

POTENCIAL DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *Meloidogyne paranaensis* UTILIZANDO FUNGOS NEMATÓFAGOS E FUNGOS MICORRÍZICOS EM PLANTAS DE CAFÉ¹.

Alaide Aparecida Krzyzanowski²; Elcio Libório Balota²; Tatiana Marianowski³; Santino Alexandro Silva⁴; Orazilia França Dorigo⁵, Cristiane Gonçalves Gardiano⁶

¹Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café e com o apoio do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR).

²Pesquisadora, Dr., IAPAR, Londrina-PR, alaidekrzyza@iapar.br

²Pesquisador, Dr., IAPAR, Londrina-PR, balota@iapar.br

³Bolsista do Consórcio Café, M.Sc., IAPAR, Londrina-PR, tatyquimicauel@yahoo.com.br

⁴Agente de Ciência e Tecnologia, IAPAR, Londrina-PR, santino@iapar.br

⁵Agente de Ciência e Tecnologia, IAPAR, Londrina-PR, orazilia@iapar.br

⁶Aluna de Pós-graduação, UEL, Londrina-PR, cris_gardiano@yahoo.com.br

RESUMO: A cafeicultura paranaense encontra nos nematóides um dos principais fatores limitantes no processo produtivo da cultura. Tais patógenos afetam drasticamente o sistema radicular das plantas de café, causando rachaduras, galhas, necroses, impedindo a absorção de água e nutrientes pela planta, culminando com a diminuição da produção, podendo levá-las à morte. As espécies mais importantes são: *Meloidogyne paranaensis*, *M. incognita*, *M. exigua* e *M. coffeicola*. O manejo dos nematóides em plantas perenes, como o cafeeiro, é bastante difícil. Nesse sentido o controle biológico tem potencial para tornar-se um dos mecanismos mais efetivos de controle das espécies perenes de interesse econômico, como o café. Com este trabalho, buscou-se obter informações quanto ao uso dos fungos nematófagos (FN) *Arthrobotrys oligospora*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Trichoderma* sp. e dos fungos micorrízicos (FM) *Gigaspora margarita* e *Glomus clarum*, no controle de *M. paranaensis*, sob condições de casa-de-vegetação. Para tal, mudas de café foram inoculadas com 200 g de esporos (FM + FN) e 5000 ovos e/ou juvenis de *M. paranaensis*. Foram avaliadas as interações fungos nematófagos-nematoide, micorriza-nematoide-planta-nutrição-crescimento, além de diferentes substratos inoculantes para aplicação dos fungos nematófagos. Os dados evidenciaram que os fungos nematófagos têm potencial como agentes do controle biológico de nematóides em cafeeiro, sendo o melhor resultado para o material IPR 100 com o uso do FN na dosagem de 75 g, acrescido da micorriza *G. clarum*, não havendo diferença quando a dose foi dobrada (150 g) do FN com a mesma micorriza. Quando utilizou-se a micorriza *G. margarita*, também houve um controle para os materiais de café (Catuaí, Mundo Novo, IAPAR 59 e IPR 100) em comparação com as testemunhas, confirmando que 75g do FN foi a dose adequada.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, manejo ecológico, micorriza, *Meloidogyne paranaensis*.

POTENTIAL BIOLOGICAL CONTROL OF *Meloidogyne paranaensis* USING ANTAGONISTIC FUNGI AND MYCHORRIZICAL FUNGI ON COFFEE PLANTS.

ABSTRACT: Coffee crop in Paraná state has the nematodes as one of the main limiting factors in its yield process. These pathogens affect drastically the root system of coffee plants, causing cracks, galls, necrosis, blocking water and nutrients absorption, decreasing the productivity and leading the plants to die. The main species are *M. paranaensis*, *M. incognita*, *M. exigua*, and *M. coffeicola*. Nematode management on perennial plants, such as coffee, is very difficult. In this way, biological control has the potential to become one of the more effective tools in the control of economic important species, like coffee. With this work, we intend to obtain information about the use of the nematode antagonistic fungi (NAF) *Arthrobotrys oligospora*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus*, and *Trichoderma* sp. and the mychorrizical fungi (MF) *Gigaspora margarita* and *Glomus clarum* on *M. paranaensis* control, under greenhouse conditions. For this, coffee seedlings were inoculated with 200 g of spores (MF + NAF) and 5,000 eggs and/or juveniles of *M. paranaensis*. Interactions evaluated were antagonistic fungi-nematode, mychorrizae-nematode-plant-nutrition-growth and different substrates for inoculation of the antagonistic fungi. Data showed that antagonistic fungi have the potential as biological control agents on coffee plants, with the best result for the IPR 100 material with the use of NAF at the dosage of 75 g plus the *G. clarum*, and no differences were observed when the dosage of NAF and the same MF was doubled (150 g). When the MF used was *G. margarita*, there was also observed nematode control for the coffee materials (Catuaí, Mundo Novo, IAPAR 59 and IPR 100) in comparison with the controls, confirming that the dosage adequate was 75 g.

Key words: *Coffea arabica*, ecological management, mychorrhizae, *Meloidogyne paranaensis*.

INTRODUÇÃO

A cafeicultura paranaense encontra nos nematoides um dos principais fatores limitantes no processo produtivo da cultura. Tais patógenos afetam drasticamente o sistema radicular das plantas causando rachaduras nas raízes, galhas, necroses, impedindo a absorção de água e nutrientes pela planta, culminando com a diminuição da produção, podendo levá-las à morte. As espécies mais importantes na cultura do café são: *Meloidogyne paranaensis* (Carneiro *et. al.*, 1996) *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood, 1949, *M. exigua* Goeldi, 1887 e *M. coffeicola* Lordello & Zamith, 1960. Essas infestações podem impedir a instalação de novas lavouras, bem como a condução das já existentes. O manejo desses nematoides em culturas perenes, como o café, é bastante difícil. Com a finalidade de diminuir as perdas, o impacto econômico e ecológico, nos últimos anos, a utilização do manejo integrado dos fitonematoides vem explorando a combinação de várias medidas de controle. Nesse sentido, há um notável interesse no estudo de alternativas de controle, sendo o controle biológico uma das mais promissoras. Pesquisas na área de controle biológico têm mostrado a eficácia e a habilidade dos fungos nematófagos para colonizar a rizosfera, o que tem sido apontado como uma característica importante no biocontrole de nematoides (Dalla-Pria, 1992; Dias, 1992; Ribeiro *et.al.*, 1999, Maia *et. al.*, 2001; Krzyzanowski *et. al.*, 2006). Com este trabalho buscamos obter informações quanto ao uso dos fungos nematófagos *Arthrobotrys oligospora*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Trichoderma* sp. e dos fungos micorrízicos *Gigaspora margarita*, *Glomus clarum*, no controle de *M. paranaensis*, sob condições de casa-de-vegetação. Para tal, mudas de café foram inoculadas com 200 g de esporos (FM + FN) e 5000 ovos e/ou juvenis de *M. paranaensis*. Foram avaliadas as interações fungos nematófagos-nematoide, micorriza-nematoide-planta-nutrição-crescimento, além de diferentes substratos inoculantes para aplicação dos fungos nematófagos. Portanto os objetivos específicos foram avaliar: a) a mistura dos diferentes substratos (palha de café + farelo de arroz) como inoculante para aplicação dos fungos nematófagos; b) avaliar o comportamento das mudas de café micorrizadas quanto ao crescimento e nutrição; e c) quantificar o uso dos fungos nematófagos no controle de *M. paranaensis*.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Estação Experimental do IAPAR, em Londrina-PR, de agosto de 2008 a junho de 2009. Para tanto o substrato de uma mistura de solo com esterco bovino (1:3) foi fumigado, deixado em repouso por quinze dias e, após, foi elaborada a instalação do experimento, utilizando vasos de barro de 4,0 L de capacidade.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados, tendo os seguintes tratamentos: 1 - Controle (sem inoculação); 2 - Testemunha, com nematóide; 3 - Fungo nematófago (FN) (75 g) + nematóide; 4 - FN (150 g) + nematóide; 5 - *G. clarum* + nematóide; 6 - *G. margarita* + nematóide; 7 - *G. clarum* + FN (75 g) + nematóide; 8 - *G. clarum* + FN (150 g) + nematóide; 9 - *G. margarita* + FN (75 g) + nematóide; 10 - *G. margarita* + FN (150 g) + nematóide. Foram utilizados 4 cultivares de cafeeiro: Catuaí, IPR 100, IAPAR 59 e Mundo Novo, com 10 repetições, perfazendo 400 vasos. As mudas de café foram desenvolvidas em bandejas com *Plantmax*, tendo sido adubadas com *Osmocot*.

A inoculação dos fungos micorrízicos foi efetuada no momento do transplante das mudas para os vasos, colocando-se em torno de 200 esporos na região das raízes. Estes esporos foram obtidos na Coleção de Espécies de FMA mantida no IAPAR. A inoculação dos nematoides foi feita 40 dias após as inoculações com as micorrizas, inoculando-se 5000 ovos/juvenis de *M. paranaensis*. A inoculação dos fungos nematófagos (MIX) foi feita, trinta dias após a inoculação dos nematoides.

O preparo do substrato dos fungos nematófagos foi realizado em partes iguais de palha de café e de resíduo de arroz, autoclavados por 1h (2 dias consecutivos). As repicagens nos substratos feitas a partir de culturas puras dos inoculos de 8 cm de diâmetro, utilizando os seguintes fungos nematófagos: *A. oligospora*, *A. musiformis*, *P. lilacinus* e *Thichoderma* sp. A aplicação do MIX foi feita em duas concentrações: 75g e 150g incorporadas, em cada tratamento. As avaliações foram realizadas em torno de 100 a 200 dias após inoculação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos quando foi acrescido o MIX (fungos nematófagos) mostraram redução populacional do nematoide nos materiais de café Catuaí, Mundo Novo, IAPAR 59 e IPR 100. Para o IPR 100 com a maior dose (FN 150 g), houve maior redução populacional dos nematoides, mas também houve redução com 75 g do MIX para os demais materiais.

Em relação às mudas de café micorrizadas com *G. clarum* e inoculadas com 75 e 150g do MIX, não foi observada diferença estatística na redução populacional para o material IPR 100, sendo a menor dosagem a mais indicada. Resultado semelhante foi observado nas inoculações das mudas de café com a micorriza *G. margarita* com a menor dosagem (75g do MIX).

O fator de reprodução (FR) obtido nas avaliações com a inoculação de 5000 ovos/juvenis de *M. paranaensis* em todos os materiais de café testados, micorrizados (200 g de esporos), e acrescidos do MIX (FN) estão detalhados na Tabela 1 e Figura 1.

Cultivares	Testemunha	<i>G. Clarum</i>	<i>G. Margarita</i>	FN 75 g	FN 150 g	<i>G. Clarum</i> + FN 75g	<i>G. Clarum</i> + FN 150g	<i>G. Marg</i> + FN 75 g	<i>G. Marg</i> + FN 150 g
IPR 100	0,54	1,32	0,78	0,64	0,32	0,02	0,02	0,24	0,36
Catuaí	15,09	9,26	12,12	4,36	4,99	7,91	4,7	1,74	3,75
M. Novo	8,82	4,4	7,6	5,28	8,06	7,96	8,08	4,19	7,16
IAPAR 59	7,45	5,95	10,61	4,87	5,74	5,72	9,16	4,66	8,22

Tabela 1. Fator de reprodução (FR) de *Meloidogyne paranaensis* em plantas de café micorrizadas e inoculadas com fungos nematófagos.

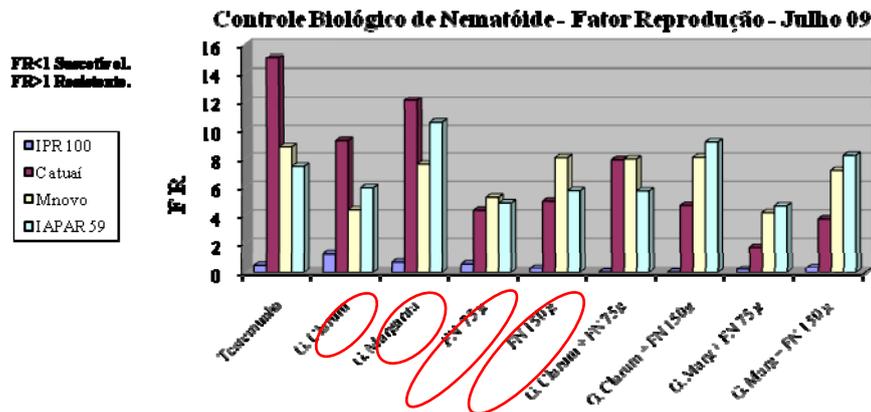


Figura 1. Redução populacional do nematoide *Meloidogyne paranaensis* em materiais de café.

O MIX é constituído de fungos nematófagos que predam ovos (*Paecilomyces lilacinus*), e fungos que capturam os juvenis do solo (*Arthrobotrys oligospora*, *A. musiformis*, *Trichoderma* sp), e a habilidade dos fungos nematófagos para colonizar a rizosfera tem sido apontada como uma característica importante no biocontrole de nematoides (Maia *et al.*, 2001; Krzyzanowski *et al.*, 2006).

Com relação aos fungos micorrízicos arbusculares (FMA), estes têm característica de formar associação com as raízes de plantas. Esta associação mutualística, onde existe uma dependência dos participantes, é caracterizada pelo movimento bidirecional dos nutrientes, com fluxo de carbono para o fungo e nutrientes inorgânicos à planta. A associação micorrízica envolve a integração do micélio fúngico e das raízes das plantas, formando uma unidade morfológica integrada, favorecendo assim o desenvolvimento e nutrição das plantas (Smith & Read, 1997).

Alguns trabalhos sugerem que o melhor desenvolvimento de plantas micorrizadas na presença de nematoides, comparadas com as plantas não micorrizadas, deve-se à capacidade dos FMA em aumentar o estado nutricional das plantas, conferir proteção, e, provavelmente, por um efeito profilático, aumentando a tolerância aos nematoides (Franci, 1993; Smith, 1987).

CONCLUSÕES

A mistura de palha de café com farelo de arroz foi adequada para a formulação do MIX (FN).

As plantas de café necessitam de fósforo (P) para o seu desenvolvimento e a micorriza disponibiliza esse nutriente para as mudas, resultando no desenvolvimento nutricional, em uma maior tolerância a estresses hídricos, patógenos, sais, metais pesados, etc.

Os dados evidenciaram que os fungos nematófagos têm potencial como agentes do controle biológico de nematoides em cafeeiro, sendo o melhor resultado para o material IPR 100 com o uso do MIX (FN) na dosagem de 75 g e acrescido da micorriza *G. clarum*, não havendo diferença quando a dose foi dobrada (150 g do MIX), com a mesma micorriza. Quando utilizou-se a micorriza *G. margarita*, também houve controle para os materiais de café (Catuaí, Mundo Novo, IAPAR 59 e IPR 100), em comparação com as testemunhas, confirmando que 75g do MIX (FN) foi a dose adequada.

Entretanto, baseado em observações de campo, notou-se que culturas depalperadas, em solos degradados, não mostram sinais de recuperação em uma única dose do MIX. Portanto, infere-se que o controle biológico de nematoides do cafeeiro com fungos nematófagos, acrescido da micorriza, será tanto mais efetivo quanto mais cedo serem iniciadas as aplicações nas áreas infestadas. Além disso, por se tratar de uma cultura perene, um programa sistemático de aplicações dos fungos deve ser estabelecido em cada caso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARNEIRO, R.M.D.G., CARNEIRO, R.G., ABRANTES, I.M.O, SANTOS, M.S.N.A. & ALMEIDA, M.R.A. *Meloidogyne paranaensis* n.sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Journal of Nematology**, 28:177-189.1996.
- DIAS, W.P. **Controle de *Meloidogyne incognita* raça 3, com *Arthrobotrys* spp.** 1992. 70 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1992.
- DALLA PRIA, M. **Controle biológico de *Meloidogyne incognita*, raça 3, pelos fungos *Verticillium chlamyosporium* e espécies de *Monacrosporium*, isolados ou combinados.** 1992. 101 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1992.
- KRZYŻANOWSKI, A.A. **Controle biológico de nematoides de galha do cafeeiro com fungos nematófagos.** 2006. 60 p. Tese (Doutorado em Agronomia – Produção Vegetal) Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jabotical, SP, 2006.
- MAIA, A.S.; SANTOS, J.M. dos; DI MAURO, A.O. Estudo *in vitro* da habilidade predatória de *Monacrosporium robustum* sobre *Heterodera glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 732-736, 2001.
- FRANCL, L.J. Interactions of nematodes with mycorrhizae and mycorrhizal fungi. In: Khan, M.W. (ed) **Nematode interactions**. Chapman & Hall, London: 203-216, 1993.
- RIBEIRO, R.C.F.; FERRAZ, S.; MIZOBUTSI, E.H. Avaliação da eficiência de isolados de *Monacrosporium* spp. no controle de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines*. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 23, n. 2, p.48-61, 1999.
- SMITH, G.S. Interactions of nematodes with mycorrhizal fungi. In: Veech, J.A. & Dickson, D.W. (eds) **Vistas on Nematology**. Hyatsville, MD, USA, Society of Nematologists Inc.: 293-300, 1987.
- SMITH, E.S. & READ, J.D. **Mycorrhizal symbiosis**. 2. ed. New York: Academic Press, 1997. 605p.