

EFEITO DE FUNGOS MICORRÍZICOS E NEMATÓFAGOS NO BIOCONTROLE DE NEMATÓIDES E NA NUTRIÇÃO FOSFATADA DO CAFEIEIRO¹

Alexandra Scherer²; Oswaldo Machineski³; Alaíde Aparecida Krzyzanowski⁴; Inês Fumiko Ubukata Yada⁵; Elcio Liborio Balota⁶

¹Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café

²Bolsista do CBP& D/Café, D.Sc., Instituto Agronômico do Paraná-IAPAR, Londrina, PR, ascherer2000@gmail.com

³Assistente de Ciência e Tecnologia, M.Sc., IAPAR, Área de Solos, Londrina, PR, omachine@iapar.br

⁴Pesquisadora, D.Sc., IAPAR, Área de Proteção de Plantas, Londrina, PR, alaidekrzyza@iapar.br

⁵Pesquisadora, M.Sc., IAPAR, Área de Biometria, Londrina, PR, inesyada@iapar.br

⁶Pesquisador, D.Sc., IAPAR, Área de Solos, Londrina, PR, balota@iapar.br

RESUMO: O objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito dos fungos micorrízicos e nematófagos no biocontrole de nematoides (*Meloidogyne paranaensis*) e na nutrição fosfatada do cafeeiro. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Instituto Agronômico do Paraná-IAPAR, Londrina-PR em delineamento experimental inteiramente casualizado. Os tratamentos foram: controle sem e com nematoide, inoculação de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e fungos nematófagos (FN) isolados e em mistura, totalizando 10 tratamentos. Mudas de café cv. 'IPR 100', 'IAPAR 59', 'CATUAÍ' e 'MUNDO NOVO' foram inoculadas com aproximadamente 150 esporos de FMA das espécies *Gigaspora margarita* ou *Glomus clarum*. Noventa dias após o transplante das mudas foi feita a inoculação com ovos e juvenis de segundo estágio de *M. paranaensis* e cento e vinte dias após foi realizada a aplicação dos FN. Após 300 dias do transplante foram realizadas as seguintes avaliações: fator de reprodução de nematoide em 10 repetições, fósforo acumulado na parte aérea e colonização radicular em 5 repetições. Houve efeito da inoculação dos fungos micorrízicos e nematófagos no teor de fósforo acumulado na parte aérea das plantas e na colonização radicular. Os fungos micorrízicos e nematófagos reduziram a reprodução de *M. paranaensis* no cafeeiro apresentando assim potencial para serem utilizados como agentes de controle biológico.

Palavras-chave: Micorriza, controle biológico, fósforo, *Coffea arabica*.

EFFECT OF nematophagous fungus and in the biocontrol of nematodes and Phosphate CAFEIEIRO IN NUTRITION

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the effect of the arbuscular mycorrhizal fungi and nematophagus fungi on the nematode biocontrol (*Meloidogyne paranaensis*) and the coffee phosphate nutrition. The experiment was conducted in greenhouse condition at Agronomic Institute of the Paraná-IAPAR, Londrina-PR on completely randomized. The treatments were: control with and without nematode, inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and nematophagus fungi (NF), with ten treatments. Seedlings of coffee cultivar of 'IPR100', 'IAPAR 59', 'CATUAÍ' and 'MUNDO NOVO' was inoculated with approximately 150 spores of mycorrhizal species (*Gigaspora margarita* or *Glomus clarum*). The inoculation of *M. paranaensis* (eggs and juvenile of second stage) was made 90 days after the transplant of the seedlings, while the nematode fungi were inoculated 120 days after the transplantation of the seedlings. After 300 days it was evaluated the nematode reproduction factor with 10 repetitions, phosphorus accumulated in the shoot and root mycorrhizal colonization with 5 repetitions. There were effects of the AMF and NF on the phosphorus accumulated in the shoot and in root mycorrhizal colonization. The arbuscular mycorrhizal fungi and the nematophagus fungi reduced the reproduction of *M. paranaensis* in the coffee plants which evidence their potential for be used as biological control agents.

Key words: Mycorrhizal, biological control, phosphorus, *Coffea arabica*.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café. A área destinada ao plantio em 2010 foi de 2 milhões de hectares com uma produção de 47 milhões de sacas, sendo 15 milhões delas destinadas a exportação (ABIC, 2011). Entretanto um dos fatores limitantes para a produção de café é o ataque de fitonematoides. A redução estimada da produção de café em consequência da ação destes patógenos é de 15% no mundo (Sasser, 1979) e de 20% no Brasil (Lordello, 1976). As espécies do gênero *Meloidogyne* responsáveis por maiores danos a cafeicultura no Brasil são: *Meloidogyne exigua* (Goeldi, 1887), *M. paranaensis* (Carneiro, 1996) e *M. incognita* (Chitwood, 1949) (Ito et al., 2008). As perdas provocadas por nematoides deste gênero podem variar desde a redução da produtividade até a morte das plantas (Silva et al., 2006).

Os principais métodos de controle de nematoides no cafeeiro são: eliminação de plantas doentes, plantio em área livre do patógeno, uso de variedades resistentes, rotação de culturas, cultivo de culturas intercalares, aplicação de

nematicidas e controle biológico. Dentre estes métodos o controle biológico tem se destacado no manejo de nematóides, uma vez que aproximadamente 200 organismos são considerados inimigos naturais dos fitonematóides entre eles estão os fungos, bactérias e nematóides predadores (Pimentel et al., 2009). Estudos com fungos nematófagos no cafeeiro foram conduzidos e apresentaram resultados promissores (Krzyzanowski, 2006).

Micorrizas são associações entre fungos e as raízes das plantas terrestres, sendo que o grupo mais importante é o dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA). Essa associação se caracteriza pelo desenvolvimento de estruturas fúngicas (hifas, vesículas e arbusculos) internamente nas raízes e hifas extrarradiculares. Estas hifas funcionam como extensões do sistema radicular, proporcionando aumento na absorção de água e nutrientes. Plantas micorrizadas apresentam ainda maior tolerância a fitopatógenos (Souza et al., 2010; Cavalcante et al., 2009). Estudos mostram que plantas micorrizadas sofrem alterações bioquímicas e fisiológicas que refletem no sistema de defesa da planta ao ataque de nematóides (Souza et al., 2010). Entretanto não existem na literatura estudos de biocontrole de nematoide no cafeeiro utilizando fungos micorrízicos e nematófagos. Dentro deste contexto o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito dos fungos micorrízicos e nematófagos no biocontrole de *Meloidogyne paranaensis*, na micorrização e na nutrição fosfatada do cafeeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Estação Experimental do Instituto Agrônomo do Paraná-IAPAR, em Londrina-PR em delineamento inteiramente casualizado. O substrato utilizado foi uma mistura de Latossolo Vermelho distrófico (LVd), autoclavado 3 vezes e corrigido com calcário para obter-se V=70%, areia e esterco de bovino curtido na proporção de 1:1:1. Esse substrato foi acondicionado em vasos de barro com capacidade de 2 kg. Mudanças de café das cultivares 'IPR 100', 'IAPAR 59', 'Catuaí' e 'Mundo Novo' com aproximadamente 20cm de altura foram transplantadas e inoculadas com os esporos dos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) próximo às raízes. Essa inoculação foi realizada com aplicação de 10g de solo-inóculo contendo aproximadamente 150 esporos das espécies *Glomus clarum* (Nicolson & Schenk) (Gc) ou *Gigaspora margarita* (Becker & Hall) (Gm). Esse inóculo foi proveniente da Coleção de Espécies de FMA mantida no IAPAR em vasos com solo autoclavado 3 vezes do e cultivados com *Brachiaria decumbens*.

Os inóculos de *Meloidogyne paranaensis* foram obtidos a partir de plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* L.) cv. 'Rutgers' mantidas em casa de vegetação no IAPAR, utilizando-se o método Hussey & Barker modificada por Boneti & Ferraz (1981), para extração de ovos e juvenis. Noventa dias após o transplante, as plantas de cafeeiro foram inoculadas com 5 ml de suspensão com 5.000 ovos e juvenis de segundo estágio (J₂). Cento e vinte dias após o transplante das mudas foi realizada a inoculação dos fungos nematófagos (FN) com aplicação de um substrato contendo aveia enriquecido com nutrientes com as espécies *Arthrobotrys oligospora*, *A. musiformis*, *Paecilomyces lilacinus* e *Trichoderma* spp, obtidos da Coleção de Fungos Nematóforos do Laboratório de Controle Biológico de Nematóides do IAPAR. Foram aplicados nas concentrações 75g e 150g de substrato com as espécies de FN em um sulco no formato de meia lua em cada lado da muda e cobertos com solo do vaso.

Os tratamentos foram controle sem e com nematoide, inoculação de FN e FMA isolados e em mistura totalizando 10 tratamentos. Após 300 dias do transplante foram realizadas as seguintes avaliações: fator de reprodução do nematoide em 10 repetições, teor de fósforo acumulado da parte aérea e colonização radicular por FMA em 5 repetições.

As raízes das plantas foram retiradas para a extração dos ovos e J₂, segundo a metodologia de Bonetti & Ferraz, (1981) e as estimativas dos números de ovos foram realizadas através da contagem sob microscópio óptico. Determinou-se o fator de reprodução do (FR= número total de ovos extraídos/número de ovos inoculados) para cada planta (Oostenbrink, 1966). A avaliação da colonização radicular por FMA foi realizada segundo a metodologia descrita por Colozzi & Balota (1994). Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Duncan a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os baixos valores do FR observados no IPR 100 ocorreram devido a cultivar ser considerada resistente a *M. paranaensis*, como observada anteriormente por Baida et al., (2009) e Souza et al., (2010) (Tabela 1). A inoculação dos FMA e FN de maneira isolada ou em conjunto proporcionaram redução no FR em até 35% no cv. 'IAPAR 59', 88% no 'CATUAÍ' e 53% no 'MUNDO NOVO'. As maiores reduções do FR foram observadas nos cv. 'Catuaí' e 'Mundo Novo' submetidos à inoculação conjunta FMA+FN, o que evidencia um efeito sinérgico entre os fungos micorrízicos e os nematóforos.

Tabela 1. Fator de reprodução de *M. paranaensis* em cafeeiros inoculados com fungos micorrízicos e nematófagos.

Tratamentos	IPR 100	IAPAR 59	Catuaí	Mundo Novo
	Fator de reprodução			
C	0,54 ab	7,4 ab	15,09 a	8,82 a
FN 75	0,64 ab	4,88 b	4,36 bcd	5,28 a
FN150	0,33 ab	5,75 ab	4,99 bcd	8,06 a
Gm	0,24 ab	10,61a	12,13 ab	7,6 a
Gc	1,32 a	5,9 ab	9,26 abc	4,4 a
Gm + FN 75	0,24 ab	4,88 ab	1,74 cd	4,14 a
Gm + FN 150	0,36 ab	5,75 ab	3,75 cd	7,16 a
Gc + FN 75	0,02 b	5,72 ab	7,91 cd	7,96 a
Gc + FN 150	0,02 b	9,17 ab	4,7 cd	8,08 a

C: Controle com nematoide; FN 75: Fungos nematófagos na concentração 75g; FN 150 Fungos nematófagos na concentração 150g; Gm: *Gigaspora margarita* e Gc: *Glomus clarum*. Médias seguidas da mesma letra para cada cultivar de café não diferem entre si pelo teste de Duncan 5%. Média de 10 repetições.

Houve efeito na quantidade de fósforo acumulado na parte aérea do cafeeiro nos cv. 'IPR 100', 'IAPAR 59' e 'Catuaí' nos tratamentos com FN e FMA (Tabela 2). As maiores quantidades de P acumulado na parte aérea foram observados com a inoculação de Gc+ FN 75 nos cv. 'IPR 100', 'CATUAÍ' e 'MUNDO NOVO' e de Gm + FN 75 e Gc + FN 75 no cv. 'IAPAR 59'. De uma forma geral a inoculação com FMA e FN contribuiu favoravelmente para o acúmulo de fósforo da parte aérea.

Tabela 2. Fósforo acumulado na parte aérea de café inoculado com *M. paranaensis*, fungos micorrízicos e nematófagos.

Tratamentos	IPR 100	IAPAR 59	CATUAI	MUNDO NOVO
	mg.planta ⁻¹			
C	26,28 d	18,42 d	17,23 f	39,67 bcd
C + N	32,91 d	20,83 cd	21,60 ef	29,76 cd
FN 75	54,52 bc	37,92 ab	57,24 bc	53,59 b
FN150	45 cd	57,54 a	63,14 bc	58,51 ab
Gm	36,61 cd	36,05 abc	45,25 cd	46,55 bcd
Gc	36,80 cd	24,92 bcd	32,27 de	28,07 d
Gm + FN 75	42,07 cd	41,76 ab	66,56 ab	56,83 ab
Gm + FN 150	41,66 cd	44,73 a	65,22 ab	49,20 bc
Gc + FN 75	70,41 ab	48,33 ab	60,79 bc	56,95 ab
Gc + FN150	80,33 a	58,47 a	86,55 a	75,87 a

Controle sem nematoide; C+ N: Controle com nematoide; FN 75: Fungos nematófagos na concentração 75g; FN 150 Fungos nematófagos na concentração 150g; Gm: *Gigaspora margarita* e Gc: *Glomus clarum*. Médias seguidas da mesma letra para cada cultivar de café não diferem entre si pelo teste de Duncan 5%. Dados transformados para $\sqrt{x+k}$, k=1. Média de 5 repetições.

A inoculação dos FMA e FN influenciou de maneira diferenciada a colonização micorrízica nos diferentes cultivares de café inoculado com *M. paranaensis* (Tabela 3).

Tabela 3. Colonização micorrízica em cafeeiro inoculado com fungos micorrízicos e nematófagos

Tratamentos	IPR 100	IAPAR 59	CATUAI	MUNDO NOVO
	% Colonização			
Gm	4,29 c	37,23 ab	41,24 a	2,71 c
Gc	51,91 a	17,78 b	38,48 ab	2,77 c
Gm + FN 75	40,90 ab	35,14 ab	47,77 a	2,66 c
Gm + FN 150	18,69 b	57,24 a	20,18 c	2,70 c
Gc + FN 75	15,35 c	59,12 a	17,82 c	49,61 a
Gc + FN150	19,29 b	2,86 c	24,79 bc	20,62 b
CV (%)	25,02	41,98	31,5	19,67

Onde: Gm: *Gigaspora margarita* e Gc: *Glomus clarum*. FN 75: Fungos nematófagos na concentração 75g; FN 150 Fungos nematófagos na concentração 150g e CV(%): Coeficiente de variação. Médias seguidas da mesma letra na coluna para cada cultivar de café não diferem entre si pelo teste de Duncan 5%. Dados transformados para $\text{arc sen}\sqrt{x/100}$. Média de 5 repetições.

CONCLUSÕES

1. Os fungos micorrízicos e nematófagos inoculados isoladamente e em mistura apresentaram efeito positivo no controle dos nematoides, na nutrição fosfatada e na micorrização do cafeeiro.
2. Fungos micorrízicos e fungos nematófagos apresentaram bom potencial para serem utilizados como agentes de biocontrole de *Meloidogyne paranaensis* no cafeeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIC- Associação Brasileira da Indústria do Café. Indicadores da indústria do café no Brasil-2010. Disponível em: <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=61>. Acesso em março de 2011.
- BAIDA, F. C.; SANTIAGO, D. C.; CADIOLI, M. C.; STROZE, C. T.; FOGANHOLI, A. A. M. Manejo de *Meloidogyne paranaensis* em mudas de cafeeiro com o fungo *Paecilomyces lilacinus*. In: VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória- ES, 2009. Anais.
- BONETI, J. I. S. & FERAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para a extração de ovos de *Meloidogyne exigua*, em raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, 6 (3): 553, 1981.
- CAVALCANTE, U. M. T.; GOTO, B. T.; MAIA, L. C. Aspectos da simbiose micorrizica arbuscular. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, 5 e 6: 180-208, 2009.
- COLOZZI FILHO, A.; BALOTA, E. L. Micorrizas arbusculares. In: Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola. (eds.) Hungria, M.; Araújo, R. Brasília:Embrapa, p.383-418, 1994,
- ITO, D. S.; SERA, G. H.; SANTIAGO, D. C.; KANAYAMA, F. S.; GROSSI, L. D. Progênies de café com resistência a nematoides *Meloidogyne paranaensis*. e Raça 2 de *Meloidogyne incognita*. Coffee Science, 3(2): 156-163, 2008.
- KRZYZANOWSKI, A. Controle biológico de nematoides de galha do cafeeiro com fungos nematófagos. Tese, Universidade Estadual Paulista- UNESP, Jaboticabal, 2006.
- LORDELLO, L. G. E. Perdas causadas por nematoides. Revista de Agricultura, Piracicaba, 51(2): 222, 1976.
- OOSTENBRINK, M. Major characteristic of the relation between nematodes and plants. Medelingen Landbouwhogeschool, Wageningen (Nederland), p., 1966.
- PIMENTEL, M. S.; PEIXOTO, A. R.; PAZ, C. D. Potencial de controle biológico de *Meloidogyne* utilizando fungos nematófagos e bactérias em cafeeiros. Coffee Science, 4(1):84-92, 2009.
- SASSER, J. N. Plant-parasitic nematodes: the farmer s hidden enemy. Raleigh: North Caroline State University Graphics, 115 p., 1979.
- SILVA, R. V.; OLIVEIRA, R. D. L.; PEREIRA, A. A.; SÊNI, D. J. Otimização da produção de inóculo de *Meloidogyne exigua* em mudas de cafeeiro. Nematologia Brasileira, 30(3): 229- 238, 2006.
- SOUZA, C. S.; SOARES, A. C. F.; COIMBRA, J. L.; GARRIDO, M. S.; MACHADO, G. S. Fungos micorrízicos arbusculares no controle de *Meloidogyne incognita* em mudas de tomateiro. Revista Caatinga, 23(1): 15-20, 2010.