BACILLUS SUBTILIS NO CONTROLE BIOLÓGICO DA FERRUGEM E DO BICHO-MINEIRO NO CAFEEIRO

Viviane Cacefo, Fabio Fernando de Araújo

¹Universidade do Oeste Paulista, Mestrado em Agronomia, Presidente Prudente, SP. E-mail: viviane_cacefo@hotmail.com

RESUMO

A ferrugem e o bicho-mineiro destacam-se como principais problemas fitossanitários da cultura do café. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do controle biológico da ferrugem e do bicho-mineiro no cafeeiro em função da pulverização foliar de *Bacillus subtilis* e estrobilurina nas plantas. Foram utilizadas plantas das cultivares Icatu e Mundo Novo que já apresentavam incidência da doença e presença da praga. Como estratégia de controle foram realizadas aplicações de um produto biológico a base de bactérias da espécie *Bacillus subtilis*, e um fungicida convencional do grupo químico das estrobilurinas. Após as pulverizações foram coletadas folhas para avaliação visual da severidade da ferrugem e do bicho-mineiro de acordo com escalas diagramáticas. A bactéria *Bacillus subtilis* atuou de forma eficaz no controle da ferrugem do cafeeiro nas duas variedades, porém com menor eficácia que o fungicida. Em relação ao bicho-mineiro, apenas o fungicida apresentou maior eficácia de controle, nas duas variedades de café.

Palavras-chave: biocontrole; *Coffea arabica*; indução de resistência; patógenos; rizobactéria.

***Bacillus subtilis* IN BIOLOGICAL CONTROL OF *Hemileia vastatrix* AND *Leucoptera coffeella* IN COFFEE**

ABSTRACT

The *Hemileia vastatrix* and *Leucoptera coffeella* stand out as major disease problems of the coffee culture. This study aimed to evaluate the efficiency of biological control of *Hemileia vastatrix* and *Leucoptera coffeella* in the coffee according to the foliar spray of *Bacillus subtilis* and strobilurin in plants. Plants were of Icatu and Mundo Novo cultivars who already had the disease incidence and insect. As a control strategy were applied to a biological product based on the bacteria *Bacillus subtilis* species, and a conventional fungicide chemical group of strobilurins. After spraying were collected leaves for visual assessment of *Hemileia vastatrix* and *Leucoptera coffeella* severity in accordance with diagrammatic scales. The *Bacillus subtilis* acted effectively in control of coffee *Hemileia vastatrix*, but it was less effectively than the fungicide in two varieties. For *Leucoptera coffeella* control, only the fungicide showed greater effectiveness for both varieties.

Keywords: biocontrol; *Coffea arabica*; induced resistance; pathogens; rhizobacterium.

INTRODUÇÃO

O café é uma cultura perene de clima tropical, pertencente à família Rubiaceae e ao gênero *Coffea* que engloba várias espécies, sendo a *Coffea arabica* e a *Coffea canephora* as de maior interesse econômico, constituindo 70% e 30% da produção mundial, respectivamente, onde pelo cruzamento dessas espécies são desenvolvidas diversas cultivares, como Icatu e Mundo Novo, muito utilizadas em cultivos brasileiros (OLIVEIRA et al., 2012). A cultura do café ocupa mais de dois milhões de hectares no Brasil, sendo que Minas Gerais é o estado que concentra a maior área, e o Espírito Santo fica na segunda posição. Na safra, a colheita fica em torno de 46 milhões de sacas de 60 quilos de café beneficiado em todo o país (CONAB, 2014).

A cultivar Icatu apresenta características mais rústicas, porte alto, copa com maior diâmetro, crescimento vigoroso, maturação média a tardia e moderada resistência a ferrugem e a seca, além de ser muito utilizada como forma de bebida expressa. Já a Mundo Novo apresenta porte, vigor e longevidade alta, com maturação média e suscetibilidade a ferrugem, além de apresentar ótima qualidade de bebida (GUERREIRO FILHO et al., 2006). Ambas cultivares tem excelente adaptação nas regiões brasileiras produtoras de café (CARVALHO et al., 2006).

A ferrugem do cafeeiro se destaca como a principal doença da cultura devido aos grandes prejuízos causados. É uma doença foliar, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, que inicialmente causa manchas cloróticas na parte inferior da folha e com o tempo vai se espalhando por todo o limbo da folha, formando manchas maiores de coloração amarelo-laranja, levando a morte dos tecidos afetados (MAIA et al., 2009).

Com relação às pragas, o bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) é o maior causador de danos nos cafezais brasileiros. Como seu próprio nome diz a lagarta forma minas nas folhas, destruindo-as e levando a uma drástica diminuição da taxa fotossintética das plantas (CONCEIÇÃO, 2005).

O controle das pragas e doenças é praticamente todo voltado ao uso de produtos químicos. Os fungicidas do grupo químico das estrobilurinas são muito utilizados no controle da ferrugem no café. Apresentam modo de ação sistêmico, sendo que atuam diretamente nas mitocôndrias, que são organelas responsáveis pela respiração celular. Assim, ocorre inibição da respiração, e o fluxo de elétrons que resulta na produção de energia é interrompido, sendo que o fungo não consegue liberar esporos (BÓCOLI, 2008).

O controle biológico vem ganhando espaço a fim de minimizar o emprego desses produtos químicos como os fungicidas e inseticidas, a fim de diminuir impactos ambientais e custos na produção. É uma forma de controle que visa diminuir os inóculos e as atividades dos patógenos por meio de agentes naturais, que ativam a defesa das plantas (COSTA et al., 2007).

A bactéria *Bacillus subtilis* é um agente de biocontrole bastante utilizado por agir de forma antagonista, liberando substâncias tóxicas que agem e competem com os patógenos. Essa espécie já foi avaliada como antagonista de diversos fungos fitopatogênicos, em condições controladas (KUPPER et al., 2009; FIGUEIREDO et al., 2010). Além disso, esse microrganismo promove o crescimento das plantas, demonstrando ser muito versátil e eficiente no controle de doenças e no desenvolvimento das culturas (GRIGOLETTI JÚNIOR et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do controle biológico da ferrugem e do bicho-mineiro no cafeeiro em função da pulverização foliar com *Bacillus subtilis* e estrobilurina nas plantas.

METODOLOGIA

O experimento foi conduzido na área experimental do Campus II da UNOESTE – Universidade do Oeste Paulista de Presidente Prudente/SP, no período de outubro de 2013 a junho de 2014. No local é realizado o cultivo de café há sete anos com três cultivares: Mundo Novo, Icatu e Obatã, sendo que apenas as cultivares Mundo Novo e Icatu foram utilizadas nesse estudo e já apresentavam incidência natural de ferrugem e bicho-mineiro. As análises de quantificação da severidade das enfermidades nas folhas de café foram realizadas no Laboratório de Fitopatologia da UNOESTE.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com distribuição em arranjo fatorial de duas cultivares, três tratamentos (bactéria, fungicida e controle) e quatro repetições, totalizando 24 parcelas. Cada repetição foi representada por duas plantas de café devidamente etiquetadas com o nome da cultivar e tratamento para identificação.

Como estratégia de controle foi utilizada a aplicação de um insumo biológico a base de bactérias da espécie *Bacillus subtilis*, em suspensão líquida, com concentração de $1,0 \times 10^9$ cel/mL e um fungicida convencional do grupo químico das estrobilurinas (produto comercial AMISTAR® WG). O tratamento controle não recebeu nenhuma pulverização. Foram realizadas quatro pulverizações foliares mensais com os produtos utilizando-se pulverizador costal, pressão constante e acionamento manual. A cada pulverização foi utilizada a dosagem de 5 L de água com 50 mL de bactéria e para o fungicida 5 L de água com 1,25 g do produto, sendo conduzida a primeira pulverização em outubro de 2013.

A severidade de ferrugem e do bicho-mineiro no café foram avaliadas após todas as pulverizações. As avaliações foram realizadas em oito ramos plagiotrópicos por planta, sendo quatro ramos de cada lado da linha de plantio, no terço médio das plantas, e em cada ramo foi

avaliado o terceiro ou quarto par de folhas. A quantificação da severidade da ferrugem foi feita de acordo com a escala diagramática proposta por Cunha et al. (2001), estabelecendo notas de 0 a 5, sendo 0 (ausência de doença), 1 (< 3% de severidade), 2 (de 3 a 6% de severidade), 3 (de 6 a 12% de severidade), 4 (de 12 a 25% de severidade) e 5 (de 25 a 50% de severidade). Já a quantificação da severidade do bicho-mineiro foi realizada de acordo com escala diagramática proposta por Vieira Júnior et al. (2011), representada de A a F, sendo A = 0,5%, B = 2%, C = 5%, D = 10%, E = 15% e F = 25% de severidade. O cálculo da porcentagem de controle da doença e da praga mediante os tratamentos com a bactéria e o fungicida foi baseada no tratamento controle, comparando os valores da severidade com a testemunha.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F através do programa estatístico SISVAR, e quando significativas, às médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS

De acordo com a Tabela 1, os resultados de F na análise de variância foram significativos para tratamento e variedade na ferrugem, e no bicho-mineiro apenas tratamento obteve resultado significativo.

Tabela 1. Valores de F da análise de variância.

F.V.	Ferrugem	Bicho-mineiro
Tratamento	52,05**	8,46**
Variedade	8,78**	2,19
TratamentoXVariedade	0,21	0,20
C.V.	12,36	24,29

*5% de probabilidade **1% de probabilidade.

Os resultados apresentados mostram que o emprego do controle químico e biológico foram efetivos para a redução da ferrugem no cafeeiro (Tabela 2). A cultivar Icatu apresentou-se como de maior resistência ao patógeno e mais responsiva aos tratamentos efetuados. Os tratamentos efetuados nas duas cultivares apresentaram valores significativos de controle, sendo que *Bacillus subtilis* apresentou um desempenho inferior ao controle proporcionado pelo fungicida.

Tabela 2. Efeito da aplicação de *Bacillus subtilis* e fungicida (estrobilurina) no controle da ferrugem em duas variedades de cafeeiro. Valores estabelecidos por escalas de notas e porcentagem de controle.

Tratamentos	Icatu	% de controle*	Mundo Novo	% de controle*
Testemunha	2,95 a		3,20 a	
Fungicida	1,40 c	53%	1,77 c	45%
<i>B. subtilis</i>	2,22 b	24%	2,66 b	17%
Médias	2,19 B		2,54 A	

Valores seguidos da mesma letra, nas colunas e na linha de médias, não apresentam valor significativo entre si pelo Teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. *comparada à testemunha.

Na avaliação do controle do bicho-mineiro do café (Tabela 3), os resultados não diferiram entre si, tanto entre as duas cultivares quanto ao tratamento com *Bacillus subtilis* em relação à testemunha e ao fungicida. Apenas o tratamento com fungicida obteve controle do bicho-mineiro, mostrando um efeito secundário de ação sobre a praga, onde o fungicida pode ter proporcionado um ambiente desfavorável ao desenvolvimento da praga, resultando em uma nova estratégia de controle que exige mais estudos para consolidação.

Tabela 3. Efeito da aplicação de *Bacillus subtilis* e fungicida (estrobilurina) no controle do bicho-mineiro em duas variedades de cafeeiro. Valores estabelecidos por escalas de notas e porcentagem de controle.

Tratamentos	Icatu	% de controle*	Mundo Novo	% de controle*
Testemunha	0,10 a		0,09 a	
Fungicida	0,06 b	40%	0,05 b	45%
<i>B. subtilis</i>	0,09 ab	10%	0,07 ab	23%
Médias	0,08 A		0,07 A	

Valores seguidos da mesma letra, nas colunas e na linha de médias, não apresentam valor significativo entre si pelo Teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. *comparada à testemunha.

DISCUSSÃO

A maior resistência da cultivar Icatu também foi evidenciada por Montes et al. (2012), onde na avaliação da ferrugem no cafeeiro, a severidade da doença foi menor nas cultivares Icatu e Obatã. Essa cultivar é um híbrido obtido do cruzamento de *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, tendo herdado de *C. canephora* a resistência maior a ferrugem (BOTTCHEER et al., 2012). Martins et al. (2004), comparando agroecossistemas plantados com cultivares resistentes e suscetíveis à ferrugem em Minas Gerais, observaram que a cultivar Icatu não atingiu o nível de dano da doença,

ao contrário das outras cultivares suscetíveis que ultrapassaram o nível de dano. De acordo com Botelho et al. (2007), a população dessas cultivares apresenta um germoplasma de grande importância nos programas de melhoramento visando resistência à ferrugem.

O desempenho inferior do *Bacillus subtilis* ao controle proporcionado pelo fungicida reafirma o que foi relatado por Dorighello (2013), que ao utilizar isolados de *B. subtilis* QST 713 e AP-3 no controle da ferrugem asiática da soja, observou uma redução significativa da germinação dos uredosporos, e que nos ensaios de campo os tratamentos com fungicidas sozinhos ou associados com a bactéria se destacaram na redução da severidade da doença e da desfolha. Angonese et al. (2009) mostraram em um estudo sobre o efeito fungitático de *Bacillus* spp., que os isolados dessa bactéria ou moléculas liberadas por elas, têm potencial para serem utilizados no manejo integrado de doenças de plantas, associado por exemplo, ao uso de fungicidas, investindo na rotação do uso de produtos com diferentes modos de ação, evitando que aconteça uma resistência do patógeno, garantindo maior segurança para o sistema de produção.

Tofoli et al. (2002), em um trabalho com azoxystrobin no controle da ferrugem do cafeeiro sob condições de chuva induzida, mostraram o potencial dos fungicidas do grupo químico das estrobilurinas no controle da ferrugem sob condições adversas, além da promoção de menores índices de desfolha, fator importante na manutenção da planta e produtividade de futuras safras. Estudando o controle da ferrugem do trigo com diferentes fungicidas, Navarini e Balardin (2012) concluíram que o controle efetivo dessa doença se deve à ação das estrobilurinas.

Com relação ao controle do bicho-mineiro, a literatura, já foi relatada a ação inseticida das bactérias *B. subtilis* e *B. pumilus* para algumas espécies de insetos, refletindo na diminuição das populações de pragas. É importante avaliar esse aspecto, uma vez que pode agregar vantagens na utilização destas bactérias na agricultura, ou seja, o controle de pragas e doenças com um mesmo ingrediente ativo (GERMIDA et al., 2000). Santos (2012) observou que os índices de mortalidade de lagartas de *Grapholita molesta* por *B. subtilis* e *B. pumilus* mostraram redução da praga, fato que indica potencial de controle da espécie quando exposta às aplicações dessas bactérias em pomares de macieira para o controle de doenças de verão.

No caso do fungicida ter mostrado ação sobre o inseto, Tofoli et al. (2003), afirma que estudos tem provado que as estrobilurinas, além de atuarem diretamente sobre o patógeno, apresentam efeitos secundários altamente benéficos à planta, tais como: a redução da produção de etileno, o aumento da atividade da enzima nitrato-redutase, o atraso da senescência, maior resistência ao estresse hídrico e o aumento do teor de clorofila. Tsumanuma et al. (2010), avaliando o crescimento de dois cultivares de soja submetidos a aplicação de fungicidas,

observaram que alterações fisiológicas provocadas pelos fungicidas do grupo das estrobilurinas podem ter implicações diretas no rendimento da cultura, potencialmente elevando a produtividade, interfere no crescimento da cultura, promovendo maior acúmulo de massa de matéria seca e área foliar, além de maior período de manutenção da área fotossinteticamente ativa. Assim, esses efeitos secundários podem ter interferido indiretamente no controle do bicho-mineiro pelo fungicida.

CONCLUSÃO

A bactéria *Bacillus subtilis* atuou de forma eficaz no controle da ferrugem do cafeeiro nas duas variedades, porém com menor eficácia que o fungicida; mas não controlou o bicho-mineiro, onde apenas o fungicida apresentou maior eficácia no controle nas duas variedades.

REFERÊNCIAS

- ANGONESE, M. T.; DELLA, G. J.; PAIM, L. H.; PANSEIRA, M. R.; PAGNO, R. S.; MEZZOMO F.; ZORZI, E.; PEREIRA, C. O. F.; RIBEIRO, R. T. S. Efeito fungistático de *Bacillus* spp. sobre fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira De Agroecologia**, v. 4, n. 2, p. 97-100, 2009.
- BOTELHO, C. E.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P.; CARVALHO, G. R.; GONÇALVES, F. M. A.; CARVALHO, A. M. Avaliação de progênies de café obtidas por cruzamentos das cultivares de Icatu e Catimor. **Coffee Science**, Lavras, v. 2, n. 1, p. 10-19, 2007.
- BOTTCHER, A.; NOBILE, P. M.; MARTINS, P. F.; CONTE, F. F.; AZEVEDO, R. A.; MAZZAFERA, P. Antioxidative responses of cell suspension cultures of two *Coffea arabica* varieties to low aluminum levels at pH 5.8. **Hoehnea**, v. 39, n. 1, p. 01-10, 2012.
- BÓCOLI, P. D. **Avaliação e análise da incidência de ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) em 8 cultivares comerciais no município de Muzambinho**. 78f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Cafeicultura) - Escola Agrotécnica Federal de Muzambinho, MG, 2008.
- CARVALHO, G. R.; MENDES, A. N. G.; BARTHOLO, G. F.; CEREDA, G. J. Comportamento de progênies de cafeeiro cultivar mundo novo. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 5, p. 853-860, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542006000500005>
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da safra brasileira: café. **Conab**, Brasília, v. 1, n. 1, 2014.
- CONCEIÇÃO, C. H. C. **Biologia, dano e controle do bicho-mineiro em cultivares de café arábica**. 86 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical – Área de Concentração em Tecnologia da Produção Agrícola) – Instituto Agrônomo de Campinas, SP, 2005.
- COSTA, M. J. N.; ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F. A. Avaliação de produtos alternativos no controle da ferrugem do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 150-152, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582007000200010>

CUNHA, R. L.; POZZA, E. A.; DIAS, W. P.; BARRETTI, P. B. **Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para avaliar a severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro**. II SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL (2. : 2001 : Vitória, ES), 2001.

DORIGHELLO, D. V. **Controle da ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) com óleo de café e *Bacillus spp.*** 45 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, São Paulo. 2013.

FIGUEIREDO, J. E. F.; TEIXEIRA, M. A.; LIMA, G. V. C.; BRESSAN, W.; PINTO, N. F. J.; CASELA, C. R. Atividade antagonista in vitro de *Bacillus subtilis* contra fungos fitopatogênicos do milho e sorgo. **Embrapa Milho e Sorgo - Artigo em anais de congresso (ALICE)**. XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, IV SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A LAGARTA DO CARTUCHO, Goiânia, 2010.

GERMIDA, J. J.; HEINS, S. H.; MANKER, D. C. *Bacillus subtilis* strain for controlling insect and nematode pests. **United States Patent**, Number 6015553, jan. 18, 2000.

GRIGOLETTI JÚNIOR, A.; DOS SANTOS, A. F.; AUER, C. Perspectivas do uso do controle biológico contra doenças florestais. **Floresta**, v. 30, n. 1, p. 2. 2004.

GUERREIRO FILHO, O.; FAZUOLI, L. C.; EIRA AGUIAR, A. T. **Cultivares de *Coffea arabica* selecionadas pelo IAC: características botânicas, tecnológicas, agrônômicas e descritores mínimos**. 2006. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2006_2/Cultivares_cafe/Index.htm>. Acesso em: 01 out. 2014.

KUPPER, K. C.; BELLOTTE, J. A. M.; GOES, A. Controle alternativo de *Colletotrichum acutatum* agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 31, n. 4, p. 1004-1015, 2009.

MAIA, T. A.; ZAMBOLIM, E. M.; CAIXETA, E. T.; MIZUBUTI, E. S. G.; SANTANA, M. F.; ZAMBOLIM, L. **Estrutura genética da população de *Hemileia vastatrix* com base no mercado AFLP**. VI SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. 2009.

MARTINS, M.; MENDEZ, A. N. G.; ALVARENGA, M. I. N. Incidência de pragas e doenças em agrossistemas de café orgânico de agricultores familiares em Poço Fundo-MG. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 6, p. 1306-1313, 2004.

MONTES, S. M. N. M.; PAULO, E. M.; FISCHER, I. H. Incidência da ferrugem alaranjada em cafeeiros nas condições climáticas de Presidente Prudente, SP. **Coffee Science**, Lavras, v. 7, n. 3, p. 208-214, 2012.

NAVARINI, L.; BALARDIN, R. S. Doenças foliares e o controle por fungicidas na produtividade e qualidade de grãos de trigo. **Summa phytopathologica**, v. 38, n. 4, p. 294-299, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052012000400004>

OLIVEIRA, I. P.; OLIVEIRA, L. C.; MOURA, C. S. F. T. Cultura do café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento. **Revista Faculdade Montes Belos**, v. 5, n. 4, 2012.

SANTOS, R. S. S. Ação de formulações comerciais de *Bacillus* spp. sobre lagartas de *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 8, n. 14; p. 16-22, 2012.

TOFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; GARCIA JUNIOR, O. Controle da requeima do tomateiro com fungicidas e seus reflexos na produção. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 473-482, 2003.

TOFOLI, J. G.; OLIVEIRA, S. H. F.; DOMINGUES, R. J.; SANTOS, J. M. F.; MARTINS, E. M. F. Desempenho de azoxystrobin no controle da ferrugem do cafeeiro sob condições de chuva induzida. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 93-96, 2002.

TSUMANUMA, G. M.; CARVALHO, S. J. P.; FANCELLI, A. L.; BERNARDES, M. S. RODRIGUES, M. A. T.; BEGLIOMINI, E. Crescimento de dois cultivares de soja submetidos a aplicações de herbicidas e fungicidas. **Revista Ceres**, v. 57, n. 6, p. 742-750, 2010.

VIEIRA JÚNIOR, J. R.; FERNANDES, C. F.; RAMALHO, A. R.; ROCHA, R. B.; MARCOLAN, A. L.; COSTA, J. N. M.; TEIXEIRA, C. A. D.; VIEIRA, A. H.; SILVA, D. S. G.; SANTOS, A. R.; LOCATELLI, M. Elaboração de escala diagramática de severidade para o bicho-mineiro do cafeeiro. **Comunicado Técnico 373 – Embrapa**, ISSN 0103-9458, Porto Velho/RO, Setembro, 2011.