

TAMANHOS MÍNIMOS AMOSTRAIS PARA DETECTAR A PRESENÇA DE NEMATÓIDES EM VIVEIROS DE PRODUÇÃO DE MUDAS DE CAFÉ

Joel Augusto MUNIZ¹
Renato Ribeiro de LIMA¹
Daniel Furtado FERREIRA¹
Leidiane Aparecida Ferreira QUEIROZ²
José Maurício PEREIRA²

- RESUMO: A Instrução Normativa nº35/2012, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, prevê a amostragem de mudas de cafeeiro, para verificação de raízes defeituosas e detecção de *Meloidogyne* spp. A amostragem é realizada aplicando-se a divisão do viveiro em parcelas de, no máximo, 200.000 mudas de uma mesma cultivar e subdivisão de cada parcela em quatro subparcelas. Este trabalho teve por objetivo avaliar a necessidade de realizar a amostragem considerando suparcelas conforme preconizado na Instrução Normativa, buscando diminuir o custo de produção de pequenos produtores, sem prejuízo às medidas sanitárias. Para isso foram calculadas estimativas estatísticas, baseadas em estudo de probabilidade, considerando a distribuição de Poisson para a variável aleatória X que expressa a quantidade de nematóides por muda de café na fase de viveiro, tomando como base os dados reais de cinco anos, de todos viveiros de mudas de cafeeiro do estado de Minas Gerais, Brasil. Foi concluído que pode ser dispensada a subdivisão em subparcelas, quando o número total de mudas de um mesmo cultivar não ultrapassar 50.000, sem perda de precisão na detecção do patógeno.
- PALAVRAS-CHAVE: Amostragem; viveiros de mudas; *Meloidogyne* spp.; *Coffea* spp.

1 Introdução

A produção brasileira de café em 2018 foi de 61,7 milhões de sacas beneficiada, considerada uma safra recorde (CONAB, 2019). O Brasil é o maior produtor e exportador

¹Universidade Federal de Lavras - UFLA, Departamento de Estatística, CEP: 37.200-000, Lavras, MG, Brazil. E-mail: joamuniz@ufla.br; rrlima@ufla.br; danieljf@ufla.br

²Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Unidade Técnica Regional de Agricultura, Pecuária e Abastecimento em Lavras - Cx. Postal 193, CEP: 37.200-000, Lavras, MG, Brasil. E-mail: leidiane.queiroz@agricultura.gov.br; jose.mpereira@agricultura.gov.br

mundial de café, tendo exportado em 2018 cerca de 36 milhões de sacas, que trouxeram uma receita de 5,2 bilhões de dólares para o país (CECAFÉ, 2019), valores estes expressivos para o agronegócio brasileiro. Pela importância econômica e social da cultura do café é relevante que se tenha o máximo de conhecimento sobre os fatores que contribuem para o aumento da produção e da produtividade.

Entre os fatores que afetam a produção de café, destaca-se o ataque de fitonematóides, que são patógenos responsáveis por danos à cultura, podendo reduzir a produtividade em até 20% (SILVA et al., 2006). Os nematóides das galhas, *Meloidogyne* spp., ocorrem em diversas regiões produtoras de café no Brasil, constituindo-se em ameaça à produtividade das lavouras, representando os nematóides parasitas de plantas de café mais importantes economicamente (SALGADO et al., 2015; SANTOS et al., 2017). Há uma grande diversidade de nematóides formadores de galhas que parasitam café. Em estudos na América Central foram observados onze fenótipos e identificadas nove espécies (VILLAIN et al., 2013). Salgado et al. (2015) informam que dezoito espécies de *Meloidogyne* estão associadas ao café. Além da diversidade de espécies, há diferença na patogenicidade de espécies de nematóides a diferentes cultivares de café (GONÇALVES et al., 1996).

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 nematóides das galhas mais agressivas ao café, com *M. paranaensis*. O patógeno é um dos nematóides de galhas mais prejudiciais ao café por reduzir drasticamente o sistema radicular e conseqüentemente o desenvolvimento vegetativo e a produtividade das plantas. Esses danos causados pelo patógeno são decorrentes das perdas indiretas, como a deficiência na absorção de nutrientes, potencializados por danos provocados pelo déficit hídrico decorrentes das mudanças climáticas (CARVALHO, 2017).

Salgado et al. (2015) sugerem a necessidade da adoção de medidas de contenção da doença na região, como intensificação da fiscalização do trânsito de mudas, de máquinas e de equipamentos. A muda de café é um dos principais meios de disseminação de nematóides, o que representa grave problema para a cultura do país (MÜLLER; MIGLIORANZA; FONSECA, 1997). A produção de mudas de café saudáveis, vigorosas e livres de nematóides é de fundamental importância para o estabelecimento de um cafezal produtivo e de boa longevidade, pois, sendo o café uma planta perene, qualquer erro cometido na implantação pode inviabilizar o sucesso do empreendimento ao longo dos anos.

A Instrução Normativa nº 35, de 29 de novembro de 2012 (BRASIL, 2012), que estabelece as normas para a produção e comercialização de material de propagação de café (*Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner), rege sobre a amostragem de mudas de café para detecção de raízes defeituosas e presença de *Meloidogyne* spp. Alguns trabalhos foram encontrados na literatura em que se destacam-se os aspectos dos tamanhos amostrais necessários em diversos contextos (ESCOBAR et al., 2018; MORAIS et al., 2018; PEREIRA; MERGULHÃO, 2019). Para o presente estudo, a amostragem ocorre quando as mudas tiverem, no mínimo, dois pares de folhas, adotando-se a seguinte metodologia:

I - O viveiro é dividido em parcelas de, no máximo, 200.000 (duzentas mil) mudas de

uma mesma cultivar;

II - cada parcela será subdividida em 4 (quatro) subparcelas; e

III - a amostragem será realizada em cada subparcela, individualmente, retirando-se um mínimo de 0,1% (zero vírgula um por cento) do total das mudas, mas nunca inferior a 30 (trinta) mudas, que constituirão a amostra a ser analisada.

Buscando dar uma opção ao pequeno produtor de mudas de cafeeiro e visando diminuir o custo de produção, sem prejuízo às medidas sanitárias, o objetivo deste trabalho foi verificar estatisticamente se a subdivisão em subparcelas, prevista no item II do artigo 30 da IN N^o35, pode ser dispensada, quando o número total de mudas de um mesmo cultivar não ultrapassar 50.000 (cinquenta mil) mudas.

2 Material e métodos

Foi considerado que a variável aleatória X representa a quantidade de nematóides por (raiz de) muda. De acordo com as informações técnicas da área, a terra usada na formação das mudas é coletada e homogeneizada, antes da preparação dos canteiros. Assim, acredita-se que se houver presença de nematóides, eles serão distribuídos de forma aleatória para as mudas nos canteiros, parcelas e subparcelas. Assim, pode-se assumir que $X \sim \text{Poisson}(\lambda)$, ou seja, a variável aleatória X possui distribuição Poisson com parâmetro $\lambda > 0$ (DeGROOT; SCHERVISH, 2011; FLORESCU; TUDOR, 2014; BLITZSTEIN; HWANG, 2015; ROHATGI; SALEH, 2015). O parâmetro λ é o número médio de nematóides por (raiz da) planta, sendo desconhecido.

De acordo com os procedimentos técnicos que são adotados, nas subparcelas são realizadas amostragens de n plantas, que variam de 30 (mínimo estabelecido pela Instrução Normativa (IN)) até o máximo de 50, correspondente a 0,1% de 50.000, que é o tamanho máximo da subparcela, também estabelecido pela IN. Assim, foi considerado que a variável aleatória Y representa o número de plantas entre as n amostradas que possuam ao menos 1 nematóide. Esta variável aleatória possui distribuição binomial (n, θ) (ROHATGI; SALEH, 2015), em que n é o tamanho da amostra e $0 < \theta < 1$ é a probabilidade de sucesso, ou seja, a probabilidade de a planta amostrada ter ao menos 1 nematóide.

As plantas amostradas têm suas raízes retiradas, processadas e formam uma única amostra composta, que irá para o laboratório para ser analisada por inspeção. A presença de um único nematóide adulto invalida o lote de mudas da subparcela da qual ele foi amostrado. Assim, a probabilidade do lote de mudas da subparcela ser rejeitado é $P(Y \geq 1)$.

Então, se estes dois casos forem reunidos, tem-se o seguinte desenvolvimento teórico, dado que os parâmetros λ e θ são desconhecidos. Inicialmente, supondo que não há nematóide no solo, então $\lambda = 0$, $\theta = 0$ e $P(Y \geq 1) = 0$, é uma solução trivial, qualquer que seja $30 \leq n \leq 50$. Neste caso, trivial, qualquer valor de n dentro das normas técnicas é suficiente para atender a IN. No caso em que $\lambda > 0$, ou seja, na presença de nematóides, tem que se expressar o valor de θ em função de λ . Assim, θ refere-se a probabilidade de

sucesso, ou seja, a probabilidade de uma planta amostrada apresentar nematóides, ou seja, $P(X \geq 1)$. Portanto,

$$\theta = P(X \geq 1) = 1 - P(X = 0) = 1 - \frac{e^{-\lambda} \lambda^0}{0!} = 1 - \frac{e^{-\lambda} \times 1}{1},$$

resultando em

$$\theta = 1 - e^{-\lambda}. \quad (1)$$

Alternativamente, tem-se que

$$\lambda = -\ln\{1 - \theta\}. \quad (2)$$

A probabilidade do lote da subparcela ser rejeitado depende de a análise laboratorial identificar ao menos um nematóide na amostra composta, que corresponde a $P(Y \geq 1)$. Essa probabilidade é

$$P(Y \geq 1) = 1 - P(Y = 0) = 1 - \binom{n}{0} \theta^0 (1 - \theta)^{n-0},$$

que resulta em

$$P(Y \geq 1) = 1 - (1 - \theta)^n = 1 - e^{-n\lambda}. \quad (3)$$

Para garantir que uma confiança de ao menos $\delta = 1 - \alpha$ seja atingida, fixados λ e θ , deve-se flexibilizar o tamanho da amostra. Assim, em outras palavras, deve-se determinar o tamanho mínimo de amostra n , dados λ e θ fixados, para se atingir uma confiança mínima de $\delta = 1 - \alpha$, diga-se, 95%, por exemplo. Logo, $P(Y \geq 1) \geq \delta$. Assim,

$$\begin{aligned} 1 - (1 - \theta)^n &\geq \delta \\ (1 - \theta)^n &\leq 1 - \delta \\ \ln\{(1 - \theta)^n\} &\leq \ln(1 - \delta) \\ n \ln(1 - \theta) &\leq \ln(1 - \delta), \end{aligned}$$

que resulta em

$$n \geq \frac{\ln(1 - \delta)}{\ln(1 - \theta)} \quad (4)$$

ou alternativamente em

$$n \geq -\frac{\ln(1 - \delta)}{\lambda}. \quad (5)$$

A definição apresentada em (5) foi utilizada para se fazer a inferência necessária, na determinação dos tamanhos mínimos amostrais, fixados valores da confiança em um nível aceito cientificamente, que deve ser maior que 90% (MOOD; GRAYBILL; BOES, 1974). Vários cenários foram considerados e os resultados discutidos, tendo como referência a instrução normativa vigente. Para facilitar os procedimentos, uma procedimento R (R Core Team, 2018) foi utilizado e apresentado na próxima subseção. Além disso, dados reais de cinco anos (2012 a 2016) de avaliação foram utilizados. Os resultados dos últimos cinco anos estão apresentados na Tabela 1. Em um total de 2.752 viveiros ocorreram 9 detecções, ou seja, 9 viveiros contaminados.

2.1 Programa R Auxiliar

O programa a seguir, implementado em R, pode ser utilizado para estimar as quantidades relatadas anteriormente. Neste caso, y , referem-se ao número de sucessos observados em N viveiros. Assim, dados δ e θ , pode-se utilizar o *script* R para se obter o valor mínimo de n com a confiança δ requerida.

```
options(digits = 14)
y <- 9
N <- 2752
ph <- y/N
n <- 30
thetah<-1-exp(log(1-ph)/n) # eq (1) e (7)
lambh<- -log(1-thetah)
ph      #Proporção de viveiros detectados P(Y>=1)
thetah #Probabilidade de 1 planta ter
        #ao menos 1 nematóide
lambh   #média de nematóides por planta

# Tamanho amostral
delta <- 0.95
theta <- 0.05
n <- log(1-delta)/log(1-theta)
n # Tamanho amostral mínimo com confiança delta
```

3 Resultados e discussão

Na Figura 1 foram plotados os valores mínimos necessários de n para se identificar positivamente o nematóide na amostra combinada com 90% e 95% de confiança. Foi dada ênfase em representar os valores de n praticados, entre 30 e 50. Assim, percebe-se que com 95% de confiança os valores de θ estão entre um pouco menos de 6% e um pouco mais de 9,5%. Portanto, detecta-se facilmente, com estes tamanhos praticados, incidências maiores que ao menos 6%. Observa-se que quanto maior o valor de θ , que é a probabilidade de uma muda apresentar nematóides, menores são os tamanhos de amostras. Assim, se considerarmos uma probabilidade de sucesso θ de 5%, os tamanhos amostrais praticados entre 30 e 50 pelo IN 35 parecem bem satisfatórios, considerando 95% de confiança para a detecção das amostras combinadas positivas. Se reduzirmos a confiança para 90%, os valores praticados para os tamanhos amostrais são suficientes para detectar incidências entre aproximadamente 4,5% e 7,3%, sendo que valores acima de 7,3% terão obviamente confiança maior que a nominal e valores de θ menores do que 4,5%, terão confiança menor do que 90%.

Portanto, também é necessário se responder ao questionamento se seria viável tecnicamente dispensar a subdivisão em subparcelas quando o número total de mudas da mesma cultivar não ultrapassar 50.000 (cinquenta mil) mudas. Acredita-se que isso é possível, pois ao se praticar as mesmas condições gerais, se estaria sob as mesmas margens

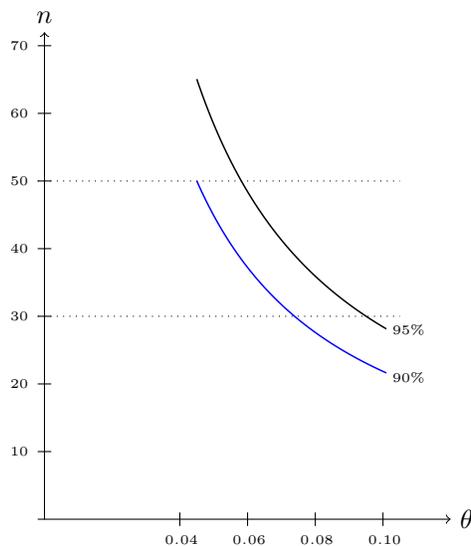


Figura 1 - Tamanhos de amostras mínimos necessários para se atingir 90% de confiança de detectar a presença de nematóides em função de θ (em azul) e de 95% (em preto).

de confiança discutidas anteriormente para cada subparcela de uma mesma cultivar. Além do mais, acredita-se que o procedimento de dispensa poderia ser estendido parcialmente para situações que o número total não atingisse 200.000. Logo, para cada condição de múltiplos de 50.000 (cinquenta mil) mudas se formaria uma subparcela, limitado ao máximo de 200.000, situação esta que geraria as 4 subparcelas de 50.000 estabelecidas no IN 35. Não obstante, a decisão de subdividir ou não ficaria a cargo do produtor de mudas, uma vez que a subdivisão em subparcelas é uma forma de o proteger, por não se descartar todo o seu viveiro em caso de detecção de nematóides.

3.1 Estimação

Os resultados reais das avaliações de 5 anos no período de 2012 a 2016 estão apresentados na Tabela 1. Em um total de 2.752 amostras/viveiros ocorreram 9 detecções.

Com base em resultados experimentais deste período de 5 anos, tem-se em média 1,8 ocorrências (produtores de mudas) por ano em uma média de 550,4 viveiros/ano analisados. Considerando que \hat{p} é um estimador da probabilidade de detecção real de uma amostra combinada positiva, ou seja, é uma estimativa de $P(Y \geq 1)$, supondo que θ é constante entre viveiros, então para este caso temos a seguinte estimativa $\hat{p} = 1,8/550,4 = 0,00327$. Se considerarmos que foi utilizada a situação mais conservativa na maioria destas análises, ou seja, com amostra combinada (*bulk*) com $n = 30$, podemos estimar θ . Logo, um

Tabela 1 - Ocorrência de nematóides em viveiros de Minas Gerais no período de 2012 a 2016

Safra	Número de Viveiros	Viveiros Contaminados
2012	764	0
2013	505	0
2014	421	1
2015	530	3
2016	532	5
Total	2752	9

Fonte: Unidade Técnica Regional de Agricultura, Pecuária e Abastecimento/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Lavras, MG, 2018.

estimador de θ é dado por

$$\begin{aligned}\hat{p} &= 1 - (1 - \hat{\theta})^n \\ (1 - \hat{\theta})^n &= 1 - \hat{p} \\ n \ln(1 - \hat{\theta}) &= \ln(1 - \hat{p}) \\ 1 - \hat{\theta} &= e^{[\ln(1 - \hat{p})]/n}\end{aligned}$$

que resulta em

$$\hat{\theta} = 1 - e^{[\ln(1 - \hat{p})]/n}. \quad (6)$$

Para este caso, considerando $n = 30$, tem-se

$$\hat{\theta} = 1,0918430948037 \times 10^{-4},$$

que é uma taxa muito pequena de incidência de nematóides nos viveiros de produção de mudas de cafeeiro no período considerado em Minas Gerais.

O parâmetro λ , da distribuição latente Poisson, é estimado, a partir de (2), por

$$\hat{\lambda} = -\ln(1 - \hat{\theta}) = -\ln\left(1 - e^{[\ln(1 - \hat{p})]/n}\right). \quad (7)$$

A estimativa de λ , usando (7), é

$$\hat{\lambda} = 1,0919027052099 \times 10^{-4}.$$

É possível observar que com estas estimativas, os tamanhos amostrais mínimos seriam proibitivos, mesmo com uma confiança reduzida de 80%. Porém não se tem consequência grave em relação a isso, uma vez que a probabilidade de que uma planta contenha ao menos um nematóide é de apenas 0,011%, com média de 0,00011 nematóides/planta. A não detecção de um resultado positivo nestas condições com os tamanhos máximos de $n = 50$ unidades por amostra de cada subparcela não é preocupante.

Outro fato que deve ser observado é que se a taxa real estiver em torno de 4%, o poder de detecção de nematóides é de no mínimo 95% de confiança. Ademais, para este processo de estimação se supõe que θ seja constante para todos os viveiros, o que não é verdade. Assim, a maioria dos viveiros nos dados da Tabela 1 terá θ nulo e os que foram detectados terá θ , potencialmente, superiores a 4%, o que os tornariam prontamente detectáveis com os tamanhos de amostras praticados entre 30 e 50. Por exemplo, se $\theta = 10\%$, com 95%, o valor de n mínimo necessário é de 28, o que corrobora a informação apresentada.

Devemos salientar que o poder de detecção igual ou superior a 90% ocorre, tanto na metodologia proposta quanto na original igualmente e que a subdivisão não altera esta probabilidade. Ademais, estes resultados só ocorrem para os tamanhos amostrais praticados em ambos os métodos quando as taxas forem iguais ou superiores ao valor mencionado de 4%. Para taxas inferiores a 4%, o poder é menor que os dos cenários e exemplo real considerados. As expressões deste trabalho permitem que sejam determinados os valores de poder para qualquer caso que seja do interesse do leitor, como também é possível dimensionar a amostra além dos limites da IN 35 de 2012, fixados os valores de confiança de interesse.

4 Conclusões

A dispensa de subdivisão em subparcelas, quando o número total de mudas de um mesmo cultivar não ultrapassar 50.000 (cinquenta mil), pode ser realizada, haja vista que isso não acarreta perda de precisão, podendo ser facultado ao produtor de mudas a possibilidade de decidir se irá optar ou não por se submeter às subdivisões em parcelas menores. Também foi recomendada a possibilidade de se estender a subdivisão em blocos de 50.000 para aqueles casos que tenham menos de 200.000 mudas, alternativamente ao que é praticado de se tomar 4 subparcelas com menos de 50.000. Os resultados mostram que não há perdas de precisão em relação ao que já se vem praticando atualmente na IN 35 de 2012.

Agradecimentos

Aos revisores e editores pelos comentários e sugestões.

MUNIZ, J.A.; LIMA, R. R.; FERREIRA, D. F.; QUEIROZ, L. A. F.; PEREIRA, J. M. Minimum sample sizes to detect the presence of nematodes in coffee seedling nurseries. *Rev. Bras. Biom.*, Lavras, v.37, n.3, p.409-418, 2019.

■ **ABSTRACT:** *The Normative Instruction nº 35/2012, of the Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, from Brazil, provides for the sampling in nurseries of coffee seedlings production, for verification of defective roots and detection of Meloidogyne spp. Sampling is performed by dividing the nursery into plots of a maximum of 200,000 seedlings of the same cultivar and subdividing each plot into four subplots. The objective of this work was to evaluate the need to carry out the sampling considering subplots as recommended in the Normative Instruction, seeking to reduce the production cost of the small producers, without prejudice to sanitary measures. For this purpose statistical estimates were calculated based on a probability study, considering the Poisson distribution for the random variable X, which expresses the amount of nematodes per coffee seedling in the nursery phase, based on the actual data of five years of all coffee seedlings nurseries of Minas Gerais State. It was concluded that subdivision into subplots may be dispensed when the total number of seedlings of the same cultivar does not exceed 50,000, without loss of accuracy in the detection of the pathogen.*

■ **KEYWORDS:** *Sampling; seedlings nurseries; Meloidogyne spp.; Coffea spp.*

Referências

BLITZSTEIN, J. K.; HWANG, J. *Introduction to probability*. Boca Raton: Chapman & Hall, 2015. 570 p.

BRASIL. *Instrução Normativa nº 35*. de 29 de novembro de 2012, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília: Diário Oficial da União, Seção 1, 3 de dezembro, 2012.

CARVALHO, A. M. Caracterização de genótipos de *Coffea arabica* l. em área infestada pelo nematoide *Meloidogyne paranaensis*. *Coffee Science*, v. 12, n. 1, p. 1–8, 2017.

CECAFÉ. *Conselho dos Exportadores de Café*. Resumo das exportações de café, 2019. Resumo das exportações de café, 2019. (Accessed: ago. 28, 2019). Disponível em: <http://www.cecafe.com.br/>.

CONAB. *Companhia Nacional de Abastecimento*. Acompanhamento da Safra Brasileira de Café: Safra 2019 segundo levantamento, 2019. (Accessed: ago. 28, 2019). Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/cafe/boletim-da-safra-de-cafe-2019>.

DeGROOT, M. H.; SCHERVISH, M. J. *Probability and statistics*. 4. ed. Boston: Addison-Wesley, 2011. 893 p.

ESCOBAR, J. A. D. et al. Teoria de valores extremos e tamanho amostral para o melhoramento genético do quantil máximo em plantas. *Revista Brasileira de Biometria*, v. 36, n. 1, p. 108–127, 2018.

- FLORESCU, I.; TUDOR, C. A. *Handbook of probability*. Hoboken: Wiley, 2014. 449 p.
- GONÇALVES, W. et al. Patogenicidade de *Meloidogyne exigua* e *M. incognita* raça 1 a mudas de cafeeiros. *Bragantia*, v. 11, n. 1, p. 88–93, 1996.
- MOOD, A. M.; GRAYBILL, F. A.; BOES, D. C. *Introduction to the theory of statistics*. 3. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1974. 480 p.
- MORAIS, A. R. et al. Models for estimating plot size in experiments. *Revista Brasileira de Biometria*, v. 36, n. 2, p. 258–275, 2018.
- MÜLLER, M. M.; MIGLIORANZA, E.; FONSECA, E. P. Produção de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* l.) cv. Mundo Novo em tubetes. *Revista UNIMAR*, v. 19, n. 3, p. 777–786, 1997.
- PEREIRA, J. C.; MERGULHÃO, R. C. Algoritmo para minimização do tamanho de amostra em planos de inspeção por amostragem por atributo. *Revista Brasileira de Biometria*, v. 37, n. 1, p. 56–65, 2019.
- R Core Team. *R: a language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria, 2018. Disponível em: (<https://www.R-project.org/>).
- ROHATGI, V. K.; SALEH, A. K. M. E. *An introduction to probability and statistics*. 3. ed. Hoboken: John Wiley, 2015. 689 p.
- SALGADO, S. M. L. et al. *Meloidogyne paranaensis* e *Meloidogyne exigua* em lavouras cafeeiras na região sul de Minas Gerais. *Coffee Science*, v. 10, n. 4, p. 475–481, 2015.
- SANTOS, M. F. A. et al. Genetic variability of *Meloidogyne paranaensis* populations and their aggressiveness to susceptible coffee genotypes. *Plant Pathology*, v. 67, n. 1, p. 193–201, 2017.
- SILVA, R. V. et al. Otimização da produção de inóculo de *Meloidogyne exigua* em mudas de cafeeiro. *Nematologia Brasileira*, v. 30, n. 3, p. 229–238, 2006.
- VILLAIN, L. et al. Diversity of root-knot nematodes parasiting coffee in Central America. *Nematropica*, v. 43, n. 2, p. 194–205, 2013.

Recebido em 04.12.2018.

Aprovado após revisão em 11.07.2019.