do problema e da importância de medidas preventivas. É necessária a fiscalização dos viveiros para verificação da qualidade e sanidade das mudas e evitar futuros problemas.

O levantamento das espécies de nematoides presentes em áreas de produção é de suma importância para a expansão da cultura em novas áreas, bem como para um correto manejo em áreas infestadas. O conhecimento prévio dessa diversidade facilitará de forma efetiva as ações futuras em melhoramento genético visando resistência a *Meloidogyne* spp.

#### **4.2. Caracterização fisiológica das populações de *Meloidogyne* spp.**

Determinou-se a raça de populações de *M. incognita* e *M. exigua* provenientes do Estado do Espírito Santo e populações de *M. exigua* provenientes da Zona da Mata de Minas Gerais de acordo com Carneiro e Almeida (2000).

No Estado do Espírito Santo, foram encontradas as raças 1 e 2 de *M. exigua* e de *M. incognita*. A raça 1 de *M. exigua*, a qual não se multiplica em plantas de tomate, foi encontrada em apenas uma propriedade dos municípios de Afonso Cláudio e de Brejetuba. As demais populações de *M. exigua* multiplicaram-se em tomateiro, portanto, foram consideradas raça 2.

Já para *M. incognita*, em 75% das propriedades foi encontrada a raça 1, e nas 25% remanescentes detectaram-se a raça 2. A raça 1 de *M. incognita* foi encontrada nos municípios de Castelo, Laranja da Terra, Alegre, Afonso Cláudio, Venda Nova do Imigrante, e a raça 2 nos municípios de Sooretama e Afonso Cláudio.

Em estudo semelhante realizado por Oliveira *et al.* (2005a), também, não foi encontrada nenhuma variabilidade nas populações de *M. exigua* da Zona da Mata de Minas Gerais.

Os resultados aqui encontrados confirmam a predominância da raça 2 de *M. exigua* no Brasil, fato que, também foi observado por Oliveira *et al.* (2005a) e Muniz *et al.* (2008). Segundo os resultados mais recentes, não há uma predominância para *M. incognita*, pois no Estado de São Paulo prevalece a raça 1 (Monteiro *et al.*, 1995, Lordello, 2002) enquanto no Estado do Paraná desponta a raça 2 (Carneiro *et al.*, 1990). Nesse trabalho, predominou a raça 1 de *M. incognita* no Estado do Espírito Santo.

A identificação das raças de *Meloidogyne* é de grande importância para os programas de melhoramento.

### 4.3. Outros fitonematoides associados ao cafeeiro no Estado do Espírito Santo

Nas 92 amostras de solos provenientes de lavouras cafeeiras do Estado do Espírito Santo (tabela 3), observou-se a maior ocorrência de nematoides dos gêneros: *Rotylenchulus*, *Tylenchus*, *Helicotylenchus* numa frequência de 35,7; 27,5 e 17,6% das amostras, respectivamente.

*Rotylenchulus* ocorreu em 42,6% dos municípios amostrados. *Tylenchus* ocorreu em todos os municípios amostrados exceto no município de Jerônimo Monteiro. *Helicotylenchus* foi encontrado em 50% dos municípios amostrados.

Os nematoides encontrados em menor frequência (1,1% das amostras) foram: *Ditylenchus*, *Discocriconemella*, *Hemicriconemoides*, *Psilenchus* e *Rotylenchus*. Em Venda Nova do Imigrante foi encontrada a maior diversidade de nematoides associados ao cafeeiro, pois em 10 amostras de solos coletadas foram detectados 11 gêneros diferentes, tais como, *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Tylenchus*, *Mesocriconema*, *Helicotylenchus*, *Xiphinema*, *Ditylenchus*, *Aphelenchus*, *Aphelenchoides*, *Discocriconemella* e *Psilenchus*.

Nas lavouras de *C. arabica* observou-se uma maior diversidade de gêneros de fitonematoides, são eles: *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchulus*, *Pratylenchus*, *Aphelenchoides*, *Aphelenchus*, *Xiphinema*, *Mesocriconema*, *Psilenchus*, *Hemicriconemoides*, *Discocriconemella* e *Ditylenchus*. A maior ocorrência foi do fitonematoide pertencente ao gênero *Tylenchus* que foi observado em 41, 7% das amostras de solos provenientes de lavouras de *C. arabica*. Já nas lavouras de *C. canephora* foi encontrado os seguintes gêneros: *Rotylenchulus*, *Tylenchus*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, *Mesocriconema*, *Xiphinema*, *Rotylenchus*, *Aphelenchus*, observando-se a maior ocorrência do gênero *Rotylenchulus* que esteve presente em 57, 4% das amostras de solos provenientes de lavouras de *C. canephora*.

O nematoide das lesões, pertencente ao gênero *Pratylenchus*, foi encontrado em 7,6% das amostras e em 42,6% dos municípios amostrados. Em 71, 4% das amostras de solos infestadas com este patógeno foi encontrado, também, populações de *M. exigua*, *M. incognita* ou *M. paranaensis*. Isto já foi observado em trabalho realizado por Souza *et al.* (2000) no Estado da Bahia. Campos *et al.* (1990) enfatizam que *Pratylenchus* sp. presente nos solos juntamente com *Meloidogyne* sp. tornam o manejo mais difícil, podendo causar grandes prejuízos à cultura. Neste trabalho, não observou-se grande diferença entre o parasitismo de *Pratylenchus* nos cafeeiros de *C. arabica* ou *C.*

*canephora*, sendo que 57,7 % das amostras infestadas por este patógeno eram provenientes de lavouras de *C. arabica* e 42,6% provenientes de lavouras de *C. canephora*.

Os nematoides do gênero *Pratylenchus* estão distribuídos em 70 espécies, parasitando dezenas de espécies vegetais. As espécies mais prejudiciais à cafeicultura são *P. coffeae* e *P. brachyurus*. *Pratylenchus coffeae* causa severos danos ao cafeeiro em diversos países como Indonésia (Whitehead, 1968), Costa Rica (Figueroa & Perlazo, 1982), Guatemala (Schieber & Sosa, 1960), Republica Dominicana (Schieber & Grullon, 1969), El Salvador (Abrego & Holdeman, 1961), Porto Rico (Ayala, 1976), Índia (Palanichamy, 1973). No Brasil, *P. coffeae* foi relatado como parasita do cafeeiro em São Paulo (Lordello *et al.*, 1968; Kubo *et al.*, 2004) e Barra da Guabiraba, PE (Moura *et al.*, 2002). *P. brachyurus* é registrada no Peru (Krusberg & Hirschmann, 1958), Costa do Marfim (Luc & Guiran, 1960) e no Brasil (Lordello *et al.*, 1968). Gonçalves *et al.*, (1978) e Kubo *et al.* (2004) verificaram que *P. brachyurus* estava mais disseminado que *P. coffeae* em cafezais do Estado de São Paulo.

A importância de *Pratylenchus* spp. como patógeno do cafeeiro é reconhecida em outros países produtores de café, principalmente na Índia e nos países da América Central (Schieber & Grullon, 1969; Villain *et al.*, 2000), tal fato ainda não acontece no Brasil, apesar de ser um gênero comum no país. Segundo Kubo *et al.* (2003) existem diferentes populações de *P. coffeae*, e somente algumas, como o material representado pelo isolado K5, é altamente virulenta ao cafeeiro, causando danos mesmo sob baixas densidades populacionais.

*Rotylenchulus* sp. já foi relatado, no Brasil, em mudas (Lordello, 1980) e em cafeeiros no campo (Campos, 2002). Este nematoide causa danos expressivos na Índia, onde impede o estabelecimento de lavouras de *C. arabica* em áreas com populações acima de 100 espécimes/100cm<sup>3</sup> de solo. No Brasil, ainda não se conhecem danos causados por esta espécie (Campos, 1997).

A maioria dos fitonematoides encontrados neste estudo, tais como, *Helicotylenchus*, *Tylenchus*, *Psilenchus*, *Mesocriconema*, *Xiphinema*, *Ditylenchus*, *Aphelenchus*, *Aphelenchoides*, *Discocriconemella*, *Rotylenchus* e *Hemicriconemoides* ainda não têm seu parasitismo bem esclarecido em cafeeiros, estes fitonematoides podem estar na rizosfera do cafeeiro, mas se alimentando de outras plantas.

Foi possível, com as informações obtidas nesse trabalho, fazer uma atualização da distribuição de nematoides na cultura do cafeeiro no Estado do Espírito Santo e na

Zona da Mata de Minas Gerais. A partir delas, dois aspectos devem ser destacados: primeiro, a ampla ocorrência dos nematoides das galhas nessa região reforça a necessidade de se manter esses nematoides no rol das ‘pragas não quarentenárias regulamentadas’ e a justificativa de se intensificar a fiscalização das mudas em viveiros para conter o aumento da disseminação. Segundo, a recém detecção de *M. paranaensis* nos municípios de Linhares, Sooretama, Baixo Guandu, Vila Valério e Jaguaré no Estado do Espírito Santo requer medidas de contenção de sua disseminação a fim de evitar maiores prejuízos aos produtores.

Sugere-se que pesquisas sejam realizadas visando relacionar o tipo de solo, matéria orgânica e nutrição do cafeeiro com as espécies encontradas neste estudo.

**Tabela 3** - Frequência (%) de amostras de solos com fitonematoides, por gênero, provenientes de lavouras cafeeiras do Estado do Espírito Santo.

Municípios (nº de amostras)	<sup>1</sup> Rch	Pra	Tyl	Cri	Hel	Xip	Dit	Aph	Ach	Dis	Psi	Rot	Hem
Ibitirama (3)			33,3		33,3								
Ibatiba (3)			33,3										
Irupi (5)	40	20	20		40								
Iúna (5)			60		60								
Muniz Freire (4)	25	25	100									25	
Alegre (1) Jerônimo			100										
Monteiro (2) Venda Nova do								50					
Imigrante (10)	20	10	70	10	50	10	10	10	20	10	10		
Brejetuba (7) Domingos			14,3		14,3								
Martins (3) Laranja da			33,3		33,3			33,3	33,3				
Terra (8) Afonso	87,5	12,5	25	12,5									
Cláudio (37) Baixo	54	2,7	8,1	5,4	8,1	2,7							
Guandu (3)	33,3	66,7	33,3			33,3							33,3
Linhares (1)			100						100				
% em 92 amostras	35,7	7,6	27,5	4,5	17,6	3,3	1,1	3,7	2,2	1,1	1,1	1,1	1,1

<sup>1</sup>**Rch** = *Rotylenchulus* sp., **Pra** = *Pratylenchus* sp., **Tyl** = *Tylenchus* sp., **Cri** = *Mesocriconema* sp., **Hel** = *Helicotylenchus* sp., **Xip** = *Xiphinema* sp., **Dit** = *Ditylenchus* sp., **Aph** = *Aphelenchus* sp., **Ach** = *Aphelenchoides* sp., **Dis** = *Discocriconemella* sp., **Psi** = *Psilenchus* sp., **Rot** = *Rotylenchus* sp., **Hem** = *Hemicriconemoides* sp..

## 5- CONCLUSÕES

- Os nematoides das galhas, *Meloidogyne exigua*, *M. incognita*, *M. paranaensis*, identificados pela eletroforese de isoenzimas, foram encontrados em ampla disseminação nos cafezais capixabas, inclusive nos municípios que são os maiores produtores de café do Estado.

- Este constitui o primeiro relato de *M. paranaensis* no Estado do Espírito Santo.

- *M. exigua* foi encontrado somente em *C. arabica*, enquanto *M. incognita* e *M. paranaensis* ocorreram principalmente em *C. canephora*.

- Além de *Meloidogyne* outros fitonematoides foram encontrados associados ao cafeeiro no Estado do Espírito Santo. *Rotylenchulus*, *Tylenchus* e *Helicotylenchus* foram encontrados em maior frequência nas amostras.

- Nas lavouras de *C. arabica* foi encontrado uma maior diversidade de gêneros de fitonematoides.

- Na Zona da Mata de Minas Gerais, *M. exigua* foi a única espécie dos nematoides das galhas encontrada parasitando cafeeiros.

- Não houve grande variabilidade de raças de *M. incognita* e *M. exigua*, uma vez que se detectaram apenas as raças 1 e 2 em ambas as espécies no Estado do Espírito Santo. Na Zona da Mata de Minas Gerais apenas a raça 2 de *M. exigua* foi detectada infectando as lavouras cafeeiras.

## 6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREGO, L. & HOLDEMAN, Q.L. Nematodes Del café en El Salvador. El Salvador: Instituto Salvadoreño de Investigaciones des Cafés. 1961.
- AGRIOS, G. N. Planta Pathology. San Diego – Califórnia. 703-717 p. 1988.
- ALFENAS, A.C. & BRUNE, W. Eletroforese em gel de poliacrilamida. pp.574 In: ALFENAS, A.C. (Ed.) Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: UFV. 1998.
- ALFENAS, A.C., PETERS, L., BRUNE, W. & PASSADOR, G.C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa: 242p. 1991.
- AYALA, A. State of Knowledge of *Meloidogyne* in Puerto Rico. pp.93-95 In: I Regional Conference of the International *Meloidogyne* Project. Panamá: 1976.
- BARBOSA, D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M., A.P., V. & SILVA, C.P. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. . Nematologia Brasileira 28:49-54. 2004a.
- BARBOSA, D.H.S.G., VIERA, H.S., SOUZA, R.M. & SILVA, C.P. Survey of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in coffee plantations in the State of Rio de Janeiro. Nematologia Brasileira 28:43-47. 2004b.
- BERTRAND, B., AGUILAR, G., BOMPARD, E., RAFINON, A. & ANTHONY, F. Comportement agronomique et résistance aux principaux déprédateurs des lignées de Sarchimor et Catimor au Costa Rica. Plantations, recherche, développement 4:312-318. 1997.
- BERTRAND, B., ANTHONY, F. & LASHERMES, P. Breeding for resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea arabica* by introgression of resistance genes of *Coffea canephora*. Plant Pathology 50:637-643. 2001.
- BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. . Fitopatologia Brasileira 6:553. 1981.
- CAMPOS, V.P. Café (*Coffea arabica* L.): Controle de doenças - Doenças causadas por nematóides. pp.141-180 In: VALE, F.X.R. & ZAMBOLIM, L. (Eds.) Controle de doenças de plantas - Grandes culturas. Viçosa: UFV. 1997.
- CAMPOS, V.P. Coffee Nematode Survey in Minas Gerais State, Brazil. Research Report of the Grant by PNP&D / Café 20. 2002.
- CAMPOS, V.P., LIMA, R.D. & ALMEIDA, V.F. Nematóides parasitas do cafeeiro. Informe Agropecuário 11:50-58. 1985.

CAMPOS, V.P., SILVAPALAN, P. & GNANAPRAGASAM, N.C. Nematodes parasites of coffee, cocoa and tea. pp.387-430 In: LUC, M., SIKORA, A. & BRIDGE, J. (Eds.) Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford: CAB. International. 1990.

CAMPOS, V.P. & VILLAIN, L. Nematode parasites of coffee and cocoa pp.529-579 In: LUC, M., SIKORA, R.A. & BRIDGE, J. (Eds.) Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford CAB. Internacional. 2005.

CARNEIRO, R.G., ANTONIO, H., BRITO, J.A. & ALTEIA, A.A.K. Identificação de espécies e raças de *Meloidogyne* na região noroeste do Estado de São Paulo: resultados preliminares. pp. 4 In: XIV Congresso Brasileiro de Nematologia, Londrina (Resumos). 1990.

CARNEIRO, R.M.D.G. & ALMEIDA, M.R.A. Caracterização isoenzimática e variabilidade intraespecífica dos nematóides de galhas do cafeeiro no Brasil. pp. 280-282 In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas (Resumos). 2000.

CARNEIRO, R.M.D.G., ALMEIDA, M.R.A. & CARNEIRO, R.G. Enzyme phenotypes of Brazilian population of *Meloidogyne* spp. Fundamental and applied nematology 19:555-560. 1996a.

CARNEIRO, R.M.D.G., ALMEIDA, M.R.A., GOMES, A.C.M.M. & HERNÁNDEZ, A. *Meloidogyne izalcoensis* n.sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitising coffee in El Salvador. Nematology 7:819-832. 2005a.

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

CARNEIRO, R.M.D.G., CARNEIRO, R.G., DAS NEVES, D.I. & ALMEIDA, M.R.A. Nova raça de *Meloidogyne javanica* detectada em *Arachis pintoi* no Estado do Paraná. . Nematologia Brasileira 27:219-221. 2003.

CARNEIRO, R.M.D.G., COSTA, S.B., SOUSA, F.R., SANTOS, D.F., ALMEIDA, M.R.A., SANTOS, M.F.A., SIQUEIRA, K.M.S., TIGANO, M.S. & FONSECA, A.F.A. Reação de cafeeiros ‘Conilon’ a diferentes populações de *Meloidogyne* spp. pp. In: VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória, ES (Resumos). 2009.

CARNEIRO, R.M.D.G., RANDIG, O., ALMEIDA, M.R.A. & GONÇALVES, W. Identificação e Caracterização de *Meloidogyne* spp. em cafeeiro nos Estados de São Paulo e Minas Gerais através do fenótipos das esterases e Scar-PCR-Multiplex. Nematologia Brasileira 29:233-241. 2005b.

CARNEIRO, R.M.D.G., TIGANO, M.S., RANDIG, O., ALMEIDA, M.R.A. & SARAH, J.L. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. Nematology 6:287-298. 2004.

CASTRO, J.M.C., CAMPOS, V.P. & DUTRA, M.R. Ocorrência de *Meloidogyne coffeicola* em cafeeiros do município de Coromandel, região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. *Fitopatologia Brasileira* 29:227. 2004.

CASTRO, J.M.C., CAMPOS, V.P., POZZA, E.A., NAVES, R.L., JÚNIOR, W.C.A., DUTRA, M.R., COIMBRA, J.L., MAXIMINIANO, C. & SILVA, J.R.C. Levantamento de Fitonematóides em Cafezais do Sul de Minas Gerais. *Nematologia Brasileira* 32:56-64. 2008.

CASTRO, J.M.C., LIMA, R.D. & CARNEIRO, R.M.D.G. Variabilidade isoenzimática de populações de *Meloidogyne* spp. provenientes de regiões brasileiras produtoras de soja. *Nematologia Brasileira* 27:1-12. 2003a.

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* 28:565. 2003b.

CONAB: Convênio Ministério da Agricultura – Secretaria da Produção e Comercialização. Acompanhamento da safra brasileira de café, safra 2009, maio/2009 segunda estimativa. 2009. Disponível em: <[http://www.cncafe.com.br/galeria/00000701\\_2%C2%AA%20estimativa%20-%20safra%202009\\_052009.pdf](http://www.cncafe.com.br/galeria/00000701_2%C2%AA%20estimativa%20-%20safra%202009_052009.pdf)> Acesso 18 de agosto de 2009.

CONTARATO, C.C., TOMAZ, M.A., SOBREIRA, F.M., ALVES, F.R., JESUS JR, W.C., RODRIGUES, A.A., FERRÃO, M.A.G. & FERRÃO, R.G. Resistência da variedade "Vitória Incaper 8142" de café conilon a *Meloidogyne exigua*. pp. In: VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória, ES (Resumos). 2009.

CURI, S.M., CARVALHO, A., MORAES, F.P., MONACO, L.C. & ARRUDA, H.V. Novas fontes de resistência genética de *Coffea* no controle do nematóide do cafeeiro, *Meloidogyne exigua*. *O Biológico* 36:41-44. 1970.

CURRAN, J., MCCLURE, M.A. & WEBSTER, J.M. Genotypic differentiation of *Meloidogyne* populations by detection of restriction fragment length difference in total DNA. *Journal of Nematology*. 18:83-86. 1986.

DAVIS, B.J.B. Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121:404-427. 1964.

DIAS, W.P., LIBERATO, J.R. & FONSECA, A.F.A. Nematóide associados ao cafeeiro no estado do Espírito Santo. *Revista Ceres* 43:808-812. 1996.

ESBENSHADE, P.R. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. Use of Enzyme Phenotypes for Identification of *Meloidogyne* Species. *Journal of Nematology*. 17:6-20. 1985.

ESBENSHADE, P.R. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. Isozyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* species. *Journal of Nematology* 22:10-15. 1990.

FASSULIOTIS, G. The role of the nematologist in the development of resistant cultivars. pp.233-240 In: SASSER, J.N. & CARTER, C.C. (Eds.) An Advanced Treatise on *Meloidogyne*. Raleigh, NC: North Carolina State University Graphics. 1985.

FAZUOLI, I.C. & LORDELLO, R.R.A. Resistência de *Coffea liberica* e *C. dewevrei* a *Meloidogyne exigua*. Nematologia Brasileira 2:197-199. 1977.

FAZUOLI, I.C., SILVAROLLA, M.B., SALVA, T.J.G., GUERREIRO FILHO, O., MEDINA FILHO, H.P. & GONCALVES, W. Cultivares de café arábica do IAC: patrimônio da cafeicultura brasileira. O Agrônomo 59:12-15. 2007.

FAZUOLI, L.C., COSTA, W.M. & FERNANDES, J.A.R. Variabilidade na resistência de linhagens de *Coffea canephora* em relação a uma população do nematóide *Meloidogyne incognita* em condições de viveiro. pp. 115-116 In: 10 Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Poços de Caldas (Resumos). 1983.

FAZUOLI, L.C., LORDELLO, R.R.A., GUILHAUMON, F., CORSI, T. & COSTA, A.C.M. Tolerância de cafeeiros ao nematóide *Meloidogyne incognita* em condições de campo. pp. 246-248 In: IV CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, Ribeirão Preto (Resumos). 1978.

FERNANDES, C.F., JÚNIOR, J.R.V., RAMALHO, A.R., MARCOLAN, A.L., NETO, A.F., DIOCLECIANO, J.M., FERRO, G.O., GUEDES, M.L.O., REIS, N.D. & SILVA, D.S.G. Levantamento da ocorrência de populações do nematóide das galhas do cafeeiro (*Meloidogyne* sp.) em Rondônia. pp. CD ROM In: VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória, ES (Resumos). 2009.

FERREIRA, A., CECON, P.R., CRUZ, C.D., FERRÃO, R.G., SILVA, M.F.D., FONSECA, A.F.A.D. & FERRÃO, M.A.G. Seleção simultânea de *Coffea canephora* por meio da combinação de análise de fatores e índices de seleção. Pesquisa Agropecuária Brasileira 40:1189-1195. 2005.

FIGUEROA, A. & PERLAZO, F. Investigación sobre *Meloidogyne* en Costa Rica. pp.12-25 In: Research & planning conference on root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., III proceedings. 1982.

FRANZENER, G., UNFRIED, J.R., STANGARLIN, J.R. & FURLANETTO, C. Nematóides formadores de galhas e cisto patogênicos à cultura da soja em municípios do Oeste do Paraná. Nematologia Brasileira 29:261-265. 2005.

GONÇALVES, W. Melhoramento do cafeeiro visando resistência a nematóides. Informe Agropecuário 16:72-77. 1992.

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

GONÇALVES, W., FERRAZ, L.C.C.B., LIMA, M.M.A. & SILVAROLLA, M.B. Reações de cafeeiros às raças 1, 2 e 3 de *Meloidogyne incognita*. Summa Phytopathologica 22:172-177. 1996.

GONÇALVES, W., LIMA, M.M.A. & FAZUOLI, L.C. Resistência do cafeeiro a nematóides III: Avaliação da resistência de espécies de *Coffea* e de híbridos interespecíficos a *Meloidogyne incognita* raça 3. *Nematologia Brasileira* 12:47-54. 1988.

GONÇALVES, W. & PEREIRA, A. Resistência do cafeeiro a nematóides: IV Reação de cafeeiros derivados do Híbrido do Timor a *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira* 22:39-50. 1998.

GONÇALVES, W. & SILVAROLLA, M.B. Nematóides parasitos do cafeeiro. pp.199-267 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) *Tecnologias de produção de café com qualidade*. Viçosa: UFV. 2001.

GONÇALVES, W., THOMAZIELLO, R.A., MORAES, M.V., FERNANDES, J.A.E., COSTA, A.M., CORSI, T., JUNQUEIRA, C.A. & LACERDA, L.A.O. Estimativas de danos ocasionados pelos nematóides do cafeeiro. pp. 182-186 In: VI Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras. , Ribeirão Preto (Resumos). 1978.

GOWEN, S.R. Factor to consider in assessing the importance of plant parasitic nematodes. *Fitopatologia Brasileira* 24:265. 1994.

GUERRA NETO, E.G., D'ANTONIO, A.M., ALMEIDA, S.R. & LORDELLO, L.G.E. Ocorrência do nematóide *Meloidogyne coffeicola* Lordello & Zamith, 1960, em lavoura de café no sul do estado de Minas Gerais. *Revista de Agricultura* 58:45-48. 1983.

GUERRA NETO, E.G., D'ANTONIO, A.M. & FREIRE, A.C.F. Influência do *Meloidogyne exigua* Goldi, 1887, no desenvolvimento de lavouras de *Coffea arabica* L., variedade Mundo Novo. pp. 36-37 In: XII Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Caxambú (Resumos). 1985.

HARTMAN, K.M. & SASSER, J.N. Identification of *Meloidogyne* species on the basis of differential host test and perineal pattern morphology. pp.69-77 In: BARKER, K.R., CARTER, C.C. & SASSER, J.N. (Eds.) *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. North Carolina: North Carolina State University: 1985.

HUSSEY, R.S., SASSER, J.N. & HUISING, D. Disc-electrophoretic studies of soluble proteins and enzymes of *Meloidogyne incognita* and *M. arenaria*. *Journal of Nematology* 4:183-189. 1972.

JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48:629. 1964.

JEPSON, S.B. Identification of Root-Knot nematodes (*Meloidogyne* species). Wallingford (U.K.): CAB International 1987.

KRUSBERG, L.G. & HIRSCHMANN, A. A survey of plant parasitic nematodes in Peru. *Plant Disease Reporter* 42:599-608. 1958.

- KUBO, R.K., OLIVEIRA, C.M.G., ANTEDOMÊNICO, S.R., MONTEIRO, A.R., FERRAZ, L.C.C.B. & INOMOTO, M.M. Ocorrência de nematóides do gênero *Pratylenchus* em cafezais do Estado de São Paulo. *Nematologia Brasileira* 28:159-165. 2004.
- KUBO, R.K., SILVA, R.A., TOMAZINI, M.D., OLIVEIRA, C.M.G., MAZZAFERA, P. & INOMOTO, M.M. Patogenicidade de *Pratylenchus coffeae* em plântulas de cafeeiro cv. Mundo Novo. *Fitopatologia Brasileira* 28:41-48. 2003.
- KUNIEDA DE ALONSO, S. & ALFENAS, A.C. Isoenzimas na taxonomia e na genética de fitonematóides. pp.525-543 In: ALFENAS, A.C. (Ed.) Eletroforese de isoenzimas e proteínas a fins – fundamentos e aplicações práticas. Viçosa: UFV. 1998.
- LIMA, M.M.A., GONÇALVES, W. & TRISTÃO, R.O. Avaliação de resistência de seleções de *Coffea canephora* e *C. congensis* à raça 3 de *Meloidogyne incognita*. pp. 87-88 In: 14 Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Campinas (Resumos). 1987.
- LIMA, R.D. & FERRAZ, S. Biologia de *Meloidogyne exigua* II. Desenvolvimento pós-embriogênico em cafeeiro "Mundo Novo". *Revista Ceres* 32:349-361. 1985.
- LORDELLO, A.I.L. Coffee Nematode survey in São Paulo State, Brazil. Research Report of the Grant by PNP&D / Café EMBRAPA 2002.
- LORDELLO, A.I.L. & LORDELLO, R.R.A. Nematóides encontrados em cafezais do Estado de São Paulo. pp. 85 In: Congresso Brasileiro de Nematologia, Garça (Resumos). 2001.
- LORDELLO, L.G.E. Estado atual do nematóide reniforme como parasita do cafeeiro. *Revista de Agricultura* 55:62. 1980.
- LORDELLO, L.G.E. Nematóides das plantas cultivadas (8). São Paulo: Nobel. 1984.
- LORDELLO, L.G.E. & HASHIZUME, H. Suscetibilidade da variedade Kouillou de *C.canephora* a um nematóide. *Revista de Agricultura* 46:157-158. 1971.
- LORDELLO, L.G.E., MONTEIRO, A.R. & D'ARCE, R.D. Distribuição geográfica dos nematóides nocivos ao cafeeiro. *Revista da agricultura* 43:79-81. 1968.
- LORDELLO, R.R.A. & LORDELLO, A.I.L. Avaliação da resistência de cafeeiros às raças de *Meloidogyne incognita*. *Bragantia* 46:59. 1987.
- LUC, M. & GUIRAN, G. Les nematodes associés aux plantes de l'ouest African. *Agronomie Tropicale* 15:434-449. 1960.
- MAI, W.F. & LYON, H.H. Pictorial key to genera of plant-parasitic nematodes. London: Comstock Publishing Associate a division of Cornell University Press. 1996.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Legislação. Disponível em:<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis->

consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=19496> Acesso 28 de fevereiro de 2010. 2009.

MATA, J.S., SERA, T., AZEVEDO, J.A., ALTÉIA, M.Z., COLOMBO, L.A., SANCHES, R.S., PETEK, M.R. & FADELLI, S. Seleção para resistência ao nematóide *Meloidogyne paranaensis* EMN-95001: IAPARLN 94066 de “Catuaí x Icatu” em área altamente infestada. pp. 515-518 *In*: I. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas MG (Resumos). 2000.

MATIELLO, J.B. Gosto do meu cafezal. Rio de Janeiro: MAA/SDR/PROCAFÉ. 1997.

MATIELLO, J.B., AMARAL, A.S., MENDONÇA, S.M., LEITE FILHO, S. & LOUBACK, A. Viabilidade do cultivo de variedades de café arábica em regiões quentes, comparativo com café conilon em dois pisos altitudinais. pp. 15 *In*: 30 Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras São Lourenço (Resumos). 2004.

MOJTAHEDI, H., SANTO, G.S. & PINKERTON, J.N. Differential response of Thor alfalfa to *Meloidogyne chitwoodi* races and *M. hapla*. *Journal of Nematology* 20:410-416. 1988.

MONTEIRO, A.R., OLIVEIRA, C.M.G., FERRAZ, L.C.C.B. & GONÇALVES, W. Identificação morfológica de populações de *Meloidogyne* de cafezais paulistas pp. 82 *In*: Congresso Internacional de Nematologia Tropical, Rio Quente (Resumos). 1995.

MOURA, R.M. Reedição do relatório sobre a moléstia do cafeeiro na província do Rio de Janeiro, 1887, Emilio Augusto Göeldi. Recife, UFRPE: 1998.

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

MUNIZ, M.D.S., CAMPOS, V.P., CASTAGNONE-SERENO, P., CASTRO, J.M.D.E., ALMEIDA, M.R.A. & CARNEIRO, R.M.D.G. Diversity of *Meloidogyne exigua* (Tylenchida: Meloidogynidae) populations from coffee and rubber tree. *Nematology* 10:897-910. 2008.

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* 52:97-103. 2003.

OLIVEIRA, D.S. Patogenicidade de populações de *Meloidogyne incognita*, proveniente de Minas Gerais e São Paulo, ao cafeeiro. Tese de Doutorado. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 2006.

OLIVEIRA, D.S., OLIVEIRA, R.D.L., FREITAS, L.G. & SILVA, R.V. Variability of *Meloidogyne exigua* on Coffee in the Zona da Mata of Minas Gerais State, Brazil. *Journal of Nematology* 37:323–327. 2005a.

OLIVEIRA, D.S., OLIVEIRA, R.D.L. & GONÇALVES, W. Fenótipo S1 de Esterase em *Meloidogyne incognita* no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 31:207-207. 2006.

OLIVEIRA, D.S., OLIVEIRA, R.D.L. & SILVA, R.V. Caracterização Fisiológica de Populações de *Meloidogyne exigua* Associadas a Cafeeiros na Zona da Mata de Minas Gerais. *Nematologia Brasileira* 29:279-283. 2005b.

OLIVEIRA, R.D.L., LIMA, I.M. & BARROS, A.F. Importância e diagnose do parasitismo de nematoides em cafeeiros conilon. pp.360 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) *Tecnologias para a produção do café conilon*. Viçosa - MG: 2009.

ORNSTEIN, L. Disc electrophoreses. I. Background and Theory. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121:321-349. 1964.

PALANICHAMY, K. Nematode of problems of coffee in India. *India Coffee* 37:99-100. 1973.

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. pp. 257-259 In: *Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas (Resumos)*. 2000.

PONCIANO, N.J., NEY, M.G., MATA, H.T. & ROCHA, J.P. Dinâmica da cadeia agroindustrial do café (*Coffea arabica* L.) brasileiro após a desregulamentação. pp. In: *XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural*, Rio Branco - Acre (Resumos). 2008.

PONTE, J.J. & CASTRO, F.E. Lista adicional de plantas hospedeiras de nematóides das galhas, *Meloidogyne* spp. no Estado do Ceará (Brasil) referente a 1969/74. *Fitossanidade* 1:29-30. 1975.

PORTZ, R.L., STANGARLIN, J.R., FRANZENER, G., BALBI-PENA, M.I. & FURLANETTO, C. *Meloidogyne* spp. associados à cafeicultura em Municípios do Oeste do Paraná. *Nematologia Brasileira* 30:23-27. 2006.

RIBEIRO, R.C.F., OLIVEIRA, C.H., PEREIRA, A.A. & LIMA, R.D. Reação de progênies de híbridos interespecíficos de *Coffea arabica* e *Coffea canephora* à *Meloidogyne exigua* (Goeldi, 1887). pp. 94 In: *23 CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA*, Marília/Garça (Resumos). 2001.

ROESE, A.D., ROMANI, R.D., FURLANETTO, C., STANGARLIN, J.R. & PORTZ, R.L. Levantamento de doenças na cultura da soja, *Glycine max* (L.) Merrill, em municípios da região Oeste do Estado do Paraná. *Acta Scientiarum Maringá* 23:1293-1297. 2001.

SANTOS, J.M. Taxonomia de espécies de *Meloidogyne* Goeldi, 1889 que infectam o cafeeiro (*Coffea* spp.) no Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 22:229-230. 1997.

SCHIEBER, E. & GRULLON, L. El problema de los nematodos que atacan el café (*C. arabica*) en la Republica dominicana. *Turrialba* 19:513-517. 1969.

SCHIEBER, E. & SOSA, O.N. Nematodes on coffee in Guatemala. *Plant Disease Reporter* 44:722-723. 1960.

SERA, G.H., SERA, T., AZEVEDO, J.A.D., MATA, J.S.D., RIBEIRO-FILHO, C., DOI, D.S., ITO, D.S., FONSECA, I.C. & FONSECA, I.C.D.B. Porta-enxertos de café robusta resistentes aos nematóides *Meloidogyne paranaensis* e *M. incognita* raças 1 e 2. *Semina: Ciências Agrárias* 27:171-184. 2006.

SHARMA, R.D. Nematodes of the cocoa region of the state of Espírito Santo, Brazil. II. Nematodes associated with field crops and forest trees. *Revista Theobroma* 6:109-117. 1976.

SHARMA, R.D. & SHER, S.A. Nematodes associated with coffee in Bahia, Brazil. *Arq. Inst. Biol* 40:131-135. 1973.

SILVA, R.V. Produção de inóculo e diferenciação de raças de *Meloidogyne exigua* em *Coffea* spp. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG. 2005.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L., BARROS, A.F. & ZAMBOLIM, L. Primeiro relato da ocorrência de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro no Estado de Goiás. pp. 260 *In: 41º Congresso de Fitopatologia, Belo Horizonte (Resumos)*. 2008.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L., PEREIRA, A.A. & SÊNI, D.J. Respostas de genótipos de *Coffea* spp. a diferentes populações de *Meloidogyne exigua*. *Fitopatologia Brasileira* 32:205-212. 2007.

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 de Vitória da Conquista e Chapada Diamantina. pp. 167-170 *In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Poços de Caldas MG (Resumos)*. 2000.

TAYLOR, A.L. & SASSER, J.N. Biology, identification and control of rootknot nematodes (*Meloidogyne* spp.). North Carolina State University Graphics Raleigh: Coop. Publ. Dep. Plant. Pathol. 1978.

TAYLOR, D.P. & NETSCHER, C. An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica* 20:268-269. 1974.

TRIANANTAPHYLLOU, A.C. Cytological methods for the study of oogenesis and reproduction of root-knot nematodes. pp.107-114 *In: BARKER, K.R., CARTER, C.C. & SASSER, J.N. (Eds.) An Advanced Treatise on Meloidogyne*. North Carolina State University Graphics: 1985.

VILLAIN, L., MOLINA, A., SIERRA, S., DECAZY, B. & SARAH, J.L. Effect of grafting and nematicide treatments on damage by rootlesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) to *Coffea arabica* L. in Guatemala. *Nematropica* 30:87-100. 2000.

WHITEHEAD, A.G. Nematodea. pp.407-422 In: LEPELLEY, R.H. (Ed.) Pest of coffee. London: Longmans. 1968.

WOFFORD, D.S., GRAY, F.A. & ECKERT, J.W. Pathogenicity of Two Populations of *Meloidogyne hapla* Chitwood on Alfalfa and Sainfoin. Journal of Nematology 21:87-91. 1989.