

Uso de fertilizante orgânico associado a microrganismos no controle de nematoides (*Meloidogyne incognita*)

Use of organic fertilizer associated with microorganisms to control nematodes (Meloidogyne incognita)

Lourenço Antônio Melo Gontijo

Graduando do curso de Agronomia (UNIPAM)

E-mail: lourencogontijo45@unipam.edu.br

Lucas da Silva Mendes

Professor orientador (UNIPAM)

E-mail: lucassm@unipam.edu.br

Resumo: A utilização de fertilizantes orgânicos é uma possibilidade inovadora de associar resíduos orgânicos e microrganismos biológicos, que podem ser utilizados pela agricultura orgânica ou convencional, a fim de atuarem no manejo de nematoides. O objetivo foi avaliar o uso de fertilizante orgânico associado a microrganismos no controle de nematoides *Meloidogyne incognita* em mudas do cafeeiro. No experimento, utilizou-se a cultivar de café arábica IAC 62. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com seis tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos foram T1: Controle, inoculado nematoides (sem bactérias), T2: nematoides + (*Lactobacillus plantarum* *Saccharomyces*), T3: nematoides + (*Bacillus subtilis* *B. licheniformes* *B. pumillas*), T4: nematoides + (*B. amyloliquefaciens*) T5 nematoides + (*B. subtilis*), T6 nematoides + (*B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis*), todos associados ao organomineral. Após realizada a desmontagem e a análise dos dados, concluiu-se que nenhuma das bactérias realizaram controle biológico, pois não houve diferença estatística.

Palavras-chave: Fertilizante orgânico. Nematoides. Fator de reprodução.

Abstract: The use of organic fertilizers is an innovative possibility of associating organic residues and biological microorganisms, which can be used by organic or conventional agriculture, to act in the management of nematodes. The objective was to evaluate the use of organic fertilizer associated with microorganisms in the control of *Meloidogyne incognita* nematodes in coffee seedlings. In the experiment, IAC 62 arabica coffee cultivar was used. The experimental design was in randomized blocks, with six treatments and five replications. The treatments were T1: Control, inoculated nematodes (without bacteria), T2: nematodes + (*Lactobacillus plantarum* *Saccharomyces*), T3: nematodes + (*Bacillus subtilis* *B. licheniformes* *B. pumillas*), T4: nematodes + (*B. amyloliquefaciens*) T5 nematodes + (*B. subtilis*), T6 nematodes + (*B. amyloliquefaciens* and *B. subtilis*), all associated with the organo-mineral. After disassembling and analyzing the data, was concluded that none of the bacteria underwent biological control, as there was no statistical difference.

Keywords: Organic fertilizer. Nematodes. Reproduction factor.

1 INTRODUÇÃO

A cafeicultura, significativa atividade do setor agropecuário, desempenha função de muita importância para o desenvolvimento social e econômico do Brasil, garantindo empregos, tributos e contribuindo para a receita brasileira. O café é um dos produtos básicos mais negociados no mundo, sendo produzido em mais de 60 países, proporcionando o sustento para mais de 125 milhões de pessoas e é particularmente importante para os pequenos cafeicultores, que são os responsáveis pela maior parte da produção (FASSIO; SILVA, 2007).

O cerrado brasileiro é próprio para o cultivo do café, por apresentar, em sua constituição, desde campos abertos até formações densas de florestas. Esse bioma ocupa, predominantemente, o Planalto Central brasileiro, com 206 milhões de hectares, equivalendo a cerca de 23% do território nacional. (FASSIO; SILVA, 2007).

Os nematoides são responsáveis pela redução do crescimento das plantas, amarelecimento e até mesmo a sua falência, além de facilitar a entrada de patógenos. As plantas atacadas apresentam menor absorção de água e nutrientes, o que leva a uma diminuição de produtividade potencial. Há uma estimativa de que a redução da produção mundial de café, devido à ação dos nematoides, seja, em média, de 15%. No Brasil, estima-se um valor médio de 20%. (FILGUEIRA, 2003)

Os nematoides do gênero *Meloidogyne* são um grande risco para as lavouras de café. Nematoides são organismos do solo (pequenos vermes microscópicos) que atacam o sistema radicular do cafeeiro, tornando as plantas fracas e improdutivas, atrapalhando a absorção de água e sais minerais, causando a falência das raízes, queda das folhas, queda da produção e até a morte das plantas. *M. incognita* provoca galhas no sistema radicular de mudas na fase de viveiro (SOUZA, 2007). Não é de grande ocorrência encontrar galhas em plantas adultas no campo. O sintoma característico em plantas adultas é o engrossamento das raízes seguido de rachadura e descorticação (a casca destaca e esfarela com facilidade, apresentando aspecto de cortiça). Esse nematoide afeta drasticamente as raízes do cafeeiro, causando problemas relacionadas ao enfraquecimento das plantas; muitas plantas chegam a morrer. Ocorre com maior gravidade em regiões de solos arenosos. (CAMPOS, 1999).

Os métodos para manejo de fito nematoides mais utilizados são o manejo de rotação de culturas e uso de matéria orgânica. Os nematicidas estão se tornando mais raros no mercado em decorrência de sua elevada nocividade ao agroecossistema. Em busca de tecnologias eficientes e seguras, tem se testado amplamente o potencial dos inimigos naturais de nematoides, visando à redução de população do patógeno, por antibiose, parasitismo, competição ou predação. "São os nocivos naturais dos fitonematoides, os tardígrados, colêmbolas, ácaros, fungos, nematoides predadores, protozoários e bactérias" (CARNEIRO *et al.*, 2001).

A agregação de compostos orgânicos no solo é uma maneira alternativa no manejo de fitonematoides; há a diminuição da densidade populacional dos patógenos e aumento de resistência vegetal, permitindo adição de nutrientes e melhoria da estrutura do solo (GONÇALVES, 2001). Os fertilizantes orgânicos são resíduos orgânicos misturados e submetidos ao processo de decomposição. A eficiência desse material

orgânico no controle de nematoides depende de sua composição química e das espécies de microrganismos relacionados com a sua decomposição. A liberação de compostos tóxicos seria a ação direta da degradação do material orgânico e, provavelmente, promoveria rápida redução na população dos nematoides. Outros atributos, como a melhoria da estrutura e a agregação do solo e da nutrição das plantas, também podem favorecer o controle de nematoides (STIRLING, 1991).

Dessa forma, a utilização de fertilizantes orgânicos é uma possibilidade inovadora de associar resíduos orgânicos e microrganismos biológicos, que podem ser utilizados pela agricultura orgânica ou convencional, de maneira a atuarem no manejo de nematoides. Portanto, um produto que melhore as propriedades físicas, químicas e biológicas do solo e que ainda seja eficiente no controle de nematoides parasitas de plantas pode representar um grande diferencial no mercado (FERREIRA *et al.*, 2011).

2 METODOLOGIA

O experimento foi implantado em casa de vegetação, no Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), Patos de Minas (MG), e foi conduzido de julho de 2019 a fevereiro de 2020. O clima predominante é o tropical de altitude, com temperatura média anual de 21°C. Utilizou-se a cultivar de café arábica IAC 62, e foram realizados tratamentos gerais conforme recomendação agrônômica para a cultura. O transplântio das mudas foi realizado com quatro pares de folhas.

Foram adotados seis tratamentos: o tratamento 1 (sem microrganismos com a inoculação de nematoides); o tratamento 2 inoculado com nematoides e ainda com fertilizante orgânico contendo *Lactobacillus plantarum* e *Saccharomyces cerevisiae*; o tratamento 3 inoculado com nematoides, composto pelo fertilizante orgânico associado a *Bacillus subtilis*, *B. licheniformes* e *B. pumillas*; o tratamento 4 com nematoides e fertilizante orgânico mais *B. amyloliquefaciens*; o tratamento 5 também com nematoides mais fertilizante orgânico associado a *B. subtilis*; por último, o tratamento 6 com nematoides mais fertilizante orgânico associado a *B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis*. Em todos os tratamentos, foram adicionados organomineral para se realizar a nutrição das plantas. Utilizou-se de delineamento em blocos casualizados, com cinco repetições, perfazendo um total de trinta unidades experimentais.

Tabela 1 – Descrição dos tratamentos utilizados no experimento. Patos de Minas (MG), 2020

Tratamentos	Descrição
T1	Organomineral + Nematoides
T2	Organomineral + Nematoides + (Fertilizante orgânico associados às <i>Lactobacillus plantarum</i> e <i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
T3	Organomineral + Nematoides + (Fertilizante orgânico associados às <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. licheniformes</i> e <i>B. pumillas</i>)

T4	Organomineral + Nematoides + (Fertilizante orgânico associados às <i>B. amyloliquefaciens</i>)
T5	Organomineral + Nematoides + (Fertilizante orgânico associados às <i>B. subtilis</i>)
T6	Organomineral + Nematoides + (Fertilizante orgânico associados às <i>B. amyloliquefaciens</i> e <i>B. subtilis</i>)

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Foram plantadas uma muda por vaso, e cada vaso continha 5 litros de volume, contendo substrato autoclavado preparado com solo e areia lavada em proporção 2:1. O substrato foi autoclavado no laboratório de fitopatologia do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM).

O plantio, que também foi realizado no laboratório de fitopatologia do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). Após serem realizadas todas as parcelas, foram encaminhadas para a casa de vegetação. Foi aplicada em todas as parcelas, a cada quinze dias, começando um dia após a emergência, a solução nutritiva conforme proposta por Johnson *et al.* (1957), para que a planta pudesse se nutrir corretamente durante todo o período do experimento.

Sessenta dias após o plantio, foi realizada a inoculação de 5000 ovos de *M. incognita* por tratamento com o auxílio de uma pipeta, utilizando o inoculo calibrado extraído das plantas de pimentão e quiabo mantidas em casa de vegetação. Assim, o inoculo foi pipetado e depositado nas proximidades da raiz.

Aos sete meses após a inoculação, o experimento foi desmontado e todas as parcelas foram encaminhadas para o laboratório de fitopatologia do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), onde foi feita a extração e quantificação de ovos das raízes e do solo, para posteriormente ser calculado o fator de reprodução (FR). A extração das raízes foi realizada segundo a metodologia de Boneti e Ferraz (1981), que consiste em triturar as raízes por 20 segundos em um liquidificador a baixa rotação, juntamente com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% de concentração.

Em seguida a solução foi passada por uma peneira de 500 mesh, onde foi lavada com água corrente. A solução lavada foi transferida para tubos falcon com água destilada para que pudesse ser centrifugada com o auxílio de uma centrífuga por 4 minutos a 1800 RPM. Após os 4 minutos, descartou-se o líquido sobrenadante dos tubos falcon, completando a solução restante no fundo dos tubos com solução de sacarose na proporção de 454g de açúcar refinado para 1L de água, encaminhando novamente para centrífuga por 1 minuto a 1800 RPM. Completando 1 minuto, a solução sobrenadante foi despejada novamente sobre a peneira de 500 mesh, sendo lavada em seguida com água destilada para a retirada da sacarose, encaminhando a solução da peneira para um Becker com o auxílio de uma pisseta.

Para realizar a extração do solo, foi utilizada a metodologia de Jenkins (1964); foram coletados cem centímetros cúbicos de solo por cada vaso, posteriormente misturou-se em 2L de água corrente com o auxílio de um balde. Após a solução se homogeneizar, esperou-se 1 minuto para ser decantada. Após a decantação, despejou-se a solução sobrenadante sobre uma peneira de 20 mesh acoplada à outra de 400 mesh,

lavando a solução da segunda peneira com água corrente. O restante do processo é o mesmo utilizado para a extração das raízes. Após a extração dos ovos de cada tratamento, foi contabilizado o número de ovos/sistema radicular e do solo com o auxílio de microscópio e lâmina de Peters; em seguida, foi feito o cálculo fator de reprodução (FR), que foi a variável analisada. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CONDIÇÕES FAVORÁVEIS

Conforme a Tabela 2, durante a realização do experimento, a temperatura teve uma pequena oscilação no interior da casa de vegetação, o que se mostrou benéfico para a reprodução do *M. incognita*. Para Oliveira (2007), uma temperatura média de 35,70 °C de máxima e 12,30°C de mínima é condição favorável ao desenvolvimento de *M. incognita*, sendo a média da condução do experimento de 34,01°C de máxima e 15,40°C de mínima.

Vrain e Barker (1978) mostraram, em experimento, que, na temperatura de 8°C, os ovos de *M. incognita* não se realizam a reprodução, porém, na temperatura de 10°C, a espécie já foi capaz de se desenvolver.

Tabela 2 – Médias das temperaturas máximas e mínimas em °C obtidas no interior da casa de vegetação durante o período de condução do experimento. Patos de Minas (MG), 2020

Temperaturas médias em °C		
Períodos	Máxima	Mínima
Julho a outubro	32,70	12,30
Novembro a fevereiro	35,33	15,40
Médias	34,01	13,85

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

3.2 FATOR DE REPRODUÇÃO

Foi observado que, em todas as repetições, houve a reprodução do *M. incognita*, não se diferenciando estatisticamente do t1, em que não foi adicionada nenhuma bactéria. Nenhuma das bactérias atuou contra a multiplicação do *M. incognita*, uma vez que o fator de reprodução (FR) foi obtido em todos os tratamentos sendo >1 (Tabela 3).

Desse modo, todas as bactérias testadas permitem o aumento na população de *M. incognita*.

Tabela 3 – Valores de fator de reprodução (FR), quantidade de ovos constatados nas raízes, quantidade de ovos e eventuais juvenis constatados no substrato, obtidos após a avaliação dos tratamentos. Patos de Minas (MG), 2020

Tratamentos	Quantidade ovos + juvenis na fase j ₂		
	Raízes	Substrato	Fator de Reprodução (FR)
T1	38666,67	25333,33	5,10 a
T2	30666,67	27333,33	5,29 a
T3	34666,67	28000,00	5,65 a
T4	30000,00	30000,00	5,66 a
T5	28000,00	24666,67	5,80 a
T6	33333,33	27333,33	6,18 a

CV(%)= 14,25%

² Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Scott-Knot a 5% de probabilidade.

Fonte: Dados da pesquisa, 2019.

Autores já relataram o controle de nematoides através das bactérias *bacillus spp*, testando o efeito *in vitro*, (Carneiro *et al.*, 1998), o que se difere deste trabalho, em que o *M. incognita* não foi controlado pelas bactérias *bacillus spp*. Diversos fatores podem ser citados para explicar a contradição nos resultados. Um deles foi testado o efeito *in vitro* (Carneiro *et al.* (1998). A casa de vegetação e o laboratório possui uma grande diferença: a casa de vegetação está mais suscetível a umidade e a microrganismos indesejados; tudo isso pode afetar os resultados finais. Mesmo se, em laboratórios, encontrar um resultado tanto positivo ou negativo, em campo pode se encontrar um resultado diferente, pois podem-se encontrar condições que mudam o experimento.

Entretanto, os resultados obtidos se assemelham com os resultados de Yamada (1999), que observou que algumas bactérias *bacillus spp* não são capazes de controlar os nematoides, podendo afetar até na qualidade da bebida do café. Também observou que as bactérias não impedem os sintomas desse patógeno, prejudicando a cultivar em diversas fases de seu ciclo.

Também segundo Novaretti (1991), os resultados obtidos se assemelham, quando ele testa as bactérias *bacillus spp*. Percebe que o fator de reprodução em tomateiros, entre a testemunha, em que não foram aplicadas bactérias dos demais tratamentos, efetuou a aplicação de bactérias distintas, não apresentam diferença estatística. Sendo assim as *bacillus spp* também não foram capazes de realizar o controle biológico nesse experimento.

4 CONCLUSÃO

Concluiu-se que as bactérias utilizadas combinadas com o fertilizante orgânico não realizam o controle biológico de nematoides (*Meloidogyne incognita*) no cafeeiro, pois não foram percebidas diferenças estatísticas nas variáveis analisadas.

REFERÊNCIAS

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para a extração de ovos de *Meloidogyne exigua* no cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 6, n. 3, p. 553, 1981

CAMPOS, V. P. **Manejo de doenças causadas por fitonematoides**. Lavras (MG): Editora UFLA/FAEPE, UFLA, 1999. (Curso de pós-graduação à distância: Manejo de doenças de plantas).

CARNEIRO, R. M. D. G. *et al.* C. Nematicidal activity of *Bacillus spp.* strains on juveniles of *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 1, p.12-21, 1998.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 35-44, 2001.

FASSIO, L. H.; SILVA, A. E. S. Importância econômica e social do café conilon. *In*: FERRÃO, R. G. *et al.* **Café Conilon**. Vitória: Incarper, 2007. p. 37-4.

FERREIRA, R. L. F. *et al.* Produção orgânica de rabanete em plantio direto sobre cobertura morta e viva. **Horticultura Brasileira** [online], v. 29, n. 3, p. 299-303, 2011.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2003.

FILGUEIRA, B. M. **Nematoides no sistema radicular**. Disponível em: https://www.agrolink.com.br/culturas/algodao/problema/nematoide-das-galhas_523.html 2003.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M. B. Nematoides parasitos do cafeeiro. *In*: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Tecnologias de produção de café com qualidade**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitopatologia, 2001. cap. 7. p. 199-268

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant disease reporter**, v. 48, n. 9, p. 692, 1964.

JOHNSON, C. M. *et al.* Comparative chlorine requirement of different plant species. **Plant and Soil**, Berkeley, v. 8, n. 3, p. 337-353, 1957.

NOVARETTI, W. R. T. Controle biológico de nematóides. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte (MG), v.15, n.167, p. 63-72, 1991.

OLIVEIRA, C. D. **Exortia de plantas de pimentão em *Capsicum* spp. no manejo de nematoide de galha**. 2007, 155 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, 2007.

SOUZA, F. A. **Nematóides parasitas do cafeeiro**. 2007. Disponível em: <https://www.cafepoint.com.br/noticias/tecnicas-de-producao/nematoides-parasitas-do-cafeeiro-39679n.aspx>.

STIRLING, G. R. Biological control of plant-parasitic nematodes. **Wallingford**: CAB International, 1991.

VRAIN, T. C.; BARKER, K. R. Influence of low temperature on development of *Meloidogyne incognita* and *M. hapla* eggs in egg masses. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 10, n. 4, p. 311-313, 1978.

YAMADA, C. M. **Deteção de microrganismos endofíticos em frutos de café**. 1999. 56p. Tese (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa (MG), 1999.