

***Meloidogyne paranaensis* E *Meloidogyne exigua* EM LAVOURAS CAFEIEIRAS NA REGIÃO SUL DE MINAS GERAIS**

Sônia M. L. Salgado¹, Natália Monique R. B. Guimarães², César Elias Botelho³,
Guilherme A. T. Tassone⁴, Ana Luiza Marcelo⁵, Simone Ribeiro de Souza⁶,
Rosângela D. Lima Oliveira⁷, Daniel Furtado Ferreira⁸

(Recebido: 20 de janeiro de 2015 ; aceito: 29 de abril de 2014)

RESUMO: Os municípios da Região Sul de Minas Gerais, maior região produtora de café no Brasil, enfrentam um sério risco de perda na produtividade se espécies dos nematoides das galhas mais agressivas ao cafeeiro, como *Meloidogyne paranaensis*, estiverem presentes. Para a prevenção da disseminação desse nematoide é necessário conhecer os focos de ocorrência e a distribuição de *Meloidogyne* spp., nessa Região. Objetivou-se, neste trabalho, investigar lavouras de *Coffea arabica* de alguns municípios produtores de café do sul de Minas Gerais por meio da amostragem de raízes, diagnóstico e mapeamento dos focos. O número de amostras foi calculado de acordo com a área de plantio e a produção de café do município. De um total de 165 amostras coletadas, constatou-se o nematoide das galhas em 43,03% delas, sendo identificadas as espécies *Meloidogyne exigua* em 92,95%, *M. paranaensis* em 4,22% e *M. exigua* e *M. paranaensis*, em mistura em 2,81% das detecções. A ocorrência de *M. exigua* e *M. paranaensis* se deu nos municípios analisados, exceto em Guaranésia, em que nenhum nematoide das galhas estava presente. Os fenótipos E1 e E2 da esterase foram encontrados em *M. exigua*, se destacando o fenótipo E2, na maioria dos municípios (Guaxupé, Monte Belo, Monte Santo de Minas, Muzambinho e São Pedro da União). *M. paranaensis* (fenótipo P1) foi detectado parasitando cafeeiros nos municípios de Alpinópolis e Coqueiral, causando intenso depauperamento e morte das plantas. Isso sugere a necessidade da adoção de medidas de contenção da doença na região.

Termos para indexação: *Coffea arabica*, *Meloidogyne* spp., mapeamento, esterase.

***Meloidogyne paranaensis* AND *Meloidogyne exigua* IN COFFEE PLANTATIONS FROM THE SOUTH OF MINAS GERAIS STATE**

ABSTRACT: The cities in the South of Minas Gerais, which is the main coffee producer region in Brazil, would face a serious risk of productivity loss if more aggressive root-knot nematode species, such as *Meloidogyne paranaensis*. In order to prevent the dissemination of this nematode, it is necessary to know the occurrence outbreaks and distribution of *Meloidogyne* spp. in this region. Then, objective was to investigate *Coffea arabica* plantations of some coffee-producing cities in the South of Minas Gerais by root sampling, diagnosis and mapping of outbreaks. The total of 162 samples was calculated according to the planting area and coffee production in the production areas in some cities. The root-knot nematodes were found in 32.7% of them. The species *M. exigua* in 90.5%, and *M. paranaensis* in 9.5% of the detections. The occurrence of *M. exigua* and *M. paranaensis* was observed in the cities sampled, except Guaranésia, where no root-knot nematode was present. Esterase phenotypes E1 and E2 were found in *M. exigua* populations, highlighting the E2 phenotype in most cities (Guaxupé, Monte Belo, Monte Santo de Minas, Muzambinho and São Pedro da União). *M. paranaensis* (P1 phenotype) was detected in Coqueiral and Alpinópolis causing plant mortality. This suggest that is necessary the use of phytosanitary approaches.

Index terms: *Coffea arabica*, *Meloidogyne* spp., mapping, esterase.

1 INTRODUÇÃO

Os nematoides das galhas, *Meloidogyne* spp., ocorrem em diversas regiões produtoras de café no Brasil, constituindo-se em ameaça à produtividade das lavouras. Esses nematoides são patógenos biotróficos com relacionamento alimentar altamente especializado com as plantas hospedeiras (ROSSO et al., 2011). Dezesete

espécies de *Meloidogyne* estão associadas ao cafeeiro (CAMPOS; VILLAIN, 2005) e, recentemente, uma nova espécie *M. lopezi* n. sp. foi descrita parasitando cafeeiros na Costa Rica (HUMPHREYS-PEREIRA et al., 2014). Nos últimos 20 anos, o impacto dos nematoides ao cafeeiro é devido ao cultivo intenso das lavouras pelo uso de variedades altamente produtivas em plantios adensados (HERVE et al., 2005).

^{1,3,5,6}Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais/EPAMIG - Unidade Regional Sul de Minas/URESM - Cx. P. 176 37.200-000 - Lavras - MG - soniaepamig@gmail.com, cesar@epamig.ufla.br, analuizamas@gmail.com, simonemonasimone@gmail.com

²Universidade Federal de Lavras/UFLA - Departamento de Fitopatologia/DFP - Cx. P. 3037- 37.2000-000 Lavras - MG agronaribeiro@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Lavras/UFLA - Departamento de Agricultura/DAG -Cx. P. 3037- 37.2000-000 Lavras - MG gui.tassone@hotmail.com

⁷Universidade Federal de Viçosa/UFV – Departamento de Fitopatologia/DFP -36.570-000 - Viçosa - MG - rdlima@ufv.br

⁸Universidade Federal de Lavras/UFLA - Departamento de Ciências Exatas/DEX -Cx. P. 3037- 37.2000-000 - Lavras - MG danielff@dex.ufla.br

De acordo com Campos e Villain (2005), em Minas Gerais ocorre predominância de *M. exigua*, espécie mais disseminada no Brasil e com capacidade adaptativa a diversas regiões. *M. paranaensis*, Almeida e Carneiro (1996) em cafeeiros foi inicialmente constatada por Castro et al. (2008) no município de Piumhi, localizado na região sudoeste de Minas. No sul de Minas, a possibilidade de disseminação do *M. paranaensis*, a partir das lavouras de Piumhi é um risco à produção cafeeira dessa região. Soma-se a isto, o risco de disseminação a partir de lavouras do município de Cássia dos Coqueiros, com alta infestação e próximo aos importantes municípios produtores de café como Guaxupé e Monte Santo de Minas, na região sul de Minas Gerais. Além disso, outros municípios produtores de café da região sul de Minas não foram investigados quanto à ocorrência de *Meloidogyne* spp., no último levantamento realizado por Castro et al. (2008).

Atualmente, as análises moleculares tornaram-se uma importante ferramenta no diagnóstico do nematoide das galhas, cujo avanço nas últimas décadas permitiu maior confiabilidade na identificação das principais espécies de *Meloidogyne* do cafeeiro. Dentro disso, podemos incluir a análise do fenótipo da enzima esterase (Est), com mais de 40 fenótipos de diferentes espécies descritos (BLOK; POWER, 2009). Os fenótipos de esterase (Est) mostraram-se específicos e uma ótima ferramenta para identificar as principais espécies de *Meloidogyne* em café, a saber: *M. incognita* (Est I1, I2), *M. paranaensis* (Est P1, P2) e *M. exigua* (Est E1) (CARNEIRO et al., 2005). Recentemente, Villain et al. (2013), analisando os perfis de esterase identificaram várias espécies de *Meloidogyne* parasitando cafeeiros, em diferentes regiões produtoras da América Central.

A técnica SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) - PCR (Polymerase Chain Reaction) Multiplex é uma ferramenta que permite a identificação precisa das principais espécies de *Meloidogyne* do cafeeiro, mesmo em mistura na amostra e a partir de poucos indivíduos (CARNEIRO et al., 2005). A análise em SCAR-PCR ou rDNA primer específico representa uma ferramenta rápida e precisa para determinar a identidade de espécies de *Meloidogyne* (ADAM; PHILLIPS; BLOK, 2007).

Levantamento da ocorrência de *Meloidogyne* spp., em lavouras cafeeiras da região sul de Minas, abrangendo municípios não investigados por Castro et al. (2008) permite conhecer os locais infestados, visando intensificar as medidas preventivas de contenção da doença e manter as boas condições fitossanitárias das lavouras dessa região. Portanto, objetivou-se realizar esse levantamento empregando métodos diagnósticos de maior precisão como a eletroforese da esterase e o uso de marcadores SCAR em reação Multiplex-PCR, na análise de amostras de raízes de cafeeiros *Coffea arabica*, coletadas em diversas lavouras de municípios selecionados na região sul de Minas Gerais, a fim de mapear os focos da infestação de espécies do gênero *Meloidogyne* spp, utilizando-se o sistema de informações geográficas (SIG's).

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os municípios produtores de café localizados na região sul de Minas Gerais e selecionados nesse trabalho foram Monte Belo, Guaranésia, Muzambinho, São Pedro da União, Monte Santo de Minas, Guaxupé, Cabo Verde, Bom Jesus da Penha, Juruaia, Alpinópolis e Coqueiral. Todas as lavouras de *Coffea arabica* amostradas foram aleatoriamente selecionadas por Técnicos da Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER), do escritório local de cada município.

Antes da coleta de amostras, calculou-se o número de “amostras compostas” por município, tomando-se por base os dados da EMATER-MG, contidos no Relatório Sintético para Cultura Permanente – Café, Safra Agrícola 2009, no Estado de Minas Gerais. De posse destas informações, o tamanho total da amostra, para cada município, foi obtido por:

$$n = \frac{Z_{\alpha/2}^2}{4e^2}$$

em que $Z_{\alpha/2}$ é o quantil superior da distribuição normal padrão, considerando um nível de significância igual a α e e é o erro de estimação, fixado em 2% de acordo com Morettin e Bussab (2014). Baseado nesses autores, o número de “amostras compostas” por município, considerando a área total de café constituída pela área em formação e área em produção, obteve-se na fórmula:

$$n_i = \frac{P_i A_i}{\sum_{i=1}^L P_i A_i} \times n$$

em que o n_i é o tamanho da amostra no i -ésimo município; n é tamanho total da amostra em todo o Estado; P_i é a produtividade em sacas de 60 kg de café beneficiado do i -ésimo município; A_i é a área total (ha) plantados com café no i -ésimo município.

Para a amostra composta, subamostras de raízes foram coletadas à profundidade de 15 a 20 cm da superfície, na rizosfera de oito cafeeiros, e após a mistura em balde foi retirada a amostra composta de, aproximadamente, 200 g de raízes e solo em quantidade suficiente para envolver as raízes e prevenir a dessecação do material em sacos de plástico. Em cada talhão amostrado, foram coletados os dados das coordenadas geográficas, empregando o GPS de Navegação e a construção do mapa de distribuição de *Meloidogyne* spp.

As amostras das raízes foram dissecadas com auxílio de escalpelos e pinças sob microscópio estereoscópico, para a retirada de fêmeas em fase inicial de postura e de coloração branco-leitosa. Essas fêmeas foram transferidas para microtubos contendo tampão de extração, conforme metodologia descrita por Freitas, Neves e Oliveira (2007), para identificação das espécies de *Meloidogyne*, baseada no fenótipo da enzima esterase em gel de poliacrilamida. Fêmeas desqualificadas para a análise de isoenzimas foram analisadas por meio da técnica de SCAR-Café, em Multiplex-PCR (CARNEIRO et al., 2005), empregando juvenis do segundo estágio (J2). Estes foram obtidos de câmaras de eclosão preparadas com os ovos extraídos das amostras de raízes, utilizando o método descrito por Carneiro et al. (2004).

A extração do DNA genômico e amplificação SCAR-Multiplex-PCR foi realizada, empregando-se os primers marcadores SCAR-Café desenvolvidos por Randing et al. (2002) ex-D15-F (CAT CCG TGC TGT AGC TGC GAG), ex-D15-R (CTC CGT GGG AAG AAA GAC TG), inc-K14-F (GGG ATG TGT AAA TGC TCC TG), inc-K14-R (CCC GCT ACA CCC TCA ACT TC), par-C09-F (GCC CGA CTC CAT TTG ACG GA), par-C09-R (CCG TCC AGA TCC ATC GAA GTC) e jav-A01-F (CAG GCC CTT CAG TGG AAC TATAC) e jav-A01-R (GCC CGA CTC CAT TTG ACG GA), respectivamente, para detecção de *M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis*.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Meloidogyne spp. foi constatado em 43,03% das amostras, sendo que 92,95% dessas amostras apresentaram *M. exigua* (Figura 1, Tabela 1). *M. paranaensis* ocorreu em 4,22%, sendo que 2,81% das amostras apresentaram populações de *M. exigua* e *M. paranaensis* em mistura (Figuras 2A). Dois fenótipos de esterase, E1 e E2, foram detectados nas populações de *M. exigua*. Somente o fenótipo E1 de *M. exigua* foi encontrado por Barros et al. (2014), em lavouras cafeeiras de café conilon, no estado do Espírito Santo, sendo que essa espécie apresentou maior ocorrência nas lavouras.

Em alguns géis, esses fenótipos E1 e E2 característicos da espécie, apresentaram algumas bandas atípicas associadas, porém em baixa frequência. Nesses casos, a confirmação da espécie *M. exigua* foi obtida por meio da análise por SCAR-PCR (CARNEIRO et al., 2005).

No município de Coqueiral e Alpinópolis foi detectada a presença de *M. paranaensis* nas amostras analisadas (Tabela 1, Figura 2). Em Coqueiral, verificou-se a presença de *M. exigua* em área ao lado da área infestada por *M. paranaensis*, dentro da mesma lavoura. É comum a ocorrência de mistura de espécies de *Meloidogyne*, numa mesma lavoura cafeeira. A presença de alguma isoenzima, em mistura com aquelas que compõem o fenótipo típico da espécie, é comum nas análises de diagnóstico.

Ao analisar 54 populações de *Meloidogyne* de diferentes áreas cultivadas com café nos estados de São Paulo e Minas Gerais, Carneiro et al. (2005) identificaram as espécies *M. incognita* (Est I1), *M. paranensis* (Est P1) e *M. exigua* (Est E1), numa população pura atípica designada Est Br2 e populações atípicas em mistura. Carneiro, Almeida e Carneiro (1996), analisando o perfil de esterase em amostras de todo o Brasil, identificaram três principais espécies de *Meloidogyne* do cafeeiro, *M. incognita*, *M. hapla*, *M. exigua*. Carneiro, Almeida e Quénéhervé (2000), analisando o perfil de esterase, identificaram três espécies de *Meloidogyne* do cafeeiro, *M. paranaensis*, *M. exigua* e *M. coffeicola*. Muniz et al. (2008) verificaram três fenótipos de esterase (E1, E2 e E3) em populações de *M. exigua*, oriundas de área de cultivo de café no Brasil, Bolívia e Costa Rica.

Apenas no município de Guaranésia, a amostragem revelou-se negativa para *Meloidogyne* sp. (Tabela 1). No município de Cabo Verde, 94,8% das raízes das amostras apresentaram sintomas típicos do nematoide das galhas.

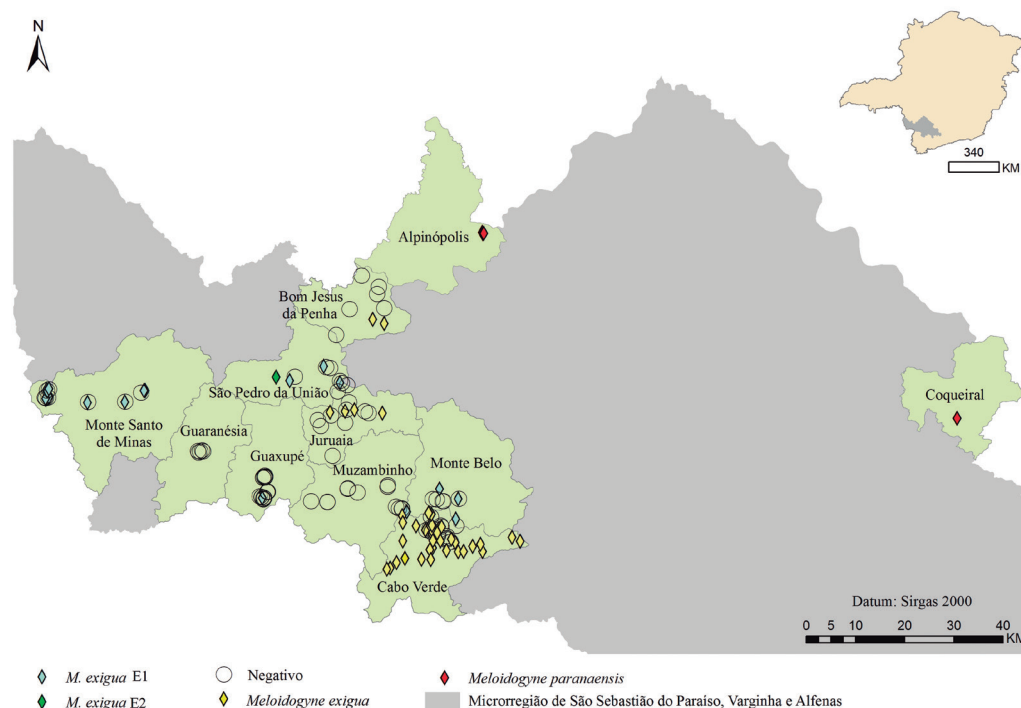


FIGURA 1 - Distribuição espacial de *Meloidogyne* spp. nos municípios da região sul de Minas Gerais, Brasil.

TABELA 1 - Frequência de ocorrência de *Meloidogyne exigua* e *M. paranaensis*, detectados com base em fenótipos de esterase e SCAR-PCR, em amostras de raízes de caféeiros retiradas de lavouras localizadas na região sul do estado de Minas Gerais.

Município	Nº amostras	Frequência (%) da Espécie	Frequência (%) dos Fenótipos de esterase
Bom Jesus da Penha	8	25 Me*	I
Cabo Verde	39	49 Me*	I
Guaranésia	13	-	-
Guaxupé	20	1 Me	1% E2
Juruáia	15	26 Me*	I
Monte Belo	9	40 Me	40% E2
Monte Santo de Minas	28	54 Me	12% E1; 42% E2
Muzambinho	16	1 Me	1% E2
São Pedro da União	11	36 Me	18% E1; 19% E2
Coqueiral	3	50 Me; 50 Mp	50% E1; 50% P1
Alpinópolis	3	100 Mp	100% P1
TOTAL	165	-	-

Me: *Meloidogyne exigua*. Mp: *Meloidogyne paranaensis*, Me*: baseado nos sintomas causados por *M. exigua*. E1 e E2: fenótipos de esterase de *M. exigua* com 1 ou 2 bandas, respectivamente. P1: fenótipo de esterase de *M. paranaensis*. I: número insuficiente ou fêmeas inadequadas para a análise de isoenzimas.

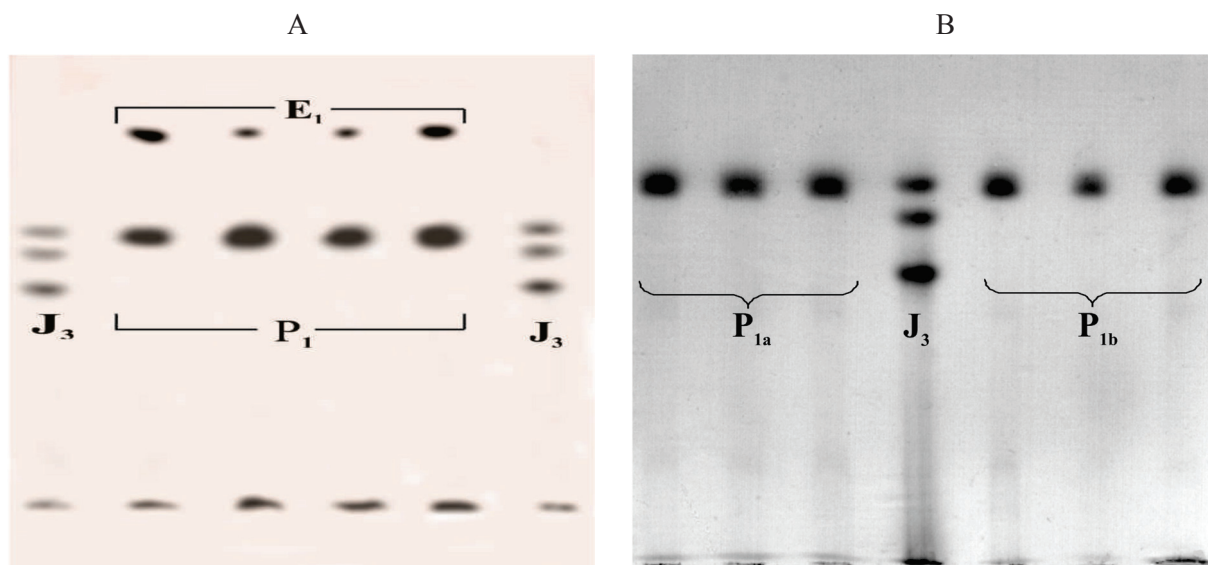


FIGURA 2 - Fenótipos de esterase de *Meloidogyne exigua* (E1) e de *M. paranaensis* (P1) de lavouras dos municípios de Coqueiral (A) e de duas amostras (P1a e P1b) de Alpinópolis (B). J3: Controle *M. javanica*.

No entanto, em 48,6% dessas amostras foi confirmada a espécie *M. exigua* e, no restante, não ocorreu formação de banda no gel de eletroforese. A sintomatologia de galhas típicas de *M. exigua* com fêmeas nas raízes foi observada em algumas amostras dos municípios de Bom Jesus da Penha e Juruáia.

Em lavouras no Espírito Santo, Barros et al. (2014) detectaram por meio dos fenótipos de esterase *M. incognita*, *M. paranaensis* em *Coffee canephora*, e *M. incognita*, *M. exigua* e *M. paranaensis* em *Coffee arabica*.

A ausência de *Meloidogyne* sp. em Guaranésia deve ser analisada, cautelosamente. Uma amostragem mais intensificada na região seria prudente, porque a distribuição dos nematoides em agregados no solo pode levar a um resultado falso negativo. Nesse caso, deve-se considerar que o número de amostras em municípios com baixa infestação deve ser maior que aquele estimado pela fórmula, para assegurar a detecção do nematoide das galhas. De acordo com Herve et al. (2005), um grande número de amostras é necessário para estimar a população com eficácia especialmente para baixos níveis populacionais.

Nesse trabalho, foi possível identificar vários fatores que dificultaram o trabalho minucioso de levantamento de nematoides em áreas cafeeiras. Destacam-se a permissão inicial para adentrar a propriedade e a colaboração do proprietário para percorrer toda a área, visando uma amostragem representativa. A realização dessa amostragem

nem sempre é vista pelo produtor como uma forma de impedir a disseminação de pragas. A simples possibilidade de detectar a presença de nematoides, especialmente numa cultura perene, pode significar para ele a chance de depreciação da propriedade. Outra dificuldade, diz respeito à análise no laboratório. Nem sempre, as fêmeas de *Meloidogyne* spp. nas raízes estão em condições adequadas para o estudo isoenzimático, porque o sistema radicular está em processo de degradação provocada pelos nematoides, ou porque as raízes estão secas, devido ao déficit hídrico. Uma opção seria multiplicar a população em um hospedeiro, por cerca de 50-60 dias, o que demandaria tempo e espaço em casa de vegetação. Outra alternativa é a utilização da técnica de SCAR-Multiplex PCR (CARNEIRO et al., 2005). Ela permite identificar as principais espécies de *Meloidogyne* do cafeeiro, com base nos juvenis obtidos a partir de ovos em câmaras de eclosão, o que elimina o problema das fêmeas fora da fase ideal, mas ressalta-se que é uma técnica ainda de uso reduzido nos laboratórios de rotina. Em amostras de solo e raízes de áreas cafeeiras coletadas por extensionistas da EMATER no estado do Paraná, Krzyzanowsky et al. (2001) observaram a presença de *Meloidogyne paranaensis* e *M. incognita*.

Meloidogyne paranaensis nos municípios de Alpinópolis e Coqueiral ocorreram em focos identificados inicialmente pela condição depauperada das plantas infestadas. Esses focos de infestação caracterizam um modelo agregado de ocorrência desse nematoide na região.

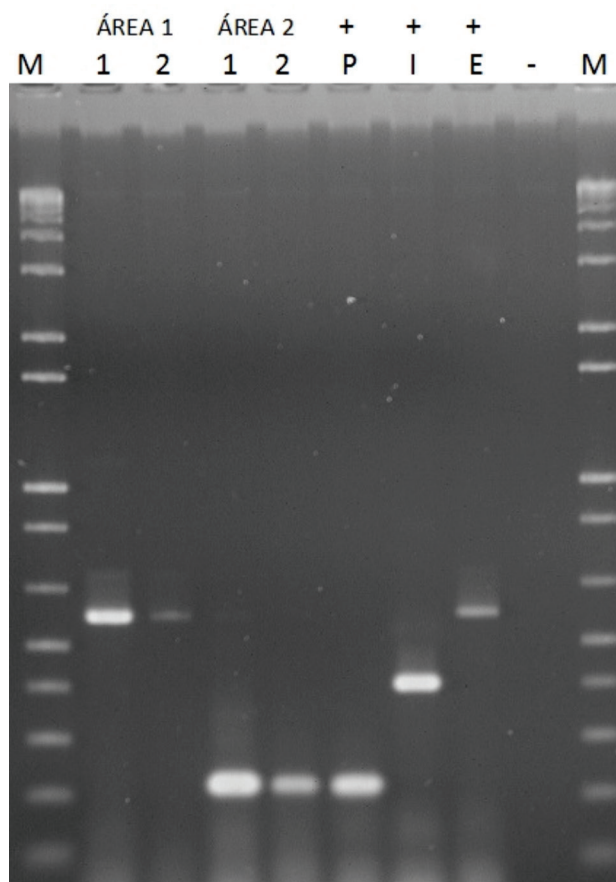


FIGURA 3 - Perfis de amplificação de DNA de *Meloidogyne exigua* (área 1) e *M. paranaensis* (área 2) do município de Coqueiral, utilizando marcadores SCAR-Café específicos para essas espécies. M: marcador de peso molecular; + P: Controle positivo para *M. paranaensis*; +I: Controle positivo para *M. incognita*; +E: Controle positivo para *M. exigua*; -: Controle negativo.

Para estas áreas, recomenda-se que medidas de contenção como a intensificação da fiscalização do trânsito de mudas, de máquinas e de equipamentos nesses municípios, para conter o avanço da área infestada. Além disso, adotar medidas para eliminar esses focos pode evitar o aumento da população do nematoide na lavoura. Isso deve ser acompanhado de estudos para monitorar a disseminação de *M. paranaensis* além de acompanhar a entrada de novas espécies nessa importante área cafeeira do estado de MG. Nesse aspecto, destaca-se a ocorrência de *M. paranaensis* em lavouras do município de Alpinópolis, com risco de disseminação desse nematoide para municípios vizinhos, que são importantes na produção de café na região sul de Minas Gerais.

4 CONCLUSÕES

- *Meloidogyne paranaensis* ocorre em 100% das amostras positivas, para o nematoide das galhas em Alpinópolis e Coqueiral
- *Meloidogyne exigua* ocorre em 92,95% do total de amostras coletadas na região sul de Minas.
- As espécies *M. exigua* e *M. paranaensis* ocorrem em importantes municípios produtores de café na região sul de Minas.

5 AGRADECIMENTOS

À Dra. Regina M. D. G. Carneiro (EMBRAPA-CENARGEN), à FAPEMIG, ao Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café, ao INCT-CAFÉ, CNPq e aos técnicos da EMATER.

6 REFERÊNCIAS

- ADAM, M. A. M.; PHILLIPS, M. S.; BLOK, V. C. Molecular diagnostic key identification of single juveniles of seven common and economically important species of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). **Plant Pathology**, Oxford, v. 56, p. 190-197, 2007.
- BARROS, A. F. et al. Root-knot nematodes, a growing problem for Conilon coffee in Espírito Santo state, Brazil. **Crop Protection**, Guildford, v. 55, p. 74-79, 2014.
- BLOK, V. C.; POWERS, O. Biochemical and molecular identification. In: PERRY, R.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root knot nematodes**. Cambridge: CABI International, 2009. p. 98-118.
- CAMPOS, V. P.; VILLAIN, L. Nematodes parasites of coffee and cocoa. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Ed.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallingford: CAB International, 2005. p. 529-579.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A.; QUÉNÉHERVÉ, P. Enzyme phenotypes of *Meloidogyne* spp. populations. **Nematology**, Leiden, v. 2, p. 645-654, 2000.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. S.; CARNEIRO, R. G. Enzyme phenotypes of Brazilian populations of *Meloidogyne* spp. **Fundamental Applied Nematology**, Ottawa, v. 19, n. 6, p. 555-560, 1996.
- CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiros nos estados de São Paulo e Minas Gerais através dos fenótipos de esterase e SCAR, Multiplex-PCR. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, n. 2, p. 233-241, dez. 2005.
- CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brasil, Central America and Hawaii. **Nematology**, Leiden, v. 6, n. 2, p. 287-298, 2004.
- CASTRO, J. M. C. et al. Levantamento de fitonematóides em cafezais do Sul de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 32, n. 1, p. 56-64, mar. 2008.
- FREITAS, L. G.; NEVES, W. S.; OLIVEIRA, R. D. L. Métodos em nematologia vegetal. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. (Ed.). **Métodos em fitopatologia**. Viçosa, MG: UFV, 2007. p. 253-291.
- HERVE, G. et al. Distribution analyses of *Meloidogyne* spp. and *Pratylenchus coffeae sensu latu* in coffee plots in Costa Rica and Guatemala. **Plant Pathology**, Oxford, v. 54, p. 471-475, 2005.
- HUMPHREYS-PEREIRA, D. A. et al. *Meloidogyne lopezi* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a new root-knot nematode associated with coffee (*Coffea arabica* L.) in Costa Rica, its diagnosis and phylogenetic relationship with other coffee-parasitising *Meloidogyne* species. **Nematology**, Leiden, v. 16, p. 643-661, 2014.
- KRZYŻANOWSKI, A. A. et al. Levantamento de espécies e raças de *Meloidogyne* em cafeeiros no Estado do Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Viçosa, MG. **Resumos Expandidos...** Viçosa, MG: UFV, 2001. p. 1175-1181.
- MORETTIN, P. A.; BUSSAB, W. O. **Estatística básica**. 8. ed. São Paulo: Saraiva, 2014. v. 1, 520 p.
- MUNIZ, M. D. S. et al. Diversity of *Meloidogyne exigua* (Tylenchida; Meloidogynidae) populations from coffee and rubber tree. **Nematology**, Leiden, v. 10, p. 897-910, 2008.
- RANDING, O. et al. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development of SCAR markers specific for the coffee damaging species. **Genome**, Ontario, v. 45, p. 862-870, 2002.
- ROSSO, M. N. et al. Proteins secreted by root-knot nematodes accumulate in the extracellular compartment during root infection. **Plant Signaling & Behavior**, Edinburgh, v. 6, p. 1232-1234, 2011.
- VILLAIN, L. et al. Diversity of root-knot nematodes associated with coffee orchards in Central America. **Nematropica**, Bradenton, v. 43, p. 194-206, 2013.