

EFEITOS DE FERTILIZANTES NITROGENADOS NA FORMAÇÃO DE GALHAS EM RAÍZES DE MUDAS DE CAFEIEIRO ATACADAS POR *MELOIDOGYNE EXIGUA* E NA ECLOSÃO DE SUAS LARVAS¹

JAIME M. DOS SANTOS², SILAMAR FERRAZ³ & LAEDE M. DE OLIVEIRA⁴

²CPATSA/EMBRAPA, 56300 PETROLINA, PE; ³Departamento de Fitopatologia e

⁴Departamento de Matemática, Universidade Federal de Viçosa, 36570 Viçosa, MG.
(Aceito para publicação em 10/09/81)

RESUMO

Estudaram-se os efeitos de sulfato de amônio, nitrocálcio, salitre-do-chile, uréia e nitrato de cálcio sobre a formação de galhas em raízes de mudas de caféieiro inoculadas com *Meloidogyne exigua*, bem como a influência desses fertilizantes sobre a taxa de eclosão de larvas do nematóide. À exceção do salitre-do-chile, todos os demais nitrogenados em estudo afetaram o número de galhas. Houve redução desse número com nitrocálcio e sulfato de amônio, e aumento com uréia e nitrato de cálcio, quando comparados à testemunha. Dentre os fertilizantes estudados, apenas o nitrocálcio reduziu a taxa de eclosão de larvas de *M. exigua*. O sulfato de amônio a estimulou e os demais não alteraram o processo. Muito embora o nitrocálcio e o sulfato de amônio tenham reduzido o número de galhas, não se constituem, na dosagem utilizada, numa apreciável medida de controle de *M. exigua*, porque o número médio de galhas, em ambos os tratamentos, foi muito alto.

(Fitopatologia Brasileira 6:457-463. 1981.)

¹ Parte do trabalho de Tese de Mestrado do primeiro autor, desenvolvida no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, MG.

ABSTRACT

Effects of N fertilizers on *Meloidogyne exigua* regarding gall formation in coffee roots and egg hatching.

The effect of N fertilizers on gall formation in coffee roots inoculated with *M. exigua* was studied under greenhouse conditions. A higher number of galls was found in plants fertilized with urea and calcium nitrate. Although plants fertilized with "nitrocálcio" (a commercial mixture of ammonium nitrate and dolomite limestone) and ammonium sulfate presented a lower number of galls, apparently, infestation was still high enough to cause as much damage to plants as in control (no N fertilization). Sodium nitrate did not have any effect on gall formation.

The effect of the same fertilizers on egg hatching was studied in the laboratory. Ammonium sulfate increased egg hatching, whereas "nitrocálcio" reduce it. No other fertilizer presented any effect on the hatching process.

(Fitopatologia Brasileira 6:457-463. 1981.)

INTRODUÇÃO

Embora a adubação nitrogenada exerça notável efeito sobre o crescimento de plantas, grande ênfase tem sido dada à sua interação com o desenvolvimento de doenças. Neste particular, já foram demonstradas as propriedades nematicidas de vários compostos nitrogenados (Eno *et al.*, 1955; Kimpinski *et al.* 1976; Oteifa, 1955; Walker, 1967, 1969 e 1971).

A reduzida penetração de *Heterodera tabacum* em raízes de plantas hospedeiras, após a fertilização, ou adição ao solo de material rico em celulose, foi associada a altos níveis de amônia e mudanças na acidez do solo (Miller & Wihrheim, 1966). Segundo Kimpinski *et al.* (1976), a aplicação de NH_4NO_3 em solos alcalinos (pH 8,0), em Cooke Plains, Austrália, teria aumentado o teor de NH_3 no solo, daí advindo a redução no movimento e na penetração *Pratyenchus minyus* em raízes de trigo.

Quanto a ação desses produtos sobre espécies de *Meloidogyne*, Johnson (1971) menciona que altas concentrações de nitrato de amônio (0,10 a 0,15%) no solo reduziram a severidade de ataque de *Meloidogyne* spp. em tomateiro. Não obstante, em culturas de milho, trigo-de-inverno e soja, Collins & Ro-

drigues-Kabana (1972) observaram aumento de população de *M. incognita* quando o nitrogênio foi suprido na forma de NH_4NO_3 em vez de leguminosa-de-inverno como adubo verde. Todavia, não constataram diferença significativa entre os tratamentos, quando plantas de *Gossypium hirsutum* foram utilizadas como hospedeiro.

Huber & Watson (1974) afirmaram que, embora haja larga faixa de interações entre o patógeno e seu hospedeiro, geralmente é a forma de nitrogênio disponível para um ou outro que altera a severidade da doença ou a resistência do hospedeiro, em vez da quantidade de nitrogênio aplicada. Segundo esses pesquisadores, o efeito de formas específicas de nitrogênio sobre a severidade de uma doença depende de muitos fatores, e não é o mesmo para todas as associações parasita-hospedeiro. Para o caso específico de doenças causadas por nematóides, afirmaram que o efeito do nitrogênio sobre a incidência e severidade da doença mostra-se diretamente relacionado com o desenvolvimento do patógeno, em vez do metabolismo do hospedeiro. Entretanto, Wallace (1973) menciona que, além do efeito direto, os fertilizantes podem afetar fitonematóides por intermédio da planta hospedeira ou, ainda, alterando a microflora do solo. De fato, tem sido observada a

influência da nutrição do hospedeiro sobre a severidade de doenças causadas por nematóides. Bird (1970) estudando o efeito de deficiência de nitrogênio sobre o crescimento de *Meloidogyne javanica*, em diferentes níveis de população, mostrou que a taxa de crescimento desse nematóide está relacionada com o estado nutricional da planta hospedeira. Ademais, segundo Krkpatrick *et al.* (1964), além do aspecto nutricional, qualquer condição fisiológica que altere o vigor da planta pode influenciar a taxa de desenvolvimento e reprodução de fitonematóides.

O presente trabalho relata os testes realizados com cinco fertilizantes nitrogenados e sua influência na formação de galhas em raízes de mudas de cafeeiro inoculadas com *M. exigua*, bem como a eclosão das larvas deste nematóide.

MATERIAL E MÉTODOS

Efeito dos fertilizantes nitrogenados sobre a formação de galhas.

Neste ensaio foram utilizados os fertilizantes sulfato de amônio, salitre-do-chile, nitrato de cálcio, uréia e nitrocálcio, na dosagem equivalente a 1,6 g de nitrogênio por vaso de 4 litros, segundo recomendação procedente da Seção de Café do Instituto Agrônomo de Campinas, SP, citada por Figueredo *et al.* (1974). No período, a temperatura média na casa-de-vegetação foi de aproximadamente 26°C.

Utilizou-se material de solo natural, coletado a uma profundidade de até 25 cm, em cafezal maciçamente atacado pelo nematóide, situado na Fazenda João do Mato, distrito de Belizário, no município de Muriaé, MG. A análise granulométrica desse material revelou 43% de areia grossa, 17% de areia fina, 13% de silte e 27% de argila. A análise química, por sua vez, forneceu os seguintes valores: pH = 4,7; 10ppm de P, 62 ppm de K; Ca⁺⁺ + Mg⁺⁺⁺ foram encontrados na

proporção de 1,2 e 0,7 eq. mg/100 cm³ de solo, respectivamente.

Com dez meses de idade as mudas foram plantadas em vasos de argila que continham o citado material. Concomitantemente, fez-se uma inoculação suplementar com 10 ml de uma suspensão de ovos de *M. exigua*, na concentração de 500 ovos/ml. Em seguida, os fertilizantes foram incorporados até 2 cm de profundidade, sendo que o tratamento testemunha não recebeu nenhum fertilizante. Os seis tratamentos foram dispostos no delineamento inteiramente casualizado, com dez repetições.

Trinta dias após a inoculação as mudas foram cuidadosamente retiradas dos vasos e transportadas para o laboratório, em sacos de polietileno. Com o auxílio de um contador de colônias tipo Spencer, modelo 3330, determinou-se o número de galhas por sistema radicular. Ao microscópio estereoscópico, com aumento de 20 x, foram feitas observações relativas à presença de fêmeas adultas e de ootecas.

Efeito dos fertilizantes nitrogenados sobre a taxa de eclosão de larvas de *Meloidogyne exigua*

Para a condução deste ensaio, utilizou-se uma "Câmara de eclosão", semelhante a descrita por Pereira *et al.* (1979), adotando-se o seguinte procedimento: os fertilizantes na mesma dosagem citada no ítem anterior foram misturados com areia tratada com brometo de metila a qual atravessara uma peneira com malhas de 2 mm. Vinte gramas da mistura foram transferidos para um coador de 6 x 3 cm, dotado de crivos de 1 mm², e forrados com um disco de papel tipo guardanapo, de 8 cm de diâmetro, cor branca, marca Katex. O tratamento testemunha recebeu 20 g de areia pura. O conjunto era colocado sobre um vidro de Siracuse, com água

destilada, de tal modo que a base do coador, apoiando-se sobre os bordos do vidro, propiciava o contato da mistura com a água, ficando os crivos a uma altura aproximada de 0,5 cm da face interna da base do vidro de Siracuse.

Pelo movimento ascendente da água contida no vidro de Siracuse a mistura era umedecida; depois de alguns minutos, completava-se o volume do vidro com o auxílio de uma piseta. Tinha-se, então, uma coluna contínua de água, da mistura à face interna da base do vidro, assemelhando-se, portanto, ao funil de Baermann. Verteu-se a seguir sobre a mistura, 1 ml de suspensão de ovos de *M. exigua*, na concentração de 670 ovos/ml. Em seguida, foram incubados em ambiente de laboratório, sobre uma mesa forrada com plástico e, sobre este, folhas de papel de jornal umedecidas. Para propiciar condições de escuro, foram cobertos com plástico preto. No decorrer do ensaio, a temperatura média do ambiente foi de aproximadamente 25°C.

Os seis tratamentos foram dispostos no delineamento inteiramente casualizados, com cinco repetições. Diariamente eram feitas contagens do número de larvas nos vidros de Siracuse. Essas suspensões eram, a seguir, descartadas, e idêntico volume de água era adicionado aos vidros. Após a oitava contagem, efetuou-se a extração das larvas que não atravessaram o papel, empregando-se o método da flutuação centrífuga em solução de sacarose (Jenkins, 1974). Procedeu-se, então, a análise de variância, com base na percentagem de larvas eclodidas, transformadas em $\log_e (P\%/100)$. As comparações entre os tratamentos foram feitas pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação aos efeitos dos fertilizantes sobre a formação de galhas em raízes de mudas de cafeeiro inoculadas com *M. exigua*,

a análise de variância revelou, pelo teste 'F', diferença significativa entre os tratamentos, ao nível de 1% de probabilidade. Pelo teste de Tukey, ao mesmo nível de significância (Tabela 1), à exceção do salitre-do-chile, todos os demais fertilizantes testados afetaram a formação de galhas, em relação à testemunha. O nitrocálcio e o sulfato de amônio inibiram a formação de galhas, sendo que, para o primeiro, esse efeito foi mais pronunciado. A uréia e o nitrato de cálcio, por outro lado estimularam a formação de galhas, em relação à testemunha, e, neste caso, o nitrato de cálcio foi mais eficiente.

No segundo ensaio, no qual se estudou o efeito dos citados fertilizantes sobre a taxa de eclosão de larvas do nematóide em apreço, a análise de variância evidenciou diferença significativa entre os tratamentos, ao nível de 1% de probabilidade. O teste de Tukey, ao mesmo nível de significância, revelou que o sulfato de amônio favoreceu a eclosão, ao passo que a uréia, o nitrato de cálcio e o salitre-do-chile não diferiram da testemunha. O nitrocálcio, por sua vez, reduziu a taxa de eclosão (Tabela 2).

O nitrato de amônio é o principal constituinte do nitrocálcio. Seu efeito sobre nematóides tem sido intensivamente estudado, provavelmente pelo fato de encarar as duas principais formas de nitrogênio assimiláveis pelas plantas, e portanto, são mais frequentes nos fertilizantes comerciais. A ação nematocida desse produto sobre espécies de *Pratylenchus*, foi demonstrada por alguns pesquisadores (Kirkpatrick et al., 1964; Walker, 1969 e 1971). Para o caso particular de espécies de *Meloidogyne*, os resultados obtidos são semelhantes aos relatados por Johnson (1971). Todavia, Collins & Rodriguez — Kabana (1972) observaram que o efeito de NH_4NO_3 sobre *M. incognita* variou de acordo com a espécie de planta envolvida, corroborando os relatos de Huber & Watson (1974). Quanto à influência do nitrocálcio sobre a taxa de eclosão de larvas de *M. exi-*

Tabela 1. Efeito de fertilizantes nitrogenados, na dosagem equivalente a 1,6 de N/vaso de 4 litros, sobre a formação de galhas em raízes de mudas de cafeeiro inoculadas com *Meloidogyne exigua*. Dados transformados em \sqrt{z} .

Tratamentos	Médias de dez repetições*
Nitrocálcio	17,07 a
Sulfato de amônio	17,33 b
Salitre-do-chile	17,68 c
Testemunha	17,76 c
Uréia	18,32 d
Nitrato de cálcio	18,50 e
C.V. (%)	0,54

* As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 2. Efeito de fertilizantes nitrogenados sobre a taxa de eclosão de larvas de *Meloidogyne exigua*. Dados transformados em $\log_e (P\%/100)$.

Tratamentos	Médias de cinco repetições*
Sulfato de amônio	24,25 a
Testemunha	18,70 b
Uréia	15,66 bc
Nitrato de cálcio	15,60 bc
Salitre-do-chile	14,92 bc
Nitrocálcio	12,45 c
C.V. (%)	14,09

* As médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 1% de probabilidade.

gua, os resultados obtidos estão de acordo com os relatos de Taylor & Sasser (1978). Outros pesquisadores têm afirmado que, sob condições de campo, determinados íons presentes na solução do solo podem influenciar a eclosão de larvas de nematóides (Clarck & Shepherd, 1966; Ellenby & Gilbert, 1958). Deve-se considerar, ademais, a influência de outros íons introduzidos com os fertilizantes, sobre a taxa de eclosão de larvas de *M. exigua*. Esta hipótese encontra suporte nos resultados de pesquisas realizadas por Lehman (1969). Com efeito, esse pesquisador constatou que os cátions Mg^{++} e NH_4^+ , quando comparados ao Ca^{++} , apresentaram efeito inibidor sobre a eclosão de larvas de *Heterodera glycines*. Como o nitrocálcio é uma mistura de nitrato de amônio com calcário dolomítico, é possível que tenha havido efeito de Mg^{++} , ou mesmo de Ca^{++} , além dos principais íons presentes, sobre a taxa de eclosão das larvas de *M. exigua*, propiciando, deste modo, menor número de galhas.

Os resultados obtidos, pertinentes à ação do sulfato de amônio, confirmam relatos de vários pesquisadores, que constataram as propriedades nematicidas da amônia (Eno *et al.* 1955; Lehman, 1969; Oteifa, 1955; Walker, 1967 e 1971). Esse produto, dentre as formas de nitrogênio comumente encontradas nos fertilizantes comerciais, tem-se destacado quanto ao aspecto de ação sobre nematóides de diferentes grupos. Quanto ao efeito do sulfato de amônio sobre a taxa de eclosão de larvas de *M. exigua*, os resultados sugerem que esse fertilizante favorece a eclosão de larvas do nematóide em apreço. Todavia, Eno *et al.* (1955) observaram que o nitrogênio, sob a forma amoniacal, reduziu a taxa de eclosão de larvas de outros fitonematóides.

Vários relatos mostraram as propriedades nematicidas da uréia (Mojtahedi & Lownsbery, 1976; Sinclair, 1975; Walker, 1971). Neste trabalho, entretanto, esse fertilizante favoreceu a formação de galhas em mudas de

cafeeiro parasitadas por *M. exigua*. Segundo Volk (1950), a uréia é altamente solúvel em água, e em áreas de alta precipitação pode ser lixiviada antes de sua conversão em amônia. Ademais, a concentração de NH_3 , ocorrendo em equilíbrio com outras formas de nitrogênio amoniacal, é uma função de pH (Weir *et al.*, 1972), e a uréia não tem efeito nematicida em condições de baixo pH. Como a irrigação dos vasos, neste trabalho, não foi totalmente controlada, e o pH do substrato avaliado ao final do experimento foi de 3,5 para o tratamento em questão, é provável que a interferência desses fatores tenha ocultado a ação nematicida do produto em foco. Por outro lado, a ação nematicida da uréia está condicionada à sua hidrólise enzimática, produzindo NH_4^+ e CO_2 (Mojta-

hedí & Lownsbey, 1976). Do processo participam, especialmente, as bactérias urease-positivas da microflora do solo que, via de regra, não se desenvolvem satisfatoriamente em condições de baixo pH. Considerando esses fatos, os resultados obtidos sugerem que o pH do substrato para o tratamento em questão teria retardado o processo enzimático favorecendo a eclosão e penetração de larvas do nematóide em estudo, o que, somado a um melhor crescimento de raízes em relação à testemunha, decorrente da fertilização, teria proporcionado maior número de galhas. Contudo, como a taxa de eclosão de larvas do nematóide em presença da uréia não diferiu da testemunha (Tabela 2), é provável que outros fatores estejam envolvidos no processo.

LITERATURA CITADA

- BIRD, A.F. The effect of nitrogen deficiency on the growth of *Meloidogyne javanica* at different population levels. *Nematologica* 16:13–21. 1970.
- CLARK, A.J. & SHEPHERD, A.M. Inorganic ions and the hatching of *Heterodera* spp. *A. appl. Biol.* 58:497. 1966.
- COLLINS, R.J. & RODRIGUEZ-KABANA, R. Influence of fertilizer treatments and crop sequence on populations of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Phytopathology* 62:802. (abstr.). 1972.
- ELLEENBY, C. & GILBERT, A.B. Influence of certain inorganic ions on the hatching of the potato root eelworm, *Heterodera rostochiensis* Wollenweber. *Nature*. Lond. 182:925–926. 1958.
- ENU, C.F.; BLUE, W.G. & GUOD, J.M. Jr. The effect of anhydrous ammonia on nematodes, fungi, bacteria, and nitrification in some Florida soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 19:55–58. 1955.
- FIGUEREDO, P.; HIROCE, R. & OLIVEIRA, D.A. Observações preliminares sobre a relação entre a omissão ou excesso de adubo nitrogenado, fosfatado e potássico e níveis de infecção de ferrugem em cafeeiro cultivado em vaso. In: CONGRESSO BRASILEIRO SOBRE PESQUISA CAFEEIRAS, 20 Poços de Caldas, set. 1974. Resumos. Rio de Janeiro, 1974. Instituto Brasileiro de Café, 1974. p. 121.
- HUBER, D.M. & WATSON, R.D. Nitrogen form and plant disease. *A. Rev. Phytopath.* 12:139–165. 1974.
- JENKINS, W.R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Dis. Reptr.* 48:696. 1964.

- JOHNSON, L.F. Influence of oat straw and mineral fertilizer soil amendments on severity of tomato root-knot. *Plant Dis. Repotr.* 55:1126-1129. 1971.
- KIMPINSKI, J.; WALLACE, H.R. & CUNNINGHAM, R.B. Influence of some environmental factors on populations of *Pratylenchus minyus* in wheat. *J. Nematol.* 8:310-314. 1976.
- KIRKPATRICK, J.D. VAN GUNDY, S. D. & MAI, W.F. interrelationships of plant nutrition growth and parasitic nematodes. *Plant Analysis and Fertilizer Problems.* 4:189-255. 1964.
- LEHMAN, P.S. Hatching responses of *Heterodera glycines* to hydrogen ion concentration and inorganic ions. *J. Nematol.* 1:14-15. (abstr). 1969.
- MILLER, P.M. & WIHRHEIM, S. Invasion of roots by *Heterodera tabacum* reduced by cellulosic amendments of fertilizer in soil. *Phytopathology* 56:890 (abstr.). 1966.
- MOJTAHEDI, H. & LOWNSBERY, B.F. The effects of ammonia-generating fertilizer on *Criconemoides xenoplax* in pot cultures. *J. Nematol.* 8:306-309. 1976.
- OTEIFA, B.A. Nitrogen source of the host nutrition in relation to infection by a root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Plant Dis. Reprtr.* 39:902-903. 1955.
- PEREIRA, L.V., FERRAZ, S. & OLIVEIRA, L.M. Efeito "in vitro" de três nematocidas carbamatos sobre a eclosão de larvas de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. *Fitopatologia Brasileira* 4:477-481. 1979.
- SINCLAIR, W.A. Plant-parasitic nematodes suppressed by urea fertilization in a forest nursery. *Plant Dis. Reprtr.* 59:334-336. 1975.
- TAYLOR, A.L. & SASSER, J.N. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne species*). North Carolina, International Meloidogyne Project, 1978. 111p.
- VOLK, G.M. Factors determining efficiency of cyanamid and uramon for weed control in tobacco plantbeds. *Soil Sci.* 69:377-390. 1950.
- WALKER, J.T. Popualtions of *Pratylenchus penetrans* relative to decomposing nitrogenous soil amendments. *J. Nematol.* 3:43-49. 1971.
- WALKER, J.T. & MAVRODINEANU, S. Effect of ammonia on *Pratylenchus penetrans*. *Phytopathology* 57:345-346. (abstr.). 1967.
- WALLACE, H.R. Nematode ecology and Plant Disease. New York, Edward Arnold, 1973. 228p.
- WEIR, B.L.; PAULSON, K.N. & LORENZ, O. A. The effect of ammoniacal nitrogen on lettuce (*Lactuca sativa*) and radish (*Raphanus sativus*). *Plant soil Sci. Soc. Am. Proc.* 36:462-465. 1972.