

DESENVOLVIMENTO DE *Meloidogyne exigua* GOELDI, 1887,
EM RAÍZES DE CAFEEIROS, EM TRÊS AMBIENTES*

Rubens R.A. Lordello**

Luiz Gonzaga E. Lordello***

RESUMO

Com o objetivo de se obter informações sobre o desenvolvimento de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, em raízes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo, em três ambientes, plântulas no estágio do primeiro par de folhas verdadeiras foram transplantadas para copos plásticos com 250 ml de solo.

Trinta dias depois, cada muda foi infestada com 600 larvas pré-parasitas e transferidas para as diversas con-

* Trabalho originado da Dissertação apresentada pelo primeiro autor à E.S.A. "Luiz de Queiroz", para obtenção do título de Mestre. Entregue para publicação em 04/10/83.

** Laboratório de Nematologia, Instituto Agrônomo, Campinas, SP. Bolsita do CNPq.

*** Departamento de Zoologia, E.S.A. "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba.

dições de estudo: casa de vegetação, sala de temperatura constante e próximo de plantas adultas num cafezal. As raízes foram coletadas cada dois dias, coloridas e dissecadas, sendo os exemplares de *M. exigua* classificados de acordo com o estágio de desenvolvimento.

Os resultados permitiram concluir que o desenvolvimento de *M. exigua* foi influenciado pela temperatura, e, que da penetração das larvas às fêmeas com ovos foram necessários, respectivamente, 25,3 dias à temperatura média de 25,8°C, 37,3 dias a 22,1°C e 38 dias a 22,4°C, para a casa de vegetação, sala de temperatura constante e cafezal. A temperatura base estimada a partir dos resultados obtidos pelo método do coeficiente de variação foi 15°C. Foram necessárias, em média, 6580 unidades de calor, acima de 15°C, para *M. exigua* completar o seu desenvolvimento.

INTRODUÇÃO

Antes de 1887, vários autores referiam-se aos nematôides que causavam galhas nas raízes das plantas, mas somente nesse ano GOELDI publicou os resultados dos seus estudos sobre o declínio de cafeeiros na então Província do Rio de Janeiro, descrevendo seu agente causal. Para receber esse nematôide, GOELDI criou o gênero *Meloidogyne*, tendo a espécie tipo recebido a denominação de *M. exigua*.

O trabalho de GOELDI está entre as primeiras pesquisas sobre nematôides do gênero *Meloidogyne*, ressaltan

do sua importância como causa de problemas sérios em culturas de valor econômico. Mais tarde, o gênero e a espécie foram conduzidos à sinonímia, primeiro de *Heterodera radicicola* e depois de *H. marioni*, até serem revalidados por CHITWOOD (1949).

Apesar da atividade intensa em torno do gênero *Meloidogyne*, a espécie *M. exigua* permaneceu sem outros estudos específicos até vir à luz o trabalho de LORDELLO & ZAMITH (1958), trazendo novas informações sobre sua morfologia. Outros autores trabalharam com essa espécie, tratando da distribuição geográfica, quantificação dos prejuízos causados ao cafeeiro, seus hospedeiros, e, recentemente, do controle e resistência genética de cafeeiros (ARRUDA, 1960 e 1960a; ARRUDA & REIS, 1962; LORDELLO & ZAMITH, 1958a; LORDELLO, 1972; LORDELLO, 1981; MORAES et alii, 1972).

A literatura é muito pobre de informações sobre a biologia de *M. exigua*, existindo apenas contribuições esparsas, como as de PEREIRA (1978), que verificou serem os nematicidas carbamatos inibidores da emergência das larvas. SANTOS (1978) concluiu que fertilizantes nitrogenados influenciam diretamente a taxa de nascimento das larvas de *M. exigua*, e que o aumento do teor de cloreto de potássio disponível para o hospedeiro reduziu o número de galhas e a reprodução do nematóide.

Estudando o desenvolvimento de raízes de cafeeiros novos transplantados e penetração por *M. exigua*, NAKASONO et alii (1980) observaram que as larvas penetram apenas nas raízes lisas que se desenvolvem na segunda fase, preterindo as novas, que são finas e pilosas, e se desenvolvem na primeira fase, logo após o transplante e são diferenciadas das raízes primárias.

O objetivo do presente trabalho foi obter informações sobre a duração do desenvolvimento de *M. exigua* em raízes de cafeeiros em três ambientes.

REVISÃO DE LITERATURA

Segundo GUIRAN & RITTER (1979), CORNU (1879), quando descreveu *Anquillula marioni*, forneceu algumas características biológicas de um nematóide formador de galhas, mas a primeira descrição do ciclo biológico de uma espécie do gênero *Meloidogyne* pode ser atribuída a MULLER (1883), que forneceu ilustrações dos diferentes estádios e, desconhecendo o trabalho de CORNU, denominou o nematóide com que trabalhou de *Heterodera radiceicola*.

Muitos outros trabalhos trouxeram contribuições ao conhecimento desse importante grupo de nematóides, mas suas observações são de valor relativo uma vez que esses trabalhos são anteriores à revisão do gênero publicada por CHITWOOD (1949), quando a taxonomia desse gênero se apresentava confusa. Entre esses trabalhos, GUIRAN & RITTER (1979) citam: Atkinson, 1889; Stone & Smith, 1988; Bessey, 1911; Nagakura, 1939; Goodey, 1932; Tyler, 1933a, b.

TRIANAPHYLLOU & HIRSCHMANN (1960) citam que a primeira descrição completa do ciclo de vida de uma espécie de *Meloidogyne* foi publicada em 1941 por Christie & Cobb. Esses pesquisadores distinguiram cinco estágios de desenvolvimento separados por quatro trocas de cutícula (ecdises). A primeira ecdise acontece dentro do ovo. O segundo estágio larval nasce e entra na raiz da planta hospedeira. Após relativamente longo período de alimentação, durante o qual as larvas infestantes do segundo estágio ficam na forma de "salsicha", a segunda e terceira ecdises ocorrem em rápida sucessão. A quarta ecdise ocorre, aparecendo então as fêmeas e os machos adultos. Anterior a este estudo, citam que o único trabalho abrangente sobre o assunto foi feito por NAGAKURA (1930).

A crescente importância de muitas espécies do gênero *Meloidogyne* como pragas agrícolas, estimulou, nas últimas duas décadas, a execução de muitos trabalhos sobre sua biologia, como foi destacado por GUIRAN & RITTER (1979). Tal não ocorreu com a espécie *M. exigua*, apesar de sua grande importância como parasito do cafeeiro, tal

vez devido ao reduzido número de nematologistas trabalhando nos países produtores de café, onde ela ocorre.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho constou da infestação de plântulas de cafeeiro, *Coffea arabica* L., cv. Mundo Novo, com larvas de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, para se obter informações sobre o ciclo biológico dessa espécie em três condições ambientes. Foi realizado no Centro Experimental de Campinas (CEC) do Instituto Agronômico de Campinas, no período de 15 de setembro a 15 de novembro de 1978.

Obtenção e preparação das larvas de *M. exigua*

As larvas de *M. exigua* utilizadas na infestação foram obtidas de uma população gnotobiótica, mantida em raízes de mudas de cafeeiros cultivados em vasos, em condições de casa de vegetação. Essa população foi obtida coletando-se várias ootecas de raízes de cafeeiros infestados, que após serem multiplicadas separadamente e confirmadas as identificações específicas, foram misturadas formando a população.

As raízes infestadas foram trituradas em liquidificador, passadas pelas peneiras de 24 e 100 malhas por polegada, sendo desprezados os detritos de raízes retidos. A mistura de ovos, larvas e pequenos pedaços de raízes que atravessaram as peneiras, foi colocada em diversos conjuntos de Baermann modificado, segundo MONTEIRO (1970), mantidos no escuro, para que as larvas fossem recolhidas nos vidros de relógio tipo siracusa com água, após atravessarem a camada de algodão.

As larvas foram recolhidas cada 12 horas, juntadas num copo de vidro que foi mantido na geladeira, em tempe

tura de 5 a 8°C, até o momento de serem colocadas nos vasos.

Preparo dos vasos com mudas de cafeeiro

Foram utilizadas mudas de cafeeiro no estágio do início do primeiro par de folhas verdadeiras, que germinaram em canteiro de areia de rio expurgada com brometo de metilo (150 cm³/m³ de solo), e foram transplantadas para copos de plástico, com capacidade de 250 centímetros cúbicos de solo.

A terra utilizada era o resultado da mistura de la trossolo roxo, procedente do CEC, com areia de rio, tratada com brometo de metilo. A análise mostrou que a mistura resultante apresentou a seguinte composição física:

argila	- 25%
limo	- 1%
areia fina	- 17%
areia grossa	- 57%

As mudas foram transplantadas em 20/08/78 e os vasos permaneceram no meio de areia expurgada, em caixas plásticas, na casa de vegetação, até o momento da infestação.

Infestação das plantas

As plantas foram infestadas em 15/09/78, cerca de 60 horas após o início do processo de obtenção das larvas, e os 180 vasos receberam a suspensão com 600 larvas de *M. exigua*, na mesma ocasião.

A metodologia utilizada para a infestação foi iniciada com a diluição da suspensão de larvas para doze larvas por ml. Alíquotas de 10 ml foram colocadas em 185 copos enfileirados, até completar 50 ml. As alíquo-

tas foram distribuídas uma de cada vez, do copo número um ao 185 e vice-versa, de forma a diminuir o erro. Para que a suspensão permanecesse homogênea durante a distribuição, ela foi mantida sob constante agitação manual, com o auxílio de uma pá de jardineiro previamente esterilizada.

Os cinco copos extras serviram para a contagem do número de larvas presentes, confirmando que a distribuição havia sido homogênea, pois a média das contagens foi 604 larvas, indicando um erro menor que um por cento, podendo ser considerado o número de 600 larvas por vaso.

Antes da infestação, fez-se um furo com um lápis de oito milímetros de diâmetro e cinco centímetros de profundidade a uma distância de dois centímetros do colo da muda que foi irrigada com os 50 ml da suspensão de larvas. Após a água haver sido drenada, a superfície dos vasos foi coberta com uma camada de areia de rio esterilizada de cerca de um centímetro, ou seja, até a borda do vaso.

Delineamento experimental

Após o processo de infestação, as caixas com os vasos foram colocadas nos seus ambientes específicos, onde se iniciou a obtenção dos parâmetros de ambientes e, 64 horas depois, a coleta dos materiais para estudo.

Deve-se ressaltar que a distribuição dos vasos pelas caixas foi completamente casualizada, bem como a escolha das caixas destinadas a cada ambiente.

O experimento constou de três tratamentos que corresponderam às condições ambientes de uma casa de vegetação, de uma sala de temperatura constante e de um cafezal, localizados no Centro Experimental de Campinas, que receberam 60 vasos cada e foram colhidos em grupos de dois por tratamento cada dois dias.

Os tratamentos apresentavam as características ambientes dadas a seguir:

Casa de vegetação - localizada ao lado do viveiro de café do CEC, sem controle de temperatura, com o teto parcialmente pintado para diminuir o calor, onde a temperatura variou de 14 a 44°C, durante o experimento, com média de 25,8°C.

Sala de temperatura constante - localizada no CEC, onde foi mantida a temperatura de 22±2°C, com média de 22,1°C, através do uso de condicionadores de ar e aquecedores. Na iluminação foram utilizadas lâmpadas fluorescentes de 20 Watts, tipo luz do dia, marca Philips, ligadas das 6 às 18 horas.

Cafezal - as caixas, que continham vinte "vasos" cada, foram colocadas sob a projeção da "saia" de cafeeiros com cerca de oito anos de idade, e a quatro metros do posto meteorológico instalado para estudo do microclima do cafezal, onde a temperatura variou de 13 a 39°C, durante o experimento, com média de 22,4°C.

Em virtude de não se dispor de geotermógrafos, durante a execução do experimento, foram instalados na casa de vegetação e na sala de temperatura constante termógrafos para registrarem as temperaturas do ar. No cafezal os vasos foram colocados cerca de quatro metros de um abrigo meteorológico e aproveitaram-se os registros do mesmo.

Coleta, coloração e estudo do material

A coleta das plantas foi iniciada 64 horas após a infestação, sempre às nove horas, escolhendo-se ao acaso dois vasos que não fossem vizinhos, por ambiente, a cada dois dias. Os vasos eram colocados dentro de recipientes com água para separar as raízes do solo sem danificá-las. Após essa operação elas foram lavadas em água corrente e a parte aérea desprezada.

As raízes foram submetidas ao processo de coloração com fucsina ácida (McBRYDE, 1936), que consistia em deixá-las três minutos imersas numa solução 1:1 de ácido acético glacial e álcool etílico absoluto e 0,5% de solução aquosa de fucsina ácida a 1%. Em seguida foram lavadas numa seqüência de três copos com solução de ácido acético mais álcool sem o corante. Com o crescimento das mudas houve necessidade de o tempo de permanência na solução corante ser aumentado para quatro minutos.

Após a coloração, as raízes foram conservadas na solução de ácido acético glacial e álcool etílico sem corante, enquanto aguardavam o momento de serem examinadas e dissecadas sob microscópio estereoscópico, com auxílio de agulhas, para localizar e extrair os espécimes do nematóide.

Os exemplares obtidos foram montados em lâminas em glicerina e classificados segundo TRIANTAPHYLLOU & HIRSCHMANN (1960) e SIDDIQUI & TAYLOR (1970), observando-se as seguintes características:

- F_{2a} - Larva infestante do segundo estágio, sem alteração de forma.
- F_{2b} - Larva do segundo estágio, forma "salsicha".
- F₃ - Larva do terceiro estágio, após a segunda ecdise, com resquílios de cauda, sem estilete e dentro de duas cutículas (SIDDIQUI & TAYLOR, 1970).
- F₄ - Larva do quarto estágio, após a terceira ecdise, sem estilete, sem cauda e dentro de três cutículas.
- F₅ - Fêmea jovem, após a quarta ecdise, com forma de larva e dentro das quatro cutículas.
- F₆ - Fêmea com gelatina.
- F₇ - Fêmea com menos de vinte ovos.

Fg - Fêmea com ooteca, com mais de vinte ovos.

M - Macho.

A dissecação das raízes para a montagem das lâminas foi iniciada pelas plantas que ficaram na casa de vegetação, quando se verificou que o trabalho era muito delicado, moroso e extremamente estafante, principalmente, pela necessidade de se coletar todos os exemplares presentes no sistema radicular sem danificá-los, o que impediria sua classificação. Por esse motivo, optou-se por classificar as lâminas montadas desse tratamento e, em seguida, dissecar as raízes dos outros tratamentos utilizando um estereomicroscópio com aumento de até 80 vezes, que possibilitou a classificação do estágio da maioria dos exemplares obtidos. Nos casos em que isso não foi possível, principalmente exemplares no 3º e 4º estádios, eles foram colocados em lâminas e examinados ao microscópio óptico.

Devido ser possível apenas uma observação em cada nematóide, além de haver diferenças individuais quanto à velocidade de desenvolvimento, o tempo para a penetração e posterior desenvolvimento dos estádios ou "fases" foi calculado tomando-se a média dos tempos necessários para a ocorrência de três exemplares na mesma fase. Em alguns casos, o desenvolvimento do nematóide pode ter sido afetado por condições desfavoráveis e em outros a fase pode ter ocorrido algum tempo antes da coleta da planta, tornando discutível o uso do menor tempo para representar o aparecimento do estágio ou fase.

Cálculo das unidades de calor e da temperatura base

De acordo com o sistema usado por autores como TYLER (1933) e MILNE & DU PLESSIS (1964), as unidades de calor expressam uma relação entre temperatura e tempo. Cada grau Celsius, agindo por uma hora, é contado como uma unidade de calor.

Nos três ambientes, as temperaturas para o cálculo das unidades de calor, foram obtidas através de termôgrafos e tabuladas de hora em hora. O tempo necessário para a ocorrência das diferentes fases é a média das três primeiras vezes em que a mesma fase foi encontrada. O início do desenvolvimento foi contado a partir da média entre os tempos necessários para se encontrar três larvas dentro das raízes. Logo, para cada fase, as unidades de calor representam o somatório das temperaturas dos ambientes, de hora em hora, baseado no valor médio de tempo para a ocorrência dessa fase.

Para o cálculo da temperatura base foi empregado o processo do Coeficiente de Variação (CV), no qual são subtraídos das temperaturas obtidas, os valores tomados como temperaturas base e são calculados os CV entre o somatório desses resultados em cada ambiente. O menor CV caracterizará a temperatura base procurada, como fizeram STARR & MAI (1976).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados resultantes da dissecação das raízes das plântulas de cafeeiro e da classificação das fases de *M. exigua*, relativos aos três ambientes, encontram-se nas Tabelas 1, 2 e 3.

O número médio de horas/dias necessários para a ocorrência das fases de *M. exigua*, a partir da infestação das plantas e da penetração das larvas nas raízes, calculados com os dados das Tabelas 1, 2 e 3, encontram-se na Tabela 4. Como se observa por esses valores, o tempo para a penetração das larvas foi muito longo, possivelmente devido às raízes estarem enveladas, sem sua distribuição espacial normal, em consequência do transplante. A média do número de dias decorridos da penetração das larvas até a produção de ovos e aparecimento de ootecas (mais de vinte ovos) foram, respectivamente, 25,3

Tabela 1. Classificação das fases de desenvolvimento de *Meloidogyne oryzae* em raízes de cafeeiros em casa de vegetação. Campinas, SP, 1978.

Nº de dias após infestação	Repetições	Fases do nematóide								Nemat./planta
		F2a	F2b	F3	F4	F5	F6	F7	F8	
16,5	A	-	2	-	-	-	-	-	-	2
	B	1	3	1	-	-	-	-	-	5
18,5	A	-	5	1	-	-	-	-	-	6
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20,5	A	2	-	-	-	-	-	-	-	2
	B	-	-	2	-	-	-	-	-	2
22,5	A	-	-	1	-	-	-	-	-	1
	B	2	-	1	1	-	-	-	-	4
24,5	A	3	5	1	-	-	-	-	-	9
	B	3	1	3	1	-	-	-	-	8
26,5	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	1	-	1	-	-	-	-	-	2
28,5	A	-	-	-	-	2	-	-	-	2
	B	2	1	2	1	1	-	-	-	7
30,5	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B	6	3	2	1	3	-	-	-	15
32,5	A	8	3	-	-	1	-	-	-	12
	B	2	2	5	3	4	2	-	-	18
34,5	A	7	5	1	5	5	2	-	-	25
	B	2	2	1	2	-	-	-	-	7
36,5	A	3	7	3	4	2	-	-	-	19
	B	2	-	-	5	6	7	-	-	20
38,5	A	1	5	9	6	-	7	-	-	28
	B	-	2	6	3	2	7	-	-	20
40,5	A	-	2	1	9	6	6	-	-	24
	B	-	5	8	7	2	5	2	-	29
42,5	A	-	4	6	8	3	-	-	-	21
	B	-	-	3	5	4	2	-	-	14
44,5	A	-	8	4	5	8	5	2	-	32
	B	3	4	4	6	2	2	-	2	23
46,5	A	-	6	8	3	1	2	-	-	20
	B	perdida	-	-	-	-	-	-	-	-
48,5	A	2	1	3	4	9	4	4	-	27
	B	-	4	5	9	4	7	2	2	33
Número total de nematóides										437

Tabela 2. Classificação das fases de desenvolvimento de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiros em sala de temperatura constante. Campinas, SP, 1978.

Nº de dias após infestação	Repetições	Fases do nematóide								Nemat./planta
		F _{2a}	F _{2b}	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	
12,5	A	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14,5	A	10	-	-	-	-	-	-	-	10
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16,5	A	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	B	-	1	-	-	-	-	-	-	1
18,5	A	2	2	-	-	-	-	-	-	4
	B	6	9	-	-	-	-	-	-	15
20,5	A	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	B	5	2	1	-	-	-	-	-	8
22,5	A	-	1	-	-	-	-	-	-	1
	B	1	11	-	-	-	-	-	-	12
24,5	A	2	13	4	3	-	-	-	-	22
	B	1	1	-	-	-	-	-	-	2
26,5	A	-	1	1	6	-	-	-	-	8
	B	-	1	-	-	-	-	-	-	1
28,5	A	-	1	3	2	-	-	-	-	6
	B	1	5	1	4	1	-	-	-	12
30,5	A	-	2	-	-	-	-	-	-	2
	B	2	5	3	13	3	-	-	-	26
32,5	A	-	1	2	11	2	-	-	-	16
	B	5	2	-	-	1	-	-	-	8
34,5	A	-	3	7	6	2	-	-	-	18
	B	-	1	-	2	-	-	-	-	3
36,5	A	-	1	1	2	1	-	-	-	5
	B	2	5	5	5	2	-	-	-	19
38,5	A	4	1	2	10	4	5	-	-	26
	B	1	4	3	4	2	5	-	-	19
40,5	A	4	2	-	-	-	-	-	-	6
	B	1	1	-	1	-	-	-	-	3
42,5	A	3	-	-	-	-	1	-	-	4
	B	1	5	-	-	2	4	-	-	12
44,5	A	1	1	-	-	1	5	-	-	8
	B	5	5	1	2	1	6	-	-	20
46,5	A	11	3	-	-	-	-	-	-	14
	B	4	7	-	3	1	1	-	-	16
48,5	A	3	7	1	1	-	18	-	-	30
	B	5	3	-	2	2	10	1	-	23
50,5	A	9	14	-	1	1	3	-	-	28
	B	4	24	5	1	2	1	-	-	37
52,5	A	-	10	4	4	2	7	2	3	32
	B	-	10	2	6	1	7	4	5 + 1H	36
Número total de nematóides										516

Tabela 3. Classificação das fases de desenvolvimento de *Maloidiodyna exigua* em raízes de cafeeiros em cafezal. Campinas, SP, 1978.

Nº de dias após infestação	Repetições	Fases do nematóide								Nemat. / planta
		F _{2a}	F _{2b}	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	
8,5	A	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	B	3	-	-	-	-	-	-	-	3
10,5	A	6	-	-	-	-	-	-	-	6
	B	2	1	-	-	-	-	-	-	3
12,5	A	3	3	-	-	-	-	-	-	6
	B	3	2	-	-	-	-	-	-	5
14,5	A	10	4	-	-	-	-	-	-	14
	B	2	-	-	-	-	-	-	-	2
16,5	A	1	-	-	-	-	-	-	-	1
	B	7	3	-	-	-	-	-	-	10
18,5	A	7	4	-	-	-	-	-	-	11
	B	7	9	-	-	-	-	-	-	16
20,5	A	8	2	-	-	-	-	-	-	10
	B	4	3	-	-	-	-	-	-	7
22,5	A	4	-	-	-	-	-	-	-	4
	B	4	1	-	-	-	-	-	-	5
24,5	A	5	9	3	-	-	-	-	-	17
	B	3	1	-	-	-	-	-	-	4
26,5	A	1	18	2	-	-	-	-	-	21
	B	1	6	-	-	-	-	-	-	7
28,5	A	9	9	5	3	-	-	-	-	26
	B	6	21	5	-	-	-	-	-	32
30,5	A	2	14	5	10	-	-	-	-	31
	B	-	2	6	7	-	-	-	-	15
32,5	A	-	7	2	1	-	-	-	-	10
	B	10	11	3	2	-	-	-	-	26
34,5	A	9	24	9	4	-	-	-	-	46
	B	-	7	1	1	-	-	-	-	9
36,5	A	3	13	6	4	2	-	-	-	28
	B	1	6	2	1	-	-	-	-	10
38,5	A	-	12	5	4	1	-	-	-	22
	B	4	11	-	-	-	-	-	-	15
40,5	A	4	28	6	9	4	-	-	-	51
	B	6	10	4	10	3	-	-	-	33
42,5	A	11	16	5	8	-	2	-	-	42
	B	1	5	1	-	-	-	-	-	7
44,5	A	7	20	7	5	3	5	-	-	47
	B	1	13	2	1	-	-	-	-	17
46,5	A	-	1	4	13	6	14	1	-	39
	B	-	1	3	6	5	14	4	-	33
48,5	A	2	16	3	4	8	10	-	-	43
	B	4	11	2	4	-	-	-	-	21
50,5	A	7	10	6	4	3	4	-	-	34
	B	4	3	1	6	2	-	-	-	16
52,5	A	-	-	2	3	10	38	8	3	64
	B	5	16	5	3	2	2	-	-	33
Número total de nematóides										903

Tabela 4. Valores médios de tempo, expressos em horas e dias, para a ocorrência das fases de *M. exigua*, em raízes de plântulas de caféiro cv. Mundo Novo, contados da infestação e da penetração das larvas. Campinas, SP, 1978.

Fases do nematóide	Tempo	Casa de vegetação		Sala temp. const.		Cafezal		Coef. variação (%)	
		infest.	penetr.	infest.	penetr.	infest.	penetr.	infest.	penetr.
F2a	horas	400	0	336	0	208	0	31,1	-
	dias	16,7	-	14,0	-	8,7	-		
F2b	horas	400	0	432	96	304	96	17,6	86,6
	dias	16,7	-	18,0	4,0	12,7	4,0		
F3	horas	448	48	560	224	592	384	14,2	76,9
	dias	18,6	2,0	23,3	9,3	24,7	16,0		
F4	horas	608	208	592	256	688	480	8,2	46,1
	dias	25,3	8,7	24,7	10,7	28,7	20,0		
F5	horas	688	288	720	384	896	688	14,6	46,0
	dias	28,7	12,0	30,0	16,0	37,3	28,7		
F6	horas	800	400	896	560	1.040	832	13,2	36,6
	dias	33,3	16,7	37,3	23,3	43,3	34,7		
F7	horas	1.008	608	1.232	896	1.120	912	10,0	21,2
	dias	42,0	25,3	51,3	37,3	46,7	38,0		
F8	horas	1.104	704	1.264	928	1.264	1.056	7,6	19,9
	dias	46,0	29,3	52,7	38,7	52,7	44,0		

e 29,3 dias na casa de vegetação; 37,3 e 38,7 dias na sala de temperatura constante; e, 38 e 44 dias no cafezal.

As médias de temperatura ambiente e do tempo para o desenvolvimento de larvas do segundo estágio a fêmeas com ovos foram, respectivamente, 25,8°C e 25,3 dias na casa de vegetação, 22,1°C e 37,3 dias na sala de temperatura constante e 22,4°C e 38 dias no cafezal. Esses valores estão de acordo com os resultados de MILNE & DU PLESSIS (1964), que trabalharam com *M. javanica* em raízes de fumo e verificaram que a 14 e a 26°C foram necessários, respectivamente, 56 e 21 dias para o desenvolvimento das larvas do segundo estágio até fêmeas com ovos. WONG & MAI (1973) determinaram que larvas do segundo estágio de *M. hapla* precisaram de 54 dias para produzir ovos à temperatura média de 18,3°C, 26 dias a 23,9°C e 20 dias a 29,4°C, em raízes de alface. STARR & MAI (1976) verificaram, em sucessivos experimentos, que quando a temperatura variou entre 5 e 30°C, transcorreram de 25 a 54 dias para que ocorresse o mesmo desenvolvimento de *M. hapla*, em raízes de alface.

Essas variações podem ser explicadas pelo fato de os animais invertebrados dependerem da temperatura do ambiente para se desenvolverem, com limites inferior e superior bem definidos. Cada espécie animal apresenta uma temperatura base, acima da qual se desenvolve, assim como uma temperatura ideal, em que esse desenvolvimento se dá no menor tempo possível. Quando a temperatura varia em relação à ideal, o desenvolvimento é mais lento ou mesmo interrompido (SILVEIRA NETO et alii, 1976).

A temperatura base ou o limiar de temperatura inferior, em que a espécie se desenvolve, é obtida através de experimentos realizados a temperaturas constantes (SILVEIRA NETO et alii, 1976), ou pode ser estimada através de modelos matemáticos, como fizeram MILNE & DU PLESSIS (1964) e STARR & MAI (1976).

Segundo TYLER (1933), a relação entre o tempo e a temperatura pode ser expressa em unidades de calor. Cada grau Celsius, agindo por uma hora, é contado como uma

unidade de calor. Como abaixo da temperatura base, que é específica para cada espécie, o desenvolvimento da planta ou animal cessa, o somatório das unidades de calor, acima dessa temperatura, expressaria a necessidade de calor, que é praticamente constante na espécie, para se atingir determinada fase de desenvolvimento. Essa afirmação foi corroborada pelos resultados de WONG & MAI (1973).

Desenvolvendo estudos para prever a produção de ovos por *M. hapla* na cultura de alface, a partir da temperatura do solo, STARR & MAI (1976), calculando as unidades de calor para diferentes experimentos, usando várias temperaturas base e estudando os Coeficientes de Variação (CV) concluíram que 5 e 7°C estão mais próximos da temperatura base que os 10°C propostos por TYLER (1933) e usados inicialmente.

Com base no trabalho de STARR & MAI (1976), foram calculadas as unidades de calor a partir da temperatura base de 10°C, de grau em grau, para os três ambientes. Os Coeficientes de Variação (CV) dos resultados obtidos cresceram até à temperatura de 15°C, e depois aumentaram (Tabela 5). Considerando-se o presente experimento, a temperatura base para *M. exigua* pode ser tomada como próxima, mas inferior, a 15°C, valor obtido nos cálculos.

Como foram utilizados para os cálculos as temperaturas do ar, que são mais elevadas que as do solo, os resultados são superiores aos obtidos através da temperatura real do solo. Contudo, por terem sido usados vasos pequenos, enterrados em areia, em caixas plásticas de volume reduzido, sujeitas a todas as variações do ambiente e devido à correlação existente entre a temperatura do ar e a do solo (ALFONSI, 1979), justifica-se o uso da temperatura do ar para o cálculo das unidades de calor. Deve-se acrescentar a esses fatores a facilidade de manuseio e maior disponibilidade de termôgrafos para temperatura do ar.

Tabela 5. Unidades de calor necessárias para o desenvolvimento de *M. exigua* do segundo estadio larval até fêmea com ovo.

Temperatura base (°C)	Casa de vegetaçã	Sala temp. constante	Cafezal	CV (%)
0	15.665	19.843	20.468	14,0
10	9.585	10.883	11.348	8,6
11	8.977	9.987	10.436	7,6
12	8.369	9.091	9.524	6,5
13	7.761	8.195	8.612	5,2
14	7.153	7.299	7.700	3,8
14,9	6.606	6.493	6.879	2,98
15	6.545	6.403	6.788	2,95
15,1	6.484	6.313	6.697	2,96
16	5.937	5.507	5.876	4,0
17	5.329	4.611	4.964	5,5

As unidades de calor necessárias para o desenvolvimento das fases de *M. exigua*, após a penetração das larvas nas raízes dos cafeeiros, nos três ambientes, considerando como temperatura base 0, 10 e 15°C, constam da Tabela 6. Do segundo estágio larval até fêmeas com ovos, tomando-se 15°C como temperatura base, foram necessárias 6.545, 6.403 e 6.788 unidades de calor para a casa de vegetação, sala de temperatura constante e cafezal, respectivamente.

Na Tabela 7, estão relacionados os números de dias após a penetração e as unidades de calor até o desenvolvimento de cada fase do nematóide nos três ambientes e os respectivos coeficientes de variação. Pode-se verificar que os valores do CV são sempre menores para as unidades de calor, indicando que quando comparado ao número de dias, esse parâmetro é o que melhor retrata o desen-

Tabela 6. Unidades de calor acima de 0, 10 e 150C, necessárias para o desenvolvimento de *M. azigua* após a penetração nas raízes dos cafeeiros nos três ambientes. Campinas, SP, 1978.

Fases do nematóide	Casa de vegetação			Sala temp. constante			Cafezal			Coef. Variação		
	00	100	150	00	100	150	00	100	150	00	100	150
F2a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-
F2b	0	0	0	2.167	1.207	727	2.031	1.071	591	86,7	87,1	88,0
F3	1.200	720	480	4.903	2.663	1.543	8.449	4.609	2.689	74,7	73,0	70,3
F4	5.110	3.030	1.990	5.609	3.049	1.769	10.563	5.763	3.363	42,5	39,8	36,4
F5	7.177	4.297	2.857	8.452	4.612	2.692	15.100	8.220	4.780	41,5	38,2	33,7
F6	10.136	6.136	4.136	12.304	6.704	3.904	18.705	10.385	6.225	32,5	29,8	26,9
F7	15.665	9.585	6.545	19.843	10.883	6.403	20.468	11.348	6.788	14,0	8,6	3,0
F8	18.226	11.186	7.666	20.529	11.249	6.609	23.549	12.989	7.709	18,2	8,7	8,5

Tabela 7. Números médios de dias e unidades de calor, acima de 15°C, necessários ao desenvolvimento de *V. exigua*, após a penetração das larvas. Campinas, SP, 1978

Fases do nematóide	Casa de vegetação		Sala temp. constante		Cafezal		Coef. Variação (CV)	
	dias após penetração	unidades de calor	dias após penetração	unidades de calor	dias após penetração	unidades de calor	dias após penetração	unidades de calor
F _{2a}	0	0	0	0	0	0	0	0
F _{2b}	0	0	4,0	727	4,0	591	86,6	88,0
F ₃	2	480	9,3	1.543	16,0	2.689	76,9	70,3
F ₄	8,7	1.990	10,7	1.769	20,0	3.363	45,9	36,4
F ₅	12,0	2.857	16,0	2.692	28,7	4.780	46,1	53,7
F ₆	16,7	4.136	23,3	3.904	34,7	6.225	36,6	26,9
F ₇	25,3	6.545	37,3	6.403	38,0	6.788	21,3	3,0
F ₈	29,3	7.666	38,7	6.609	44,0	7.709	19,9	8,5

volvimento do parasito, concordando com os resultados de MILNE & DU PLESSIS (1964), WONG & MAI (1973) e STARR & MAI (1976).

O número de unidades de calor para se obter as fases intermediárias apresenta muita variação entre os ambientes. A fase F₇, com 3% é a que apresenta o menor CV, seguida de F₈, com 8,5% e de F₆, com 26,9%. Esses resultados mostram que as fases F₇ e F₈ ocorrem com valores bem próximos de unidades de calor nos diferentes ambientes, fato que reforça seu emprego e confere maior exatidão às informações sobre o tempo de desenvolvimento dessa espécie, possibilitando tomar-se um valor médio de 6.580 unidades de calor para caracterizar o desenvolvimento até F₇, independente do ambiente, desde que não haja outro fator limitante.

Pelo estudo comparativo dos resultados dos três ambientes, observa-se que todas as fases ocorreram com o menor número de unidades de calor e no menor tempo na casa de vegetação, indicando que esse ambiente é o que apresenta condições mais próximas das ideais para o desenvolvimento de *M. exigua*, entre as estudadas. Verificando-se as médias de temperaturas e o tempo de aparecimento de fêmeas com ovos (F₇), tem-se 25,8°C e 25,3 dias na casa de vegetação, sendo a maior temperatura média a que apresentou o desenvolvimento mais rápido, constituindo mais uma indicação de que *M. exigua* é uma espécie de clima quente, como pode-se constatar através da sua distribuição geográfica, apresentada por LORDELLO (1972).

As três ecdises que ocorreram durante o desenvolvimento do nematóide, no final de F_{2b}, F₃ e F₄, apresentaram número de unidades de calor bem diferentes para cada ambiente, que pode ser atribuído à existência de um fator limitante, que ocorreu nos dois ambientes com maior necessidade de unidades de calor e pode ser uma temperatura baixa ou alta, ou ainda outro tipo de limitação não detectável no presente trabalho.

CONCLUSÕES

Com base nos resultados do presente trabalho foram obtidas as seguintes conclusões:

- a) O tempo necessário ao desenvolvimento de *M. exigua*, em raízes de cafeeiro cv. Mundo Novo, foi influenciado pela temperatura, aumentando com o decréscimo desta.
- b) A temperatura base (limiar de desenvolvimento) foi estimada em 15°C, tendo em vista os resultados obtidos, pelo método do coeficiente de variação.
- c) Para o desenvolvimento do nematóide nos ambientes de casa de vegetação, sala de temperatura constante e cafezal, às temperaturas médias de, respectivamente, 25,8, 22,1 e 22,4°C, foram necessários, nesta ordem, 25,3, 37,3 e 38 dias e 6.545, 6.403 e 6.788 unidades de calor, calculadas à temperatura base de 15°C.

SUMMARY

DEVELOPMENT OF *Meloidogyne exigua* GOELDI, 1887, IN COFFEE ROOTS UNDER THREE ENVIRONMENTAL CONDITIONS

Coffee seedlings (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo showing a single pair of leaves were transplanted to pots containing 250 ml of soil. After 30 days, the pots received 600 second stage larvae and were transferred to different environmental conditions, namely a greenhouse, a constant temperature room and a coffee field. Roots collected every two days were stained and dissected for classification of the developmental stages of the nematodes found in.

Results showed that *Meloidogyne exigua* was influenced by temperature, requiring from the penetration of pre-parasitic larvae to egg-laying female stage, 25.3 days at the mean temperature of 25.8°C in the greenhouse, 37.3 days at 22.1°C in the room, and 38 days at 22.4°C in the coffee field. The minimum threshold temperature for development of this species was found to be 15°C in this experiment. The mean of 6,580 centigrade hours above 15°C was necessary for *M. exigua* to complete its development.

LITERATURA CITADA

- ALFONSI, R.R., 1979. Flutuação estacional da temperatura e da difusividade térmica para solo da região de Campinas, SP. Piracicaba, ESALQ/USP, 82 p. (Dissertação de Mestrado).
- ARRUDA, H.V. de, 1960. Efeito depressivo de nematóides, sobre mudas de cafeeiro formadas em laminados. **Bragantia** 10: XV-XVII.
- ARRUDA, H.V. de, 1960a. Redução no crescimento de cafeeiros com um ano de campo, devida ao parasitismo de nematóides. **Bragantia** 19: CLXXIX-CLXXII.
- ARRUDA, H.V. de; REIS, A.J., 1962. Redução nas duas primeiras colheitas de café, devida ao parasitismo de nematóide. **Biológico**, São Paulo, 28(12): 349.
- CHITWOOD, B.G., 1949. Root-knot nematodes. I. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. **Proc. helminth.Soc. Wash.** 16(2): 90-104.
- GOELDI, E.A., 1887. Relatório sobre a moléstia do cafeeiro na Província do Rio de Janeiro. **Arch. Mus. Nac.** 8: 7-123, (ano: 1892).

- GUIRAN, G. de; RITTER, M., 1979. Life cycle of *Meloidogyne* species and factors influencing their development. In: LAMBERTI, F.; TAYLOR, C.E., ed., **Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species) systematics, biology and control**. London, Academic Press, p. 173-191.
- LORDELLO, L.G.E., 1972. Nematode pests of coffee. In: WEBSTER, J.M., ed. **Economic Nematology**. London and New York, Academic Press, p. 268-284.
- LORDELLO, L.G.E., 1981. **Nematóides das plantas cultivadas**. 6ª ed. São Paulo, Livraria Nobel. 314 p.
- LORDELLO, L.G.E.; ZAMITH, A.P.L., 1958. On the morphology of the coffee root-knot nematode, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. **Proc. helminth. Soc. Wash.** 25(2): 133-137.
- LORDELLO, L.G.E.; ZAMITH, A.P.L., 1958a. Nematódeos atacando cafeeiro no Estado de São Paulo. **Rev. Agric., Piracicaba**, 33(1): 59-62.
- McBRYDE, M.C., 1936. A method of demonstrating rust hyphae and haustoria in unsectioned leaf tissue. **Am. J. Bot.** 23: 686-688.
- MONTEIRO, A.R., 1970. Dorylaimoidea de cafezais paulistas (Nemata, Dorylaimida). Piracicaba, ESALQ/USP, 137 p. (Tese de Doutorado).
- MORAES, M.V. de; LORDELLO, L.G.E.; PICCININ, O.A.; LORDELLO, R.R.A., 1972. Pesquisas sobre plantas hospedeiras do nematóide do cafeeiro, *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. **Ciência Cult.** 24(7): 658-660.
- NAKASONO, K.; LORDELLO, R.R.A.; MONTEIRO, A.R.; LORDELLO, L.G.E., 1980. Desenvolvimento de raízes de cafeeiros novos transplantados e penetração por *Meloidogyne exigua*. **Soc. Bras. Nemat. Publ.** 4: 33-46.

- PEREIRA, L.V., 1978. Eficiência de inseticidas e fungicidas sobre *Meloidogyne exigua* (Nematoda: Meloidogynidae) e de nematocidas-inseticidas sobre *Perileucoptera coffeella* (Lepidoptera: Lyonetiidae) em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Viçosa, MG, 61 p. (Dissertação de Mestrado).
- SANTOS, J.M. dos, 1978. Efeito de fertilizantes sobre *Meloidogyne exigua* e influência de seu parasitismo sobre a absorção de nutrientes em mudas de *Coffea arabica* L. Viçosa, MG, 49 p. (Dissertação de Mestrado).
- SIDDIQUI, I.A.; TAYLOR, D.P., 1970. The biology of *Meloidogyne naasi*. **Nematologica** 16: 133-143.
- SILVEIRA NETO, S.; NAKANO, O.; BARBIN, D.; VILLA-NOVA, N.A., 1976. **Manual de ecologia dos insetos**. São Paulo, Ed. Ceres, 419 p.
- STARR, J.L.; MAI, W.F., 1976. Predicting on-set of egg production by *Meloidogyne hapla* on lettuce from field soil temperatures. **J. Nematol.** 8(1): 87-88.
- TRIANANTAPHYLLOU, A.C.; HIRSCHMANN, H., 1960. Post-infection development of *Meloidogyne incognita* Chitwood, 1949. (Nematoda: Heteroderidae). **Ann. Inst. Phytologique Benaki** (Nouvelle Série), Grece, 3: 1-11.
- TYLER, J., 1933. Development of the root-knot nematode as affected by temperature. **Hilgardia** 7(10):391-415.
- WONG, T.K.; MAI, W.F., 1973. Effect of temperature on growth, development and reproduction of *Meloidogyne hapla* in lettuce. **J. Nematol.** 5(2): 139-142.