

**CONTROLE BIOLÓGICO E GENÉTICO DE *Meloidogyne exigua* EM DUAS CULTIVARES DE CAFÉ**

**Alex Lavado Tolardo**  
Eng. Agrônomo

**ALEX LAVADO TOLARDO**

**CONTROLE BIOLÓGICO E GENÉTICO DE *Meloidogyne exigua* EM  
DUAS CULTIVARES DE CAFÉ**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Gleina Costa Silva Alves

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas para obtenção do título de MESTRE.

Urutaí – GO  
2018



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA GOIANO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
PROTEÇÃO DE PLANTAS

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** Controle biológico e controle genético de *Meloidogyne exigua* em duas cultivares de café.

**AUTOR:** Alex Lavado Tolardo

Dissertação defendida e aprovada como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Proteção de Plantas.

**Banca Examinadora:**

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Gleina Costa Silva Alves (orientadora)  
Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí

Prof. Dr. Anderson Rodrigo da Silva  
Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí

Prof<sup>ª</sup>. Dra. Juliana de Oliveira Silva  
Universidade Federal de Goiás – Campus Samambaia

**Urutaí, 10 de dezembro de 2018**



ppgpp.urt@ifgoiano.edu.br



(64) 3465-1912

RODOVIA GERALDO S. NASCIMENTO,  
KM 2,5  
CEP 75790-000, URUTAÍ – GO  
[www.ifgoiano.edu.br/urutai](http://www.ifgoiano.edu.br/urutai)



**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/IF Goiano Campus Urutaí**

T676c Tolardo, Alex Lavado.

Controle biológico e genético de *Meloidogyne exigua* em duas cultivares de café / Alex Lavado Tolrado. -- Urutaí, GO: IF Goiano, 2018. 27 fls.

Orientadora: Doutora Gleina Costa Silva Alves

Dissertação (Mestrado Profissional em Proteção de Plantas) – Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, 2018.

1. Nematóides das Galhas. 2. *Coffea arabica*. 3. Bactérias.  
4. Fungos. 5. Fator de reprodução I. Alves, Gleina Costa Silva. II.  
Título.

CDU 631/635

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, à minha mãe Irene, ao meu pai Valdemir, minha irmã Aline, a minha noiva Camila, pela paciência e ajuda em todos os momentos dessa caminhada.

Este trabalho também é dedicado a agricultura brasileira que tanto faz por esse país, e ao curso Mestrado em Proteção de Plantas e todos os envolvidos no mesmo.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus em primeiro lugar por todas as coisas boas que me proporciona.

À Prof<sup>ª</sup>. Dra. Gleina Costa Silva Alves, pela confiança, pela oportunidade de trabalhar ao seu lado, e por toda sua orientação nessa caminhada.

À toda equipe de Docentes do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí.

Aos membros do Laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí.

À minha turma de Mestrado em Proteção de Plantas.

À toda a minha Família e Amigos.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	vii
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS.....	3
MATERIAL E MÉTODOS .....	4
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	7
CONCLUSÕES.....	16
REFERÊNCIAS .....	17

## RESUMO

*Meloidogyne exigua* é uma das espécies mais encontradas nas lavouras de café no Cerrado, tanto em áreas de produção mais antigas como em áreas recém formadas. Existem nematicidas registrados no MAPA para controle dessa espécie e algumas cultivares possuem resistência, contudo, o prejuízo causado ainda é relevante. Assim teve-se por objetivo nesse estudo avaliar a eficiência de agentes biológicos e o controle genético de *Meloidogyne exigua* em café. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Instituto Federal Goiano, Campus Urutaí, em delineamento inteiramente casualizado. Os tratamentos foram dispostos em fatorial em medidas repetidas 2x4 (duas cultivares, 4 nematicidas, e mais 2 testemunhas adicionais, os tratamentos foram compostos por dois genótipos: IAPAR Mundo Novo 376-4 e IPR-100 e três nematicidas biológicos *Bacillus methylothrophicus*, *Bacillus subtilis* e *Trichoderma asperellum* e 2 tratamentos que continham os 3 nematicidas juntos. Totalizando 8 tratamentos e duas testemunhas, com 6 repetições cada. As plantas foram inoculadas com 3780 ovos e J2 do respectivo nematoide. Durante 150 dias foram realizadas as seguintes avaliações mensais: a altura de planta, diâmetro de caule, número de pares de folhas e teores de clorofila. Ao final dos 150 dias após a inoculação (DAI) determinou-se a população final dos nematoides para cálculo do fator de reprodução. (FR = população final/população inicial), índice de massa de ovos e índice de galhas. Quanto ao F.R., foi observado que nos tratamentos com a cultivar IPR-100 o resultado foi baixo (<1) em comparação com o genótipo IAPAR Mundo Novo 376-4, mostrando o controle genético eficiente. Já nos tratamentos com o genótipo suscetível, apresentaram-se com elevado FR, variando de 2,64 a 5,68. Assim, os agentes de controle biológico demonstraram eficiência nos tratamentos quando comparados a testemunha. Para altura de plantas, diâmetro de caule, número de pares de folhas e teores de clorofila houve diferença significativa com variações dentro dos tempos avaliados. Concluiu-se que os agentes de controle biológico foram eficientes, ou seja, contribuíram para melhor desenvolvimento das plantas dentro dos dois genótipos. Para controle de *M. exigua* a mistura de nematicidas foi eficiente, porém fica claro que o controle genético foi mais eficiente.

**Palavras-chave:** Nematoide das Galhas; *Coffea arabica*; Bactérias; Fungos; Fator de reprodução.

## ABSTRACT

*Meloidogyne exigua* the most founding species in coffee plantations in Cerrado, both in areas from the production longer antiques the newly formatted areas. There are nematicides registered in MAPA to control this type and some cultivars are resistance, yet the losses moved even is relevant. The genetic method of analysis of biological agents and genetic control of *Meloidogyne exigua* in coffee. The experiment was carried out in a greenhouse at the Goiano Federal Institute, Campus Urutaí, in a completely randomized design. The new strategies were 2x4 replicate factories (two cultivars, 4 nematicides, and 2 additional reports, which were added by two genotypes: IAPAR Mundo Novo 376-4 and IPR-100 and three biological nematicides *Bacillus methylophilus*, *Bacillus subtilis* and *Trichoderma asperellum*, 6 and 6, with six replicates each, and three samples and eight samples containing 6 replicates each. Number of leaf pairs and chlorophyll content levels during the 150 days after inoculation (DAI), the final nematode population was determined to calculate the factor The results were compared with the results of IPR-100, the result was low ( $<1$ ) compared to the Mundo Novo 376-4 IAPAR genotype, showing the efficient genetic control, and in the controls for the purpose of verifying, decorating with the RF, varying from 2.64 to 5.68 Thus, the biological control agents demonstrated success in the treatments when compared to the control. The number of plants, stem diameter, number of leaf pairs and chlorophyll content were reduced, with study times evaluated. It was concluded that the biological control agents were efficient, that is, they contributed to the better development of the plants within the two genotypes. The control of *M. exigua* the nematicide mixture was efficient, but it is clear that the genetic control will be more efficient.

**Keywords:** Gall Nematode; *Coffea arabica*; Bacteria; Fungi; Reproductive factor.

## INTRODUÇÃO

O Brasil ocupa o primeiro lugar no ranking mundial de produção de café e o segundo lugar como maior consumidor. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento – CONAB, a estimativa para a produção da safra cafeeira em 2018 indica que o país deverá colher 58,04 milhões de sacas de café beneficiado. O resultado representa aumento de 29,1%, quando comparado com a produção de 44,97 milhões de sacas obtidas na safra passada (CONAB, 2018). A cultura do café no agronegócio brasileiro ocupa a 5ª posição no ranking das exportações, com participação de aproximadamente 5,4% na receita cambial, evidenciando sua importância socioeconômica (FERREIRA; EMBRAPA, 2018), gerando renda e empregos para o país.

Mesmo com diversas vantagens no setor agrícola, a cultura apresenta alguns problemas fitossanitários, os quais contribuem para a redução significativa da expressão e potencial produtivo nas lavouras. Os fitonematoides estão entre os principais problemas fitossanitários que acometem a cultura do cafeeiro, culminando em perda de produtividade e até a morte da planta, sendo responsáveis pelo declínio da cafeicultura (CONTARATO et al., 2014).

Entre as espécies de nematoides, os que mais acometem danos ao café no Brasil são os nematoides de galhas, *Meloidogyne exigua*, *Meloidogyne coffeicola*, *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne paranaensis*, devido à intensidade de ataques e grande agressividade, ocasionando grandes danos e prejuízos as plantas (OLIVEIRA et al., 2011). *Meloidogyne exigua* apresenta-se como destaque devido também a sua ampla distribuição geográfica no Brasil disseminando-se em cafezais das principais regiões produtoras, com destaque para o estado de Minas Gerais (GONÇALVES et al., 2004).

Com o intuito de reduzir o uso de defensivos agrícolas nas lavouras cafeeiras, estudos direcionados para desenvolvimento e emprego do controle biológico de nematoides na cultura do café estão sendo desenvolvidos (STIRLING, 2014). Os principais agentes de controle biológico de nematoides são fungos e bactérias (ARAÚJO, 2009).

Em estudos desenvolvidos com a utilização de microrganismos da rizosfera, conhecidos como rizobactérias, essas proporcionaram defesa da raiz contra o ataque aos fitonematoides (ARAÚJO, 2015). Outro benefício da utilização de rizobactérias é a promoção do crescimento das plantas, contribuindo com o desenvolvimento vegetal razão pela qual podem ser conhecidas pela sigla inglesa PGPR (Plant Growth- Promoting Rhizobacteria).

Como exemplo de PGPR tem-se *Bacillus subtilis* e *Bacillus methylotrophicus*. Em

culturas de grande importância agrícola, como tomate e cenoura, a utilização de estirpes de *Bacillus subtilis* foram constatadas como antagonistas de espécies de *Meloidogyne* spp. (LINFORD et al., 1938). *Bacillus methylotrophicus* também apresentou ação efetiva na redução de nematoides para ensaios em casa de vegetação e ensaios *in vitro*, (ZHOU et al., 2016).

Outros trabalhos apontam para o potencial do fungo *Trichoderma* spp. no controle biológico de fitonematoides. Dentre as possíveis interações, está a capacidade de colonização da massa de ovos gelatinosa formada por espécies de *Meloidogyne* spp. (SHARON et al., 2007). A estratégia do controle biológico possibilita a diminuição da densidade populacional do parasita no campo e equilibra a microbiota do solo, tornando-o supressivo ao patógeno (PADILHA e SAMUELL, 2000).

Em um experimento, (MATA et al., 2000) identificaram um genótipo de café da cultivar Catucaí (IAPAR Vit. 83), que deu origem à cultivar IPR-100, com 100% das plantas resistentes a *Meloidogyne paranaensis*. Nesse genótipo, eles à caracterizaram com boa produção e vigor vegetativo normal, e as outras cultivares que estavam no mesmo experimento não se desenvolveram bem, tendo apresentado baixíssima produção e vigor vegetativo, e foram, ainda, contabilizadas várias plantas mortas.

O controle biológico, aliado com boas características agronômicas de cultivares menos susceptíveis a esses nematoides apresenta uma série de vantagens para a cultura, pois é um método de manejo barato, de fácil aplicação, não contamina, não deixa resíduos e nem desequilibra o meio ambiente, garantindo e assegurando a sustentabilidade dos sistemas produtivos da cultura do cafeeiro (CARDOSO e ARAÚJO, 2011).

**OBJETIVOS**

Comparar o desempenho de produtos biológico e misturas sobre o controle de *Meloidogyne exigua* e o controle genético em duas cultivares de café arábica.

Comparar desempenho de características vegetativas em duas cultivares de café com o ataque de *Meloidogyne exigua* sob o efeito de quatro nematicidas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Instalação do experimento

O experimento foi instalado em setembro de 2017, no município de Urutaí - GO, no Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, Rodovia Geraldo Silva Nascimento Km-12,5 - Zona Rural, em casa de vegetação com sistema de irrigação por aspersão controlada. Local este entre as coordenadas, latitude 17°29'3.20"S, longitude 48°12'46.90"O, e com elevação de 723 m de altitude.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em medidas repetidas no tempo, em fatorial (2x4+2), onde foram utilizadas 2 cultivares de café IAPAR Mundo Novo 376-4 com características de susceptibilidade a todos os nematoides das galhas que atacam café, e de porte mais alto, e IPR-100 de características de resistência a *Meloidogyne paranaensis*. Foram aplicados 4 nematicidas biológicos e utilizadas 2 testemunhas adicionais.

Os ingredientes ativos e suas respectivas doses dos produtos utilizados no experimento se observa na Tabela 1.

**Tabela 1.** Tratamentos utilizados no experimento.

Tratamentos	Cultivar	Nematicidas	Doses (P.C. ha <sup>-1</sup> )
1	IPR 100	Testemunha	-
2	IPR 100	<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus methylotrophicus</i> + <i>Trichoderma asperellum</i>	250 mL + 250 mL + 150 g
3	IPR 100	<i>Bacillus subtilis</i>	250 mL
4	IPR 100	<i>Trichoderma asperellum</i>	150 g
5	IPR 100	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	250 mL
6	Mundo Novo 376-4	Testemunha	-
7	Mundo Novo 376-4	<i>Bacillus subtilis</i> + <i>Bacillus methylotrophicus</i> + <i>Trichoderma asperellum</i>	50 mL + 250 mL + 150 g
8	Mundo Novo 376-4	<i>Bacillus subtilis</i>	250 mL
9	Mundo Novo 376-4	<i>Trichoderma asperellum</i>	150 g
10	Mundo Novo 376-4	<i>Bacillus methylotrophicus</i>	250 mL

O ensaio foi montado sob três bancadas unificadas com total de 3 metros de comprimento por 1 metro de largura e altura de 1 metro do solo, para evitar qualquer tipo de contaminação via solo. Nessas bancadas foram colocados vasos de plástico PVC, com capacidade para cinco litros de substrato autoclavado com a composição de 50% de solo e 50% de areia média, areia esse adicionada ao solo para possibilitar melhor habitat para o nematoide.

As sementes de café (*Coffea arabica*) foram semeadas em sacos plásticos, em maio de 2017, com duas sementes por substrato, e após 50 dias foi feito o desbaste deixando apenas uma planta por substrato. Decorrente 180 dias, as mudas foram transplantadas para os vasos na casa de vegetação.

No mesmo dia do transplatio foram feitas as inoculações com 3780 ovos e/ou J2 de *Meloidogyne exigua* por planta, suspensão de 7 ml por planta. O valor utilizado de ovos e/ou juvenis de *M. exigua* se enquadra em um padrão de experimentos desse modelo, que ficam entre 1000 à 10000 ovos e/ou J2 de *M. exigua* por planta.

O inóculo oriundo de lavoura de café de 18 anos, no município de Araguari-MG. As raízes com galhas foram coletadas e separadas em duas amostras. Uma amostra foi enviada para o para o Laboratório da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia em Brasília-DF, para a identificação. A outra amostra seguiu para o Instituto Federal Goiano, campus Urutaí, para serem utilizadas como inóculo. A partir de raízes do café, foi feita a extração de ovos, por meio da técnica da trituração, em liquidificador, das raízes em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%. Em seguida, por meio da centrifugação em solução de sacarose, os ovos e os juvenis foram obtidos em água, livres de fragmentos de raízes e de outras impurezas (BONETTI E FERRAZ, 1981).

Após 30 dias de transplatio e da inoculação, foram aplicados os tratamentos nas plantas via pipeta volumétrica para simular uma aplicação drench utilizado no campo. Com volume de calda de 500 Litros ha<sup>-1</sup>.

Durante a condução do experimento, foi feita uma aplicação de inseticida, Curyom<sup>®</sup> 550 EC (Profenofós + Lefunuron) com dose de 500 mL ha<sup>-1</sup> e vazão de 300 L ha<sup>-1</sup>, via foliar para o controle de *Leucopetera cooffella*.

## **Avaliações**

Foram realizadas avaliações de altura de planta, diâmetro de caule, número de pares de folha, índice de clorofila aos 30, 60, 90, 120 e 150 dias após inoculação (DAI). Para tais avaliações usou-se régua, paquímetro e medidor de clorofila (IDClorofila), respectivamente.

Ao final dos 150 DAI foram feitas as avaliações nematológicas, onde cada vaso constituiu uma amostra para avaliação, de solo e raízes. Após a coleta, as amostras foram diretamente levadas ao Laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí para extração e quantificação.

No laboratório as raízes foram coloridas com FloxinaB (TIHOHOD, 1993) para avaliação de Índice de Galhas (IG) e Índice de Massa de Ovos (IMO). Após a coloração, a avaliação foi realizada utilizando a escala proposta por Hartman e Sasser (1895). Em seguida, foram realizadas as extrações de *Meloidogyne exigua*, utilizando o método Coolen e D'herde (1972), para extração das raízes. E para extração dos nematoides do solo, utilizou-se a metodologia de flutuação centrífuga em solução de sacarose, proposta por Jenkins, (1964).

A população de *M. exigua* foi quantificada através da observação em microscópio estereoscópico. As variáveis analisadas foram: Número total de *M. exigua* em solo e raiz e o fator de reprodução foi calculado:  $FR = Pf/Pi$  (FR: Fator de Reprodução; Pf: População final; Pi: População inicial). Se o FR for maior que 1 a cultivar é considerada suscetível, se o FR for menor ou igual a 1, a cultivar é considerada resistente (OOSTENBRINK, 1966).

### **Análises estatísticas**

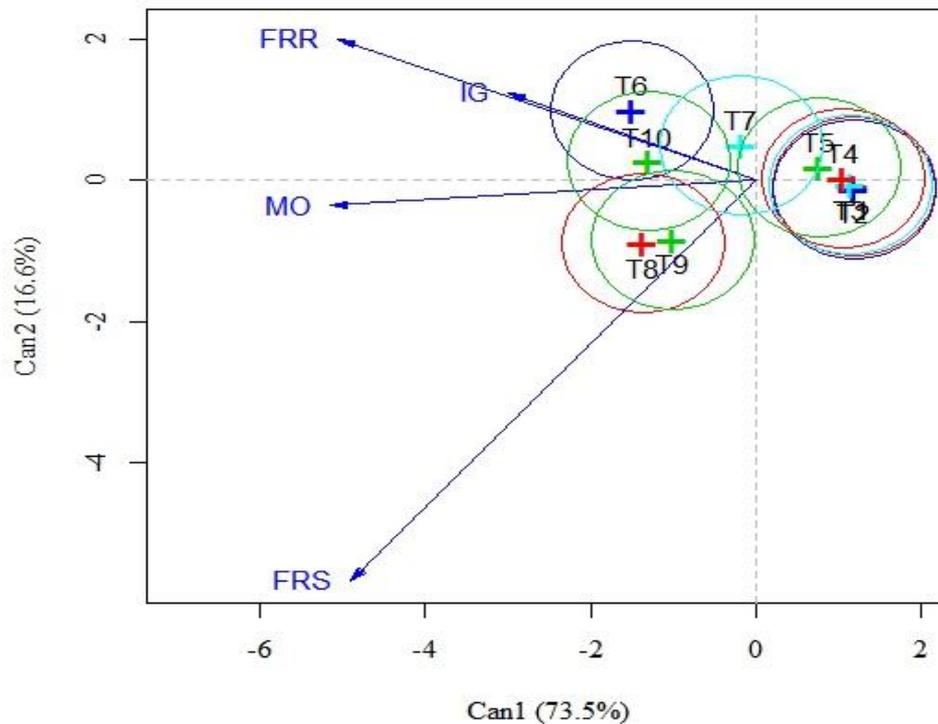
Os dados foram submetidos à ANOVA em esquema de medidas repetidas no tempo, em fatorial ( $2 \times 4 + 2$ ). Testou-se a normalidade residual dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk, e a homocedasticidade pelo teste de Bartlett, este que é considerado sensível em relação a hipótese de normalidade.

Aplicou-se o teste de Skott-Knott para comparações múltiplas entre as médias a 5% de significância. Os dados de fator de reprodução no solo e raiz (FRS e FRR), índice de massa de ovos (IMO) e índice de galhas (IG), Altura de Planta (AP), Diâmetro de Caule (DC), Número de Pares de folhas (NPF) e Teores de Clorofila (TC) foram submetidos a análise multivariada de variância (MANOVA). Diferenças entre os tratamentos foram estudadas por meio de Biplot para variáveis canônicas com elipses de 95% de confiança. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa R (R Core Team, 2018).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final dos 150 dias após a inoculação, foram feitas as análises nematológicas com as seguintes variáveis: Fator de reprodução no solo (FRS), fator de reprodução na raiz (FRR), índice de Galhas (IG) e índice de massa de ovos (IMO).

Foi constatado diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), onde nota-se na Figura 1, que T1(IPR-100 – Testemunha), T2(IPR-100 – *B. subtilis* + *B.methylophilicus* + *T. asperellum*), T3(IPR-100 - *Bacillus subtilis*), T4(IPR-100 - *Trichoderma asperellum*), T5 (IPR-100 - *Bacillus methylophilicus*) e T7 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *B. subtilis* + *B. methylophilicus* + *T.asperellum*), porém apenas o tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *B. subtilis* + *B. methylophilicus* + *T.asperellum*) que é um mistura de nematicidas biológicos foi significativamente igual aos tratamentos que continham a cultivar IPR-100. Antes mesmo da instalação do experimento, já se esperava um resultado superior aos demais, pela razão de sua resistência genética ao gênero *Meloidogyne* spp. Ou seja a mistura de nematicidas biológicos é tão bom quanto uma cultivar resistente nas mesmas condições, para controle de *Meloidogyne exigua*.



**Figura 1.** Biplot de scores médios de 4 variáveis canônicas sob o efeito de 10 tratamentos com elipses de 95% de confiança. FRR; Fator de reprodução na raiz. FRS; Fator de reprodução no solo, IMO; Índice de massa de ovos, IG; Índice de galhas. T1; Tratamento 1 (IPR100 – Testemunha) , T2; Tratamento 2 (IPR-100 – *B. subtilis* + *B.methylotrophicus* + *T. asperellum*), T3; Tratamento 3 (IPR100 – *B. subtilis*), T4; Tratamento 4 (IPR100 – *T. asperellum*), T5; Tratamento 5 (IPR100 – *B. methylotrophicus*), T6; Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 3764 – Testemunha) , T7; Tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis* + *B.methylotrophicus* + *T. asperellum*), T8; Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis*), T9; Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *T. asperellum*), T10; Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. methylotrophicus*),

Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – Testemunha), Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *Bacillus subtilis*), Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *Trichoderma asperellum*) e Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *Bacillus methylotrophicus*) também apresentaram igualdade estatística, porém se destacando-se como os piores tratamentos para controle de *M. exigua*.

Entretanto, ainda na Figura 1, o fator de reprodução na raiz (FRR) e índice de galhas (IG) apresentou-se maior para os tratamentos Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – Testemunha) e Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *Bacillus methylotrophicus*), enquanto o fator de reprodução no solo (FRS) apresentou-se mais abundante no Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 376-4 - *Bacillus subtilis*) e Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 376-4 - *Trichoderma asperellum*), já índice de massa de ovos (IMO) apresentou-se mediana entre

Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 376-4 - Testemunha), Tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *B. subtilis* + *B. methylotrophicus* + *T. asperellum*), Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 376-4 - *Bacillus methylotrophicus*), Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 376-4 - *Bacillus subtilis*) e Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 376-4 - *Trichoderma asperellum*), onde houve uma forte correlação positiva entre as variáveis de fator de reprodução na raiz e índice de galhas, ou seja, ambas crescem simultaneamente.

A utilização desses agentes biológicos usados no experimento é elevada, em razão à produção de substâncias nematotóxicas que alteram os exsudatos radiculares, interferindo em todo o ciclo do nematoide e por dificultar a localização das raízes, essas informações ficam correlacionadas com o Tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *B. subtilis* + *B. methylotrophicus* + *T. asperellum*) que se se igualou estatisticamente aos tratamentos da cultivar resistente (IPR100) isso mostra a capacidade de induzirem resistência sistêmica nas plantas (HIGAKI, 2012). Esses agentes produzem endotoxinas que interferem no ciclo reprodutivo dos nematoides, principalmente na oviposição e eclosão de juvenis.

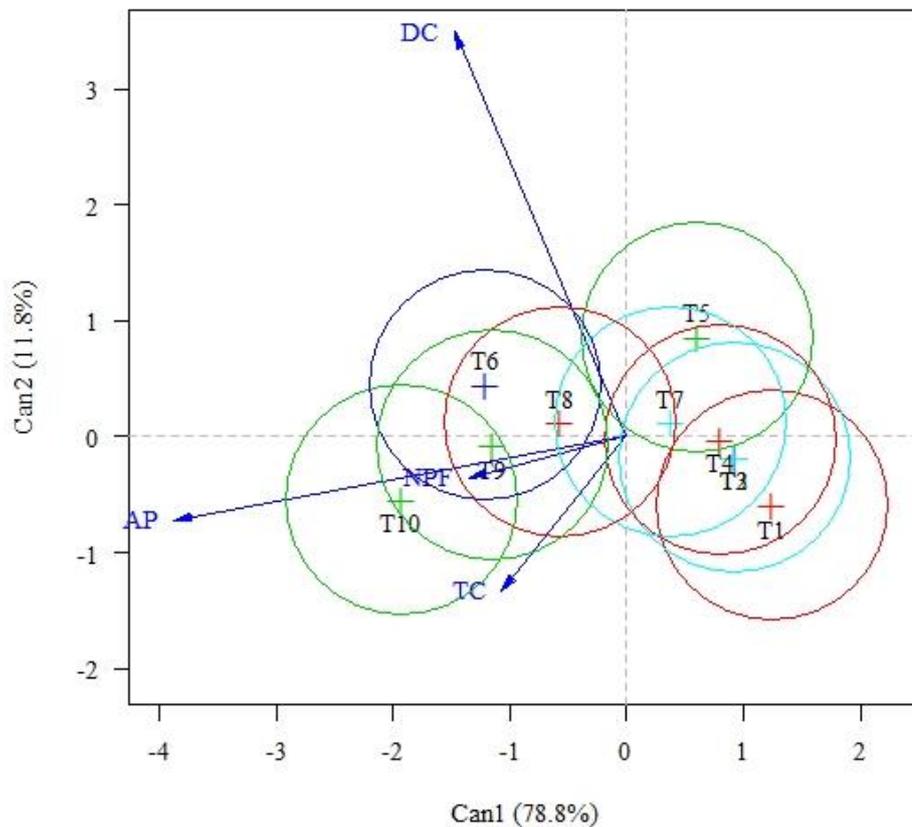
Entretanto Araújo et al. (2012), que avaliaram o controle biológico de *Meloidogyne* spp. com *B. subtilis*, e obtiveram uma redução significativa apenas de ovos e número de galhas nas raízes, não encontrou eficiência para J2. O controle biológico com *Trichoderma* sp. pode reduzir o número de aplicações de fungicidas sendo assim um ganho secundário associado a pratica de uso dos mesmos, dependendo das condições ambientais, da gravidade da doença, e do manejo da lavoura de café (GERALDINE et al., 2013).

Para que esses produtos biológicos sejam utilizados de forma viável, devem ser ambientalmente seguros além de serem eficientes na redução populacional dos fitonematoides. Desse modo, o controle genético fica como ferramenta mais viável, e com o melhor resultado em áreas com incidência de *Meloidogyne* spp. Ou o uso de três nematicidas biológicos associados em cultivares susceptíveis para ter a mesma eficiência.

Já para as demais avaliações (altura de planta, diâmetro de caule, número de pares de folhas e índice de clorofila) na primeira avaliação aos 30 dias (Figura 2), mostram que houve diferença significativa, porém com praticamente todas as elipses se cruzando, ou seja, as diferenças estatísticas foram determinadas por características específicas de cada cultivar no prazo de 30 dias. No entanto os tratamentos da cultivar IAPAR Mundo Novo 376-4 se separaram dos da cultivares IPR100.

Entretanto o tratamento 5 (IPR100 – *Bacillus methylotrophicus*) dentro do grupo de IPR 100, apresentou-se como o mais eficiente em diâmetro de caule, gerando incremento vegetativo.

Tratamento 1 (IPR100 – Testemunha) apresentando-se como o menos eficiente para as avaliações vegetativas.

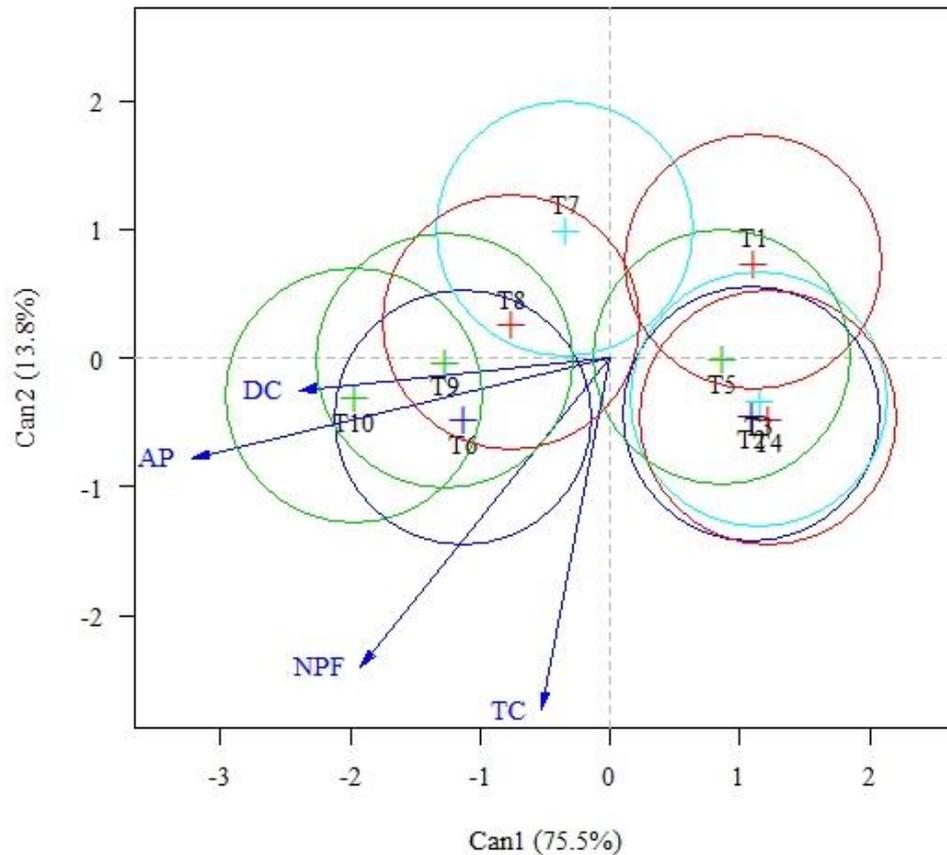


**Figura 2.** Biplot de scores médios de 4 variáveis canônicas sob o efeito de 10 tratamentos aos 30 dias após inoculação com elipses de 95% de confiança. FRR; Fator de reprodução na raiz. FRS; Fator de reprodução no solo, IMO; Índice de massa de ovos, IG; Índice de galhas. T1; Tratamento 1 (IPR100 – Testemunha), T2; Tratamento 2 (IPR-100 – *B. subtilis* + *B. methylotrophicus* + *T. asperellum*), T3; Tratamento 3 (IPR100 – *B. subtilis*), T4; Tratamento 4 (IPR100 – *T. asperellum*), T5; Tratamento 5 (IPR100 – *B. methylotrophicus*), T6; Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 3764 – Testemunha), T7; Tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis* + *B. methylotrophicus* + *T. asperellum*), T8; Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis*), T9; Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *T. asperellum*), T10; Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. methylotrophicus*),

No segundo tempo de avaliação aos 60 dias (Figura 3) observa-se que o tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *Bacillus methylotrophicus*) se apresenta como a maior altura de planta e diâmetro de caule, seguido dos outros tratamentos que continham a cultivar IAPAR Mundo Novo 376-4. E um segundo grupo se destaca como os piores rendimentos vegetativos, que são os que continham a cultivar IPR100, as características de menor desenvolvimento de planta ficam claras. Porém não por influência dos tratamentos biológicos aplicados e sim pelas

características do genótipo. Dentro das cultivares IPR100, o tratamento 1 (IPR100 – Testemunha) tem o menor rendimento quando comparado aos demais do grupo de cultivar, mostrando que os agentes de controle biológico geraram incremento vegetativos nos demais tratamentos.

Para tais efeitos de crescimento vegetativo, Bburkett-cadena et al., (2008) já havia avaliado os efeitos de *Bacillus* spp. na influência do crescimento das plantas, já que as plantas da cultivar IAPAR Mundo Novo 376-4 tiveram ataque mais severo do nematoide em questão, esse efeito de maior crescimento em altura, no tratamento 10, foi em decorrência da presença de ingrediente ativos do gênero *Bacillus*.

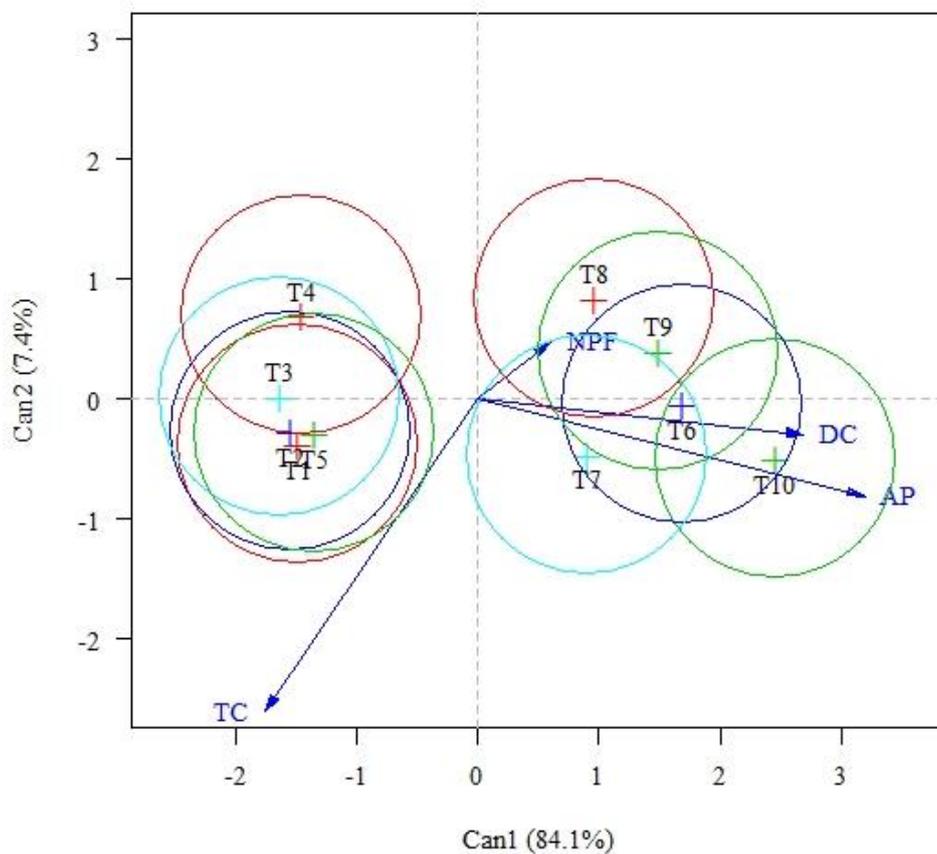


**Figura 3.** Biplot de scores médios de 4 variáveis canônicas sob o efeito de 10 tratamentos aos 60 dias após inoculação com elipses de 95% de confiança. FRR; Fator de reprodução na raiz. FRS; Fator de reprodução no solo, IMO; Índice de massa de ovos, IG; Índice de galhas. T1; Tratamento 1 (IPR100 – Testemunha) , T2; Tratamento 2 (IPR-100 – *B. subtilis* + *B.methylophilicus* + *T. asperellum*), T3; Tratamento 3 (IPR100 – *B. subtilis*), T4; Tratamento 4 (IPR100 – *T. asperellum*), T5; Tratamento 5 (IPR100 – *B. methylophilicus*), T6; Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 3764 – Testemunha) , T7; Tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis* + *B.methylophilicus* + *T. asperellum*), T8; Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis*), T9; Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *T. asperellum*), T10; Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. methylophilicus*).

Na terceira avaliação de características vegetativas aos 90 dias (Figura 4) os dois grupos de cultivares ficaram bem definidos, onde os da cultivar IPR100 mostram diferenças significativas para os da cultivar IAPAR Mundo Novo 376-4. Os tratamentos da mesma cultivar IPR100, foram todos estatisticamente iguais com os menores valores.

Já nos tratamentos do segundo grupo da cultivar IAPAR Mundo Novo 376-4, foi observado novamente o tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 376-4 – *Bacillus methylophilicus*) com o melhor resultado de altura de planta e diâmetro de caule, porem estatisticamente; igual aos demais tratamentos. Destaque também para o tratamento 7 (IAPAR

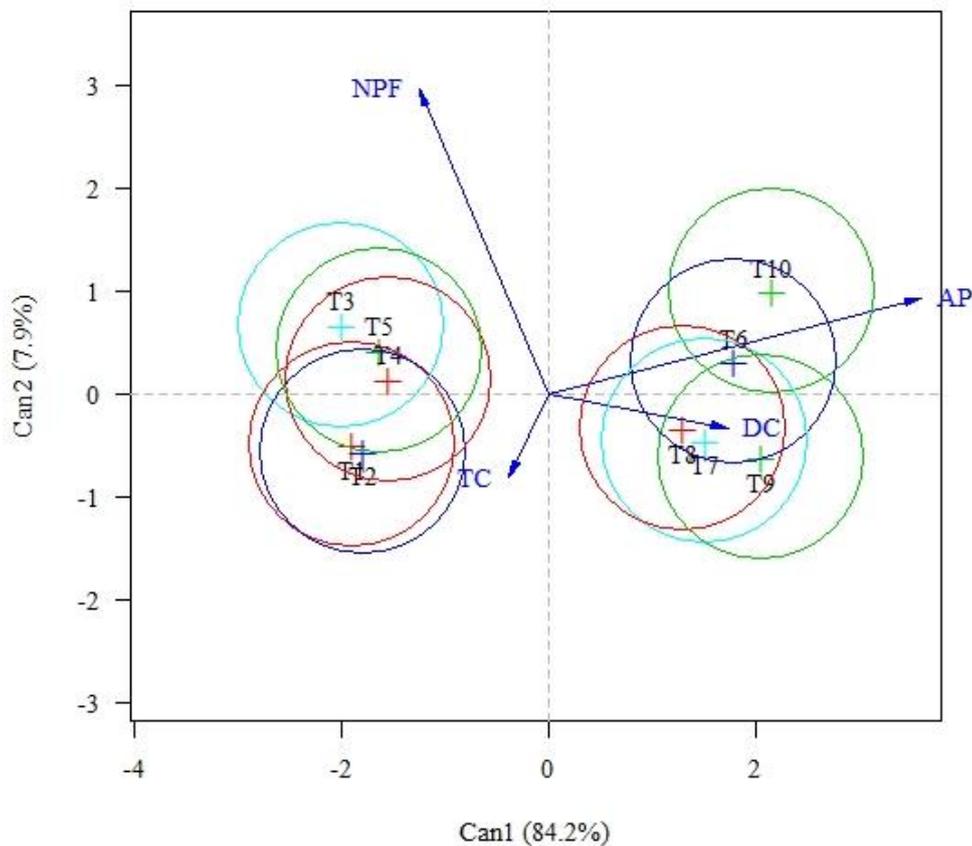
Mundo Novo 376-4 - *Bacillus subtilis* + *Bacillus methylotrophicus* + *Trichoderma asperellum*) que são uma mistura de nematicidas biológicos, que obteve o resultado mais expressivo para número de pares de folhas, altura de planta e diâmetro de caule. Mostrando que os agentes de controle biológicos incrementaram o desenvolvimento vegetativo.



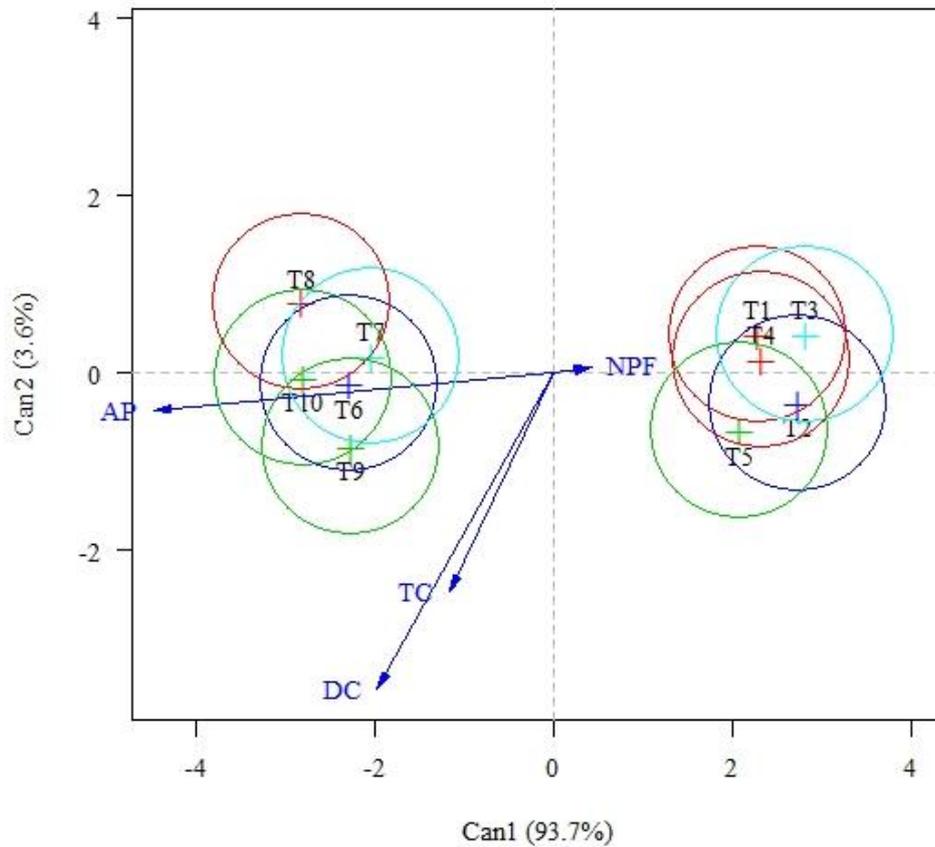
**Figura 4.** Biplot de scores médios de 4 variáveis canônicas sob o efeito de 10 tratamentos com elipses de 95% de confiança. FRR; Fator de reprodução na raiz. FRS; Fator de reprodução no solo, IMO; Índice de massa de ovos, IG; Índice de galhas. T1; Tratamento 1 (IPR100 – Testemunha) , T2; Tratamento 2 (IPR-100 – *B. subtilis* + *B. methylotrophicus* + *T. asperellum*), T3; Tratamento 3 (IPR100 – *B. subtilis*), T4; Tratamento 4 (IPR100 – *T. asperellum*), T5; Tratamento 5 (IPR100 – *B. methylotrophicus*), T6; Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 3764 – Testemunha) , T7; Tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis* + *B. methylotrophicus* + *T. asperellum*), T8; Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis*), T9; Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *T. asperellum*), T10; Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. methylotrophicus*).

Na avaliação de 120 DAI (Figura 5), a estabilização do crescimento das plantas começa, onde foi observado novamente 2 grupos, respectivamente os das cultivares IPR100 e IAPAR Mundo Novo 376-4, onde a única diferença significativa é desses grupos de cultivares, entre os tratamentos dentro da cultivar ambos foram estatisticamente iguais. Tratamentos que continham cultivares IAPAR Mundo Novo 376-4 apresentaram-se superiores em altura de

plantas e diâmetro de caule, já IPR 100 para numero de pares de folhas e teores de clorofila. Ou seja, os agentes de controle biológicos não mais influenciam no desenvolvimento das plantas. Isso se repete também na avaliação aos 150 DAI (Figura 6).



**Figura 5.** Biplot de scores médios de 4 variáveis canônicas sob o efeito de 10 tratamentos com elipses de 95% de confiança. FRR; Fator de reprodução na raiz. FRS; Fator de reprodução no solo, IMO; Índice de massa de ovos, IG; Índice de galhas. T1; Tratamento 1 (IPR100 – Testemunha) , T2; Tratamento 2 (IPR-100 – *B. subtilis* + *B.methylotrophicus* + *T. asperellum*), T3; Tratamento 3 (IPR100 – *B. subtilis*), T4; Tratamento 4 (IPR100 – *T. asperellum*), T5; Tratamento 5 (IPR100 – *B. methylotrophicus*), T6; Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 3764 – Testemunha) , T7; Tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis* + *B.methylotrophicus* + *T. asperellum*), T8; Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis*), T9; Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *T. asperellum*), T10; Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. methylotrophicus*).



**Figura 6.** Biplot de scores médios de 4 variáveis canônicas sob o efeito de 10 tratamentos com elipses de 95% de confiança. FRR; Fator de reprodução na raiz. FRS; Fator de reprodução no solo, IMO; Índice de massa de ovos, IG; Índice de galhas. T1; Tratamento 1 (IPR100 – Testemunha) , T2; Tratamento 2 (IPR-100 – *B. subtilis* + *B.methylotrophicus* + *T. asperellum*), T3; Tratamento 3 (IPR100 – *B. subitillis*), T4; Tratamento 4 (IPR100 – *T. asperellum*), T5; Tratamento 5 (IPR100 – *B. methylotrophicus*), T6; Tratamento 6 (IAPAR Mundo Novo 3764 – Testemunha) , T7; Tratamento 7 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subtilis* + *B.methylotrophicus* + *T. asperellum*), T8; Tratamento 8 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. subitillis*), T9; Tratamento 9 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *T. asperellum*), T10; Tratamento 10 (IAPAR Mundo Novo 3764 – *B. methylotrophicus*).

Com os resultados das avaliações vegetativas, as diferenças observadas devem-se ao mecanismo de ação dos agentes de controle biológico que podem ser por: competição, antibiose e parasitismo, (Demirci et al., 2011). Os microrganismos podem estimular o crescimento das plantas diretamente (isto é, através da produção de hormônios, fixação biológica de nitrogênio, solubilização do fósforo, aceleração processo de mineralização e produção de sideróforo) e indiretamente (através da indução de resistência sistêmica, a produção de antibióticos e antagonismo em relação a patógenos) (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2015).

## CONCLUSÕES

O efeito da resistência genética mostrou-se superior ao efeito dos nematicidas biológicos. Para o manejo de *Meloidogyne exigua* com a cultivar susceptível (IAPAR Mundo Novo 376-4), recomenda-se o uso da mistura de nematicidas (*Bacillus subtilis* + *Bacillus methylotrophicus* + *Trichoderma asperellum*), visando equiparar o manejo com a cultivar resistente (IPR100).

A associação com o controle por *Bacillus methylotrophicus* promove incrementos vegetativos dentro da cultivar IAPAR Mundo Novo 376-4 de forma mais evidente até os 90 dias após a inoculação.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F.F de. ***Bacillus subtilis*: Biocontrolador de fitonematoides**. 2015. Disponível em: <<http://www.revistacampoenegocios.com/>>. Acesso em: 28 maio. 2018.
- ARAÚJO, F.F. de; MARCHESI, G. V.P. **Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro**. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p.1558- 1561, ago. 2009.
- ARAÚJO, F.F.; BRAGANTE, R.J.; BRAGANTE, C.E. Controle genético, químico e biológico de meloidoginose na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.42, p.220-224, 2012.
- BONETTI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.6, n.3, p.553, 1981.
- BURKETT-CADENA et al. Suppressiveness of rootknot nematodes mediated by rhizobacteria. **Biological Control**, Amesterdã, v.47,p. 55-59, 2008.
- CARDOSO, R.B.; ARAÚJO, F.F. Multiplicação de *Bacillus subtilis* em vinhaça e viabilidade no controle da meloidoginose, em cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.15, p.1283-1288, 2011
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de café, Safra 2018: quarto levantamento**. Brasília, 2018. Disponível em:<<https://www.conab.gov.br/>> . Acesso em: 28 maio, 2018.
- CONTARATO, C. et al. Reaction of Cultivar *Coffee* 'Vitória INCAPER 8142' of Conillon to Parasitism of *Meloidogyne exigua*. **Idesia**, Arica, v.32, n.1, p.93-97, 2014.
- COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. **A method for the quantitative extration of nematodes from plant tissue**. **State Agriculture Research Center – GHENT**, Belgium. 1972. p.77.
- DALLEMOLE-GIARETTA et al. *Pochonia chlamydosporia* promotes the growth of tomato and lettuce plants. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá v.37, p.417-423, 2015.
- DEMIRCI, E.; DANE, E.; EKEN, C. In vitro antagonistic activity of fungi isolated from sclerotia on potato tubers against *Rhizoctonia solani*. **Turkish Journal of Biology**, Ankara, v.35, p.457-462, 2011.
- FERREIRA, L. T.; EMBRAPA. **Cafés do Brasil são exportados para 99 países e geram receita cambial de US\$ 808 milhões no primeiro bimestre de 2018**. 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/32735306/cafes-do-brasil-sao-exportados-para-99-paises-e-geram-receita-cambial-de-us-808-milhoes-no-primeiro-bimestre-de-2018>>. Acesso em: 01 out. 2018.
- GERALDINE, A.M. et al. Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. **Biological Control**, Amsterdã v.67, p.308-316, 2013.

GONÇALVES, W. et al. Manejo de nematoides na cultura do cafeeiro. In: REUNIÃO ITINIRANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO-CAFÉ, 10, 2004, Mococa. **Anais...** São Paulo: Instituto Biológico, 2004. p. 48-66.

HIGAKI, W.A. AND. *Bacillus subtilis* e abamectina no controle de nematoides e alterações fisiológicas em algodoeiro cultivado em solos naturalmente infestados. **Nematropica**, Florida, v.42, p.295-303, 2012

JENKINS W.R. **A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil.** Plant Disease Reporter, v.48 p.692, 1964

LINFORD, M. B.; YAP, F.; OLIVEIRA, J. M. Reduction of soil populations of root-knot nematode during decomposition of organic matter. **Soil Science**, New Brunswick, p. 127-141, 1938.

MATA, J. S. da; et al. Seleção para resistência ao nematoide *Meloidogyne paranaensis* EMN-95001: IAPARLN 94066 de "Catuaí x Icatu" em área altamente infestada. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1, 2000, Poços de Caldas. **Resumos expandidos.** Brasília: EMBRAPA, 2000. p. 515 – 518.

OLIVEIRA, D.S. et al. Characterization of *Meloidogyne incognita* populations from São Paulo and Minas Gerais state and their pathogenicity on coffee plants. **Tropical Plant Pathology**, Viçosa, v.36, n.3, p.190-194, 2011.

PADILHA, T. AND C.A. SAMUELL. Fungos nematófagos na redução da disponibilidade de larvas infectantes de nematoides *trichostrongilídeos*. **Controle Biológico.** Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000

R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 27 de setembro, 2018

SHARON, E. et al. Parasitism of *Trichoderma* on *Meloidogyne javanica* and role of the gelatinous matrix. **European Journal of Plant Pathology**, Gewerbestrasse, v.118 p.247-258, 2007.

STIRLING, G.R. **Biological control of plant-parasitic nematodes.** 2. ed, Sidney: 2014. 551 p.

TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada.** Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 1993. 372 p.

ZHOU, L. et al. Evaluation of bacterial biological control agents for control of root-knot nematode disease on tomato. **Crop Protection**, Reino Unido, v.84, p.8-13, 2016.