

POTENCIAL BIOFUMIGANTE DE DUAS ESPÉCIES AMAZÔNICAS NO CONTROLE DO NEMATOIDE-DAS-GALHAS DO CAFEIEIRO

José Roberto Vieira Júnior², Elize Francisca Mendes dos Anjos³, Cléber de Freitas Fernandes⁴, Vaneide Araújo de Souza Rudnick⁵, Cássya Fonseca Santos⁶, Cristina Ferreira de Souza⁷, Francisco Paiva Uchôa⁸, Gleíciele Ribeiro da Silva⁹, Matheus Cunha Figueiredo¹⁰

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

² Engenheiro Agrônomo, D. Sc. em Fitopatologia, pesquisador da Embrapa Rondônia, Porto Velho- RO, jose-roberto.vieira@embrapa.br

³ Engenheira Agrônoma, Mestre em Ciências Ambientais, estagiária do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Rondônia, elizeanjos@gmail.com

⁴ Farmacêutico, D. Sc. em Bioquímica, pesquisador, CE, Embrapa Agroindústria Tropical, cleberon.fernandes@embrapa.br

⁵ Engenheira Agrônoma, doutoranda da Bionorte, estagiária do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Rondônia, van.rudnick@gmail.com

⁶ Farmacêutica, mestre em Ciências Ambientais, estagiária do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Rondônia, casya@outlook.com

⁷ Engenheira agrônoma, estagiária do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Rondônia, tinaferresouza@gmail.com

⁸ Engenheiro Agrônomo, estagiário do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Rondônia, francisco.paivau@gmail.com

⁹ Graduanda em Agronomia, estagiário do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Rondônia, rbrogleici@outlook.com

¹⁰ Graduando em Agronomia, estagiário do laboratório de Fitopatologia da Embrapa Rondônia, matheus.mp100@hotmail.com

RESUMO: Na agricultura atual, a busca por estratégias de manejo integrado de doenças deve ser uma busca constante, visando a máxima eficiência produtiva, o menor custos de produção e redução de possíveis impactos ambientais e humanos. Nesse sentido, tem-se buscado por métodos alternativos, que sejam diferentes do controle químico com nematicidas a fim de atender aos princípios que norteiam o manejo integrado. Objetivou-se avaliar a incorporação de folhas de *Copaifera* sp. e *Vismia guianensis*, para se determinar seu potencial biofumigante-nematicida contra o nematoide-das-galhas do cafeeiro (*Meloidogyne incognita*). Os materiais foram divididas em material vegetal seco (60° C por 72 horas) e fresco. Esta incorporação foi feita proporção de 62,5 gramas de material vegetal por litro de solo, aos 15 dias e um dia antes do plantio das mudas de cafeeiro. Foram utilizados como testemunha o nematicida Carbofuran (20 mL/litro), e tratamentos sem material vegetal, com e sem inoculação, com seis repetições. Após a ANOVA e teste de média de Scott Knott a 5%, observou-se que, para o número de galhas por grama de raízes destacou o tratamento *Copaifera* sp. seca e incorporada 15 dias antes em comparação ao nematicida, e para fator de reprodução e número de ovos/grama de raízes se destacou o *Vismia guianensis* 15 seca e incorporada 15 dias antes em comparação ao carbofuran. Entretanto, observa-se que em todos os casos avaliados com o uso de material incorporado seco ou fresco, houve algum efeito deletério sobre o crescimento das mudas, tanto no sistema radicular quanto na parte aérea das plantas, quando comparados à testemunha não tratada, embora somente no caso de *Vismia* houve diferença significativa quando comparadas ao controle. Os resultados apresentados demonstram que é possível inibir o patógeno pela incorporação de folhas secas e trituradas de *Vismia guianensis* no substrato para mudas de cafeeiro, preferencialmente 15 dias antes do plantio.

PALAVRAS-CHAVE: *Coffea canephora*, *Meloidogyne incognita*, biofumigação.

BIOFUMIGANT POTENTIAL OF TWO AMAZON SPECIES IN THE CONTROL OF COFFEE BREAK NEMATOID

ABSTRACT: In current agriculture, the search for integrated disease management strategies should be a constant search, aiming at maximum productive efficiency, lower production costs and reduction of possible environmental and human impacts. In this sense, we have sought alternative methods that are different from chemical control with nematicides in order to meet the principles that guide integrated management. The objective of this study was to evaluate the incorporation of *Copaifera* sp. and *Vismia guianensis*, to determine their biofumigant-nematicidal potential against the coffee gnath nematodes (*Meloidogyne incognita*). The materials were divided in dry plant material (60° C for 72 hours) and fresh. This incorporation was made proportion of 62.5 grams of plant material per liter of soil, at 15 days and one day before planting the coffee seedlings. Carbofuran nematicide (20 mL / liter) and treatments without plant material, with and without inoculation, with six replicates were used as controls. After the ANOVA and Scott Knott's mean test at 5%, it was observed that, for the number of galls per gram of roots, the *Copaifera* sp. dry and incorporated 15 days before compared to nematicide, and for reproductive factor and number of eggs / grams of roots was exposed *Vismia guianensis* 15 dry and incorporated 15 days before compared to carbofuran. However, it is observed that in all cases evaluated with the use of dry or fresh material, there was some deleterious effect on the growth of the seedlings both in the root system and in the aerial part of the plants, when compared to the untreated control, although only in the case of *Vismia* there was a significant difference when compared to the control. The results show that it is possible to inhibit the pathogen by the incorporation of dry and crushed leaves of *Vismia guianensis* in the substrate for coffee seedlings, preferably 15 days before planting.

KEY WORDS: *Coffea canephora*, *Meloidogyne incognita*, biofumigation.

INTRODUÇÃO

O estado de Rondônia é o segundo maior produtor de *Coffea canephora* e, de acordo com a CONAB (2018), a produção de café deste ano tem prognóstico de 17 a 24% superior ao ano de 2017. Porém o fator fitossanitário pode afetar esta estimativa, devido a incidência de nematóides do gênero *Meloidogyne* em áreas produtoras do estado, o que pode reduzir a produtividade da cultura (VIEIRA JUNIOR et al., 2015).

E para o controle de fitonematoídeos, o uso de nematicidas sintéticos é amplamente usado, no tratamento de mudas e em covas no plantio do cafeeiro, entretanto um dos produtos utilizados num passado recente era o Carbofuran, no entanto Hmimou et al., (2014), identificou que este princípio ativo possui grande mobilidade no solo, sendo lixiviado, para profundidades maiores que o sistema radicular das plantas, que é o alvo de ação. Além da contaminação das águas subterrâneas, como foi identificado por SANTOS e LEITE(2016), principalmente em solos ácidos. Assim uma das alternativas no controle do *Meloidogyne* spp., sendo menos tóxica ao homem e ao ambiente, é o uso de espécies vegetais incorporadas ao substrato, conhecida como biofumigação e, ou, adubação verde, técnica a qual diversos autores citam resultados positivos no controle do patógeno, (D'ADDABBO et al., 2017; ESTUPIÑAN-LÓPEZ et al., 2017; HANDISENI et al., 2017).

Além do controle do fitonematoídeo, o uso de adubação verde é uma alternativa, no manejo do solo em sistemas agroecológicos, garantindo a fertilidade do solo (FARINA et al., 2018). Esse sistema vem sendo utilizado não só em culturas de ciclo curto, como também em culturas perenes como bananeira, cafeeiro entre outras, Lopes et al., (2012), ao avaliarem o manejo ecológico dos produtores de café do sul de Minas Gerais, com o uso de matéria orgânica no solo, sendo roçada da de plantas daninhas e a palhada do próprio cafeeiro, identificaram que estes, obtiveram resultados positivos no manejo de pragas, além de resultados positivos na produção cafeeira.

Neste cenário, a biofumigação com uso de folhas de plantas da Região Amazônica, torna-se uma alternativa no manejo sustentável do nematoídeo-das-galhas do cafeeiro. Assim, nesse sentido, Desta forma, objetivou-se neste trabalho a avaliação da incorporação de folhas de *Copaifera* sp. e *Vismia guianensis* para o controle do *Meloidogyne incognita* em mudas clonais de *Coffea Canephora*.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na Casa de Vegetação e Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Rondônia, localizada na Rodovia BR-364, Km 5,5, Zona Rural, Porto Velho-RO. Os inóculos do nematoídeo utilizado nos ensaios foram obtidos de populações coletadas no Campo experimental da Embrapa em Ouro Preto do Oeste. Estas populações foram identificadas através de eletroforese, utilizando o método de Carneiro e Almeida (2001) e multiplicadas em plantas de tomateiro 'Santa Cruz Kada', mantidas em casa de vegetação. Para a extração dos ovos dos nematoídeos, foi utilizado o método de HUSSEY e BARKER (1973), modificado por Bonetti e Ferraz (1981). Para tanto, as raízes foram trituradas em liquidificador em solução de hipoclorito 0,5% em água de torneira e o triturado foi peneirado em peneiras de 25, 400 e 500 mesh. Do que ficou retido na última peneira, se obteve a suspensão de ovos e juvenis de segundo estágio (J2).

Para obtenção das mudas para manutenção populacional do inóculo, sementes de hortaliças foram semeadas em bandejas de isopor, com substrato comercial. As mudas com idade de 30 dias foram transplantadas para vasos de polipropileno com capacidade para 8,0 litros, com substrato preparado 1:1:1, sendo solo, areia e vermiculita. A metodologia de extração do inóculo foi descrito acima.

Foram utilizadas folhas das plantas *Copaifera* sp. (*copaíba*) e *Vismia guianensis* (*lacre vermelho*), que foram coletadas no campo experimental da Embrapa-Rondônia. As coletas foram realizadas após aprovação no SisGen, e registradas sob o código de acesso n°. A7126B3. Estas foram realizadas no período de julho a agosto de 2018, dentro do Campo Experimental da Embrapa Rondônia em Porto Velho nas coordenadas geográficas (8° 53'20" de latitude Sul e 63° 06'40" de longitude Oeste de Grw). E os ensaios foram realizados dentro das Casas de Vegetação e laboratórios da Embrapa Rondônia, localizada no município de Porto Velho, RO.

Estas foram divididas em material vegetal seco e fresco. Para o tratamento seco, após a coleta em campo, as folhas foram secas em estufa por três dias a 60°C, após o processo de secagem, o material vegetal seco e também o fresco foram trituradas em moinho de facas, e pesadas até atingirem o peso de 500 gramas por vaso.

As mudas de cafeeiro foram produzidas no do Campo Experimental da Embrapa – RO, campus Ouro Preto do Oeste. Sendo mantidas em viveiro até 120 dias de idade, em substrato comercial, com irrigação constante de 6 mm de água por dia, com adubação foliar aplicada quinzenalmente. Foi utilizado o clone 125 de *Coffea canephora*, pertencente ao Banco de Germoplasma da Embrapa Rondônia.

Antes do plantio das mudas de café produzidas, as plantas trituradas, secas ou frescas, foram incorporadas ao substrato 62,5 gramas em cada litro de solo, 15 dias e um dia antes do plantio das mudas de cafeeiro. Foram utilizados como testemunha o nematicida de princípio ativo Carbofuran, na dose comercial (20mL/litro), Este controle químico foi aplicado somente no momento do transplântio das mudas, conforme recomendações agronômicas do fabricante.

Foram utilizadas também como testemunhas positivas plantas inoculadas com o patógeno e sem inoculação e sem incorporação de folhas.

A inoculação da suspensão de ovos+J2 foi realizada a partir de quatro perfurações de 3 cm de profundidade, realizadas no sentido do eixo cartesiano, tendo o caule da muda como centro, com auxílio de um bastão de vidro, Em cada perfuração foi inoculado 2,5 mL da suspensão.

Após 120 dias da inoculação, foram avaliados os parâmetros: fator de reprodução, obtido pela fórmula ($FR=PF/Pi$), número de ovos/ grama de raiz, o número total de ovos/ muda, o número de galhas/grama de raiz. O experimento foi conduzido em delineamento do tipo Inteiramente Casualizado com seis repetições, sendo parcela experimental representada por um vaso, contendo uma muda do clone 125. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias obtidas foram comparadas por teste de médias de Scott-Knott à 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir do ensaio realizado sob condições descritas anteriormente, é possível afirmar que, o tratamento de *Copaifera* sp., no qual as folhas foram incorporadas 15 dias fresco ao substrato, apresentou redução significativa para o parâmetro número de galhas por grama de raiz, diferindo dos demais tratamentos. Todavia vale destacar que os tratamentos de folhas do *Vismia guianensis* incorporados nos tempos 1 dia/ seco, 15 dias/seco e 15 dias/fresco, além do *Copaifera* 15 dias/seco, diferiram do resultado obtido pelo nematicida carbofuran, obtendo um menor N°G/gR (Figura 1).

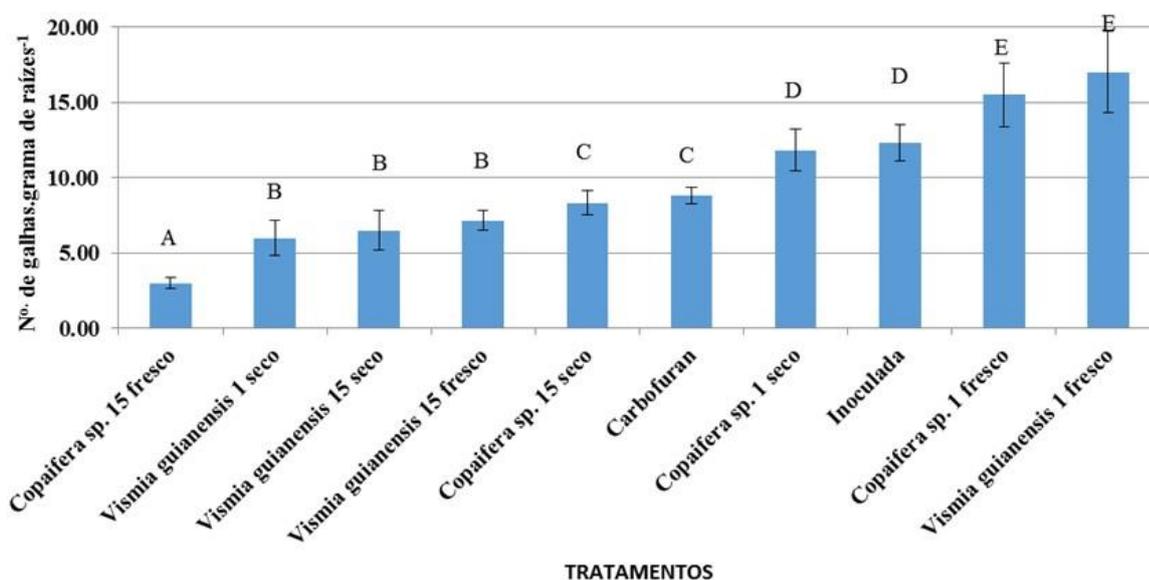


Fig. 1: Número de galhas de *M. incognita* por grama de raiz de mudas de *Coffea canephora*, (clone 125) inoculada com 5.000 ovos. Médias seguidas pelas mesmas letras, constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo teste de Scott-Knott a 5%.

A redução no número de galhas é um resultado interessante, pois a presença das mesmas nas raízes no sistema, privam o cafeeiro da absorção de água e nutrientes necessários ao seu desenvolvimento, interferindo no desenvolvimento e consequentemente na produção. Resultados similares ao descrito acima, foram observado também por Dias-Arieira et al., (2015), que, ao testarem bokashi e torta de crambe, reduziram o número de ovos e galhas por grama de raiz.

No presente experimento apresentado se observou que os tratamentos frescos aplicados apenas 1 dia antes do não tiveram resultados satisfatórios de redução do número de galhas, o que talvez possa ser explicado pelo fato de que esses materiais vegetais terem sido incorporados frescos e comum prazo menor para decomposição da matéria orgânica das folhas e liberação dos compostos. E possivelmente, isso por ter interferido na concentração final já que parte do peso aplicado por ter sido registrado sem levar em conta a água, pois os tratamentos divididos em material vegetal seco em estufa de circulação fechada, elimina o peso da umidade presente nessas folhas, além do tempo reduzido para sua decomposição e esses apresentaram efeito mesmo um dia antes.

No que tange ao efeito da incorporação das folhas na redução de ovos por grama de raiz, todos os tratamentos apresentaram potencial ovicida, principalmente o tratamento com *Vismia guianensis* 15 dias/seco, se destacando no controle deste parâmetro. Desses, os tratamentos *Copaifera* 1 dia/fresco e 15 dias/seco, também apresentaram potencial ovicida superior a testemunha carbofuran (Figura 2).

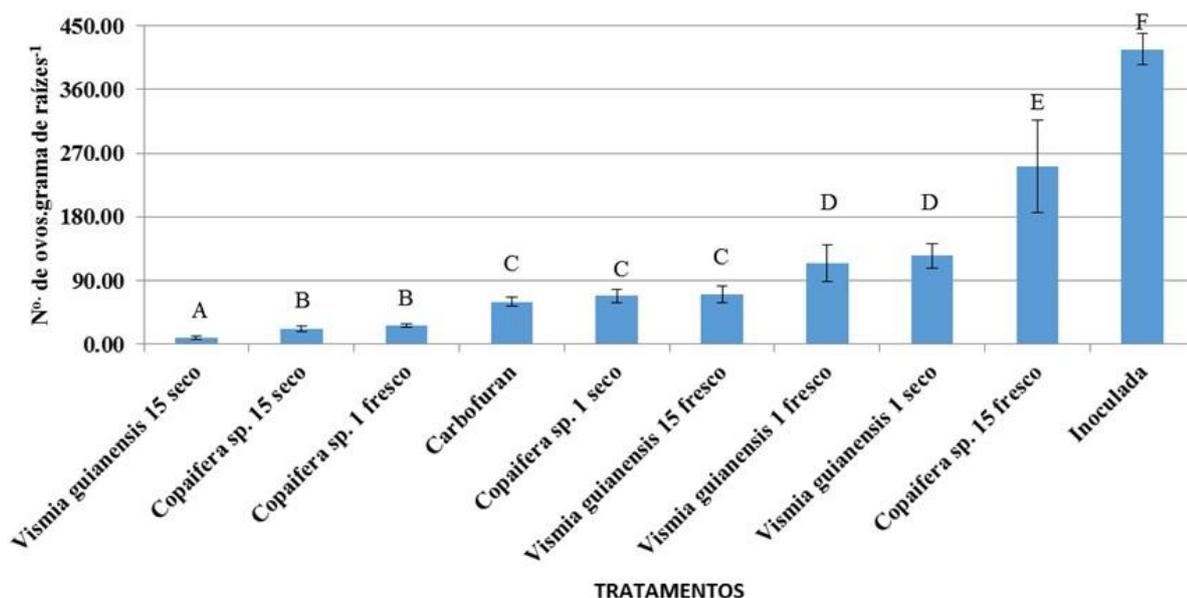


Fig. 2: Número de ovos de *M. incognita* por grama de raiz de mudas de *Coffea canephora*, (clone 125) inoculada com 5.000 ovos. Médias seguidas pelas mesmas letras, constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo teste de Scott-Knott a 5%.

É interessante observar que os tratamentos *Copaifera* 1 dia/fresco e *Vismia guianensis* 1 dia/fresco, apesar de resultado em maior número de galhas, apresentaram valores inferiores no número de ovos por grama de raízes, com destaque ao *Copaifera* 1 dia/fresco, com resultado inferior ao carbofuran. Essa discordância também foi notada por Dias-Arieira et al., (2010), em que o resultado do tratamento de efluente de repolho+mostarda concentrado, apesar de ter um resultado superior em número de galhas, apresentou menor número de ovos, a autora afirma que esses resultados podem se dar possivelmente devido a variável número de fêmeas que pode ocorrer no interior das galhas.

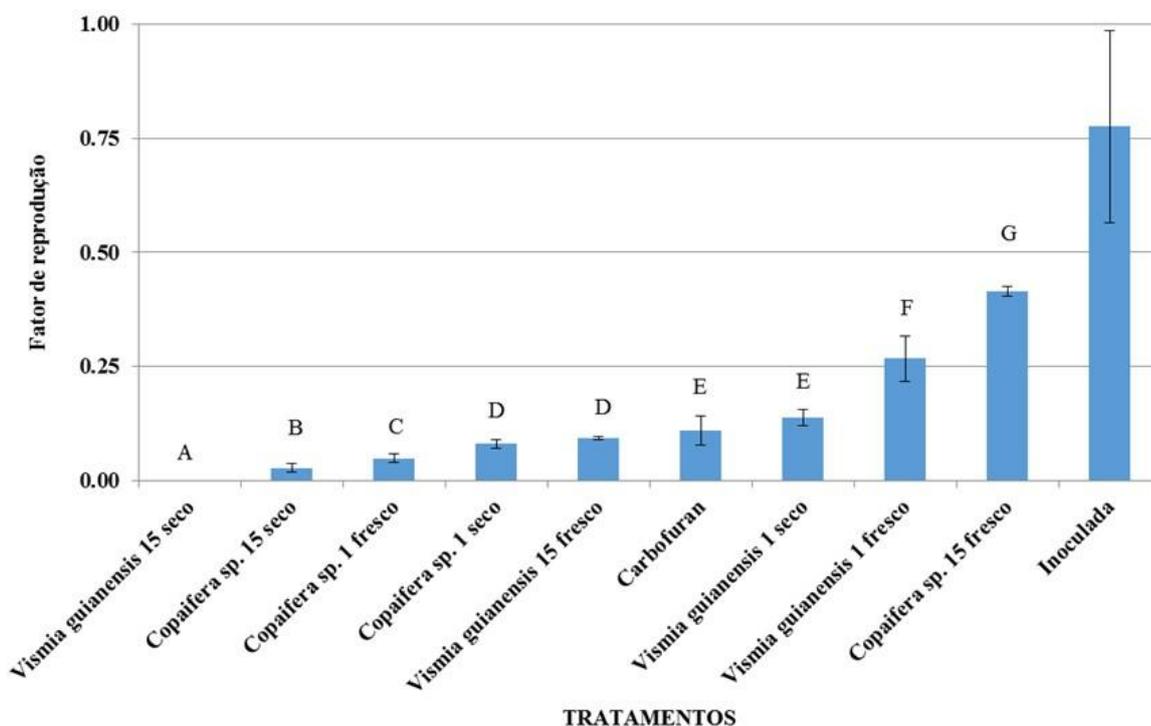


Fig. 3: Fator de Reprodução do *Meloidogyne incognita*, em *Coffea canephora*, c. 125 inoculada com 5.000 ovos. Médias seguidas pelas mesmas letras, constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo teste de Scott-Knott a 5%.

No que tange ao parâmetro fator reprodução o tratamento *Vismia guianensis* 15 dias/seco apresentou os melhores resultados do experimento, onde o número de ovos recuperados foi menor que o número de ovos inoculados, indicando que o fator de reprodução foi nulo., comprovando sua eficácia na mortalidade de ovos e na multiplicação do patógeno no substrato (Figura 3).

O *Azadiractha indica*, mais popularmente conhecido como neem, foi testado incorporado ao solo, e/ ou isoladamente com estrume animal, e Auwal et al. (2015), relatou que o tratamento de neem+estrume não diferiu do controle químico (furadan), todavia todos os tratamentos, apresentaram menor fator de reprodução que o controle. O mesmo foi observado no experimento com objetivo de testar o antagonismo de Java (leguminosa), em que obteve Fator reprodução do *M. Incognita* menor que 1, que demonstra a característica nematicida dessa espécie (MIAMOTO et al., 2018) e GARDIANO et al. (2013), ao testar seis espécies de inverno e onze espécies de verão, secas em estufas e incorporadas ao substrato, obtiveram resultado na redução significativa do fator de reprodução do nematoide em relação à testemunha, com valores inferiores a 1,0.

Vale salientar que todos os tratamentos testados, apresentaram valor no Fator reprodução menor que 1, o que confere com SANTOS et al., (2017), que identificou FR de 0,20, no BRS Ouro Preto clone 125, o mesmo usado no presente experimento.

Porém pesquisas por novas plantas existentes na região, que possam ser testadas, visando descobrir novos compostos químicos, com efeito nematicida, além de melhorar a fertilidade do substrato usado, torna-se uma possibilidade no manejo cafeeiro, todavia são poucos os artigos que evidenciam o uso da incorporação de espécies vegetais em *Coffea canephora*, no entanto os resultados encontrados neste experimento com uso de *Copaifera* sp. e *Vismia guianensis*, além dos autores citados acima, comprova que esse controle alternativo pode ser utilizado no controle da doença em mudas do cafeeiro, considerando a disponibilidade e da diversidade de espécies presentes que podem ser investigadas quanto ao seu potencial.

CONCLUSÃO

1 - Com base nos resultados apresentados, conclui-se que o tratamento *V. guianensis* 15 seco apresentou resultados significativos no N°Og/R e FR, podendo ser usado no manejo de nematoides em substratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA NETO, F.; DELPUPO, K. C.; SILVA, G. S.; GRAVINA, G. A.; MELO, M. P.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A. Folhas de girassol mexicano como alternativa no manejo de *Pratylenchus brachyurus* em quiabeiro. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, v. 44, n. 3, p. 267-270, 2018.
- BARROS, A. F.; CAMPOS, V. P.; SILVA, J. C. P.; LÓPEZ, L. E.; SILVA, A. P.; POZZA, E. A.; PEDROSO, L. A. Tempo de exposição de juvenis de segundo estágio a voláteis emitidos por macerados de nim e de mostarda e biofumigação contra *Meloidogyne incognita*. *Nematropica*, v. 44, n. 2, p. 190-199, 2014.
- BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v.6, n.3, p.553, 1981.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; RANDING, O.; ALMEIDA, M. R. A.; GONÇALVES, W. Identificação e Caracterização de Espécies de *Meloidogyne* em Cafeeiro nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, Através dos Fenótipos de Esterase e SCAR-Multiplex-PCR. *Nematologia Brasileira*, v. 29 (2): 233-241, 2005.
- Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira**, v. 5- Safra 2018, n. 1-Primeiro levantamento, Brasília, p. 1- 73, janeiro de 2018.
- D'ADDABBO, T.; ARGENTIERI, M. P.; RADICCI, V.; GRASSI, F.; AVATO, P. *Artemisia annua* compounds have potential to manage root-knot and potato cyst nematodes. *Crop Protection*, v. 80, p. 21-41, 2016.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; MATTOS, R. M.; SASSAKI, T. C.; PUERARI, H. H.; CUNHA, T. P. L.; BIELA, F.; CHIAMOLERA, F. M. Manejo de *Meloidogyne incognita* Utilizando Efluentes de Biodigestor à Base de Repolho, Mostarda, Alho e Pimenta. *Nematologia Brasileira*, v. 3, n. 2, p. 143-149, 2010.
- DIAS-ARIEIRA, C. R.; MATTEI, D.; PUERARI, H. H.; RIBEIRO, R. C. F. Use of organic amendments in the management of root-knot nematode in lettuce. *Horticultura Brasileira*, v. 33, p. 488-492, 2015.
- ESTUPINÃN-LÓPEZ, L.; CAMPOS, V. P.; SILVA, A. P.; BARROS, A. F.; PEDROSO, M. P.; SILVA, J. C.P.; TERRA, W. C. Volatile organic compounds from cottonseed meal are toxic to *Meloidogyne incognita*. *Tropical Plant Pathology*, v. 42, p. 443-450, 2017.
- FARINA, R.; TESTANI, E.; CAMPANELLI, G.; LETEO, F.; NAPOLI, R.; CANALI, S.; TITTARELLI, F. Potential carbon sequestration in a Mediterranean organic vegetable cropping system. A model approach for evaluating the effects of compost and Agro-ecological Service Crops (ASCs). *Agricultural Systems*, v. 162, p. 239-248, 2018.
- HANDISENI, M.; CROMWELL, W.; ZIDEK, M.; ZHOU, X.; JO, Y.; Use of brassicaceous seed meal extracts for managing root-knot nematode in *Bermudagrass*. *NEMATROPICA*, v. 47, n. 1, 2017.

- HMIMOU, A.; MASLOUHI, A.; TAMOH, K.; CANDELA, L. Experimental monitoring and numerical study of pesticide (carbofuran) transfer in an agricultural soil at a field site. **Comptes Rendus Geoscience**, v. 346, p. 255-261, 2014.
- HUSSEY, R. S. & K. R. BARKER. A comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, n. 12, p.1025-1028, 1973.
- PEREIRA, N. C. M.; MARISCAL, A. G.; NEPOCENO, K. L. P.; SILVA, V.C. C. R.; FERNANDES, H. M.; VIVI, V. K. Atividade antimicrobiana do óleo-resina de copaíba natural/comercial contra cepas padrão. **Journal Health NPEPS**, v. 3, n. 2, p. 527-539, 2018.
- SANTOS, J. L.; LEITE, O. D. Avaliação do Risco de Contaminação de Águas Subterrâneas na Região Oeste da Bahia pelo Inseticida Carbofuran, Empregando os Modelos Attenuation Factor (AF) e Retardation Factor (RF). **Orbital: The Electronic Journal of Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 28-35, 2016.
- SANTOS, A. V.; ROCHA, R. B.; FERNANDES, C. F.; SILVEIRA, S. F.; RAMALHO, A. R.; VIEIRA JÚNIOR, J. R. Reaction of *Coffea canephora* clones to the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. **African Journal**, v. 12, n.11, p. 916-922, 2017.
- VIEIRA JUNIOR, J. R.; FERNANDES, C. F.; MATOS, S. I.; FREIRE, T. C.; FONSECA, A. S.; MARREIROS, J. A. A.; ZEFERINO, D. M.; SILVA, D. S. G. **Levantamento da ocorrência de populações do nematoide-das-galhas-do-cafeeiro (*Meloidogyne* sp.) em Rondônia – primeira atualização**. Embrapa, Rondônia.