

EFICIÊNCIA DO ACIBENZOLAR-S-METIL NA PROTEÇÃO DE PLANTAS DE INHAME À *Curvularia eragrostides*

Ana Cristina Fermino Soares¹

Professora Titular, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola - UFRB, Cruz das Almas – BA, CEP 44.380-000. E-mail: acoares@ufba.br

Jane Oliveira Perez²

Professora do Centro Federal de Ensino Tecnológico – CEFET/Petrolina, Unidade Agrícola - Rodovia BR 235 km 22 Projeto Senador Nilo Coelho N4, E-mail: janeoliveiraperez@yahoo.com.br

Carla da Silva Sousa³

Engº Agrº, M.Sc em Ciências Agrárias, Doutorando em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Departamento de Energia Nuclear - UFPE, Av. Prof. Luiz Freire, 1000 - Recife – PE, CEP 50.740-540, E-mail: cssagro@yahoo.com.br

Marlon da Silva Garrido

Engº Agrº, M.Sc em Ciências Agrárias, Doutorando em Tecnologias Energéticas e Nucleares, Departamento de Energia Nuclear - UFPE, Av. Prof. Luiz Freire, 1000 - Recife – PE, CEP 50.740-540, E-mail: garridoms@yahoo.com.br
Autor correspondente

Nailson Santos de Almeida

Engº Agrº, Mestrando em Ciências Agrárias, Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia Agrícola - UFRB, Cruz das Almas – BA, CEP 44.380-000. E-mail: nailsonagro@yahoo.com.br

RESUMO: Avaliou-se o efeito do indutor de resistência acibenzolar-S-metil, sobre o crescimento micelial e esporulação de *Curvularia eragrostides in vitro* e a melhor época e dosagem de aplicação do ASM na interação inhame (*Dioscorea cayennensis*) x *C. eragrostides*. Foram testadas cinco concentrações de 250; 125; 62,50; 31,25 e 15,12 ppm, sobre o crescimento micelial e germinação de esporos de *C. eragrostides*. O ASM foi pulverizado via foliar nas plantas de inhame nas concentrações de 10, 20 e 30 g i.a./100 l de água, aos 30, 15 e 10 dias antes da inoculação do patógeno. O crescimento micelial de *C. eragrostides* não foi afetado pelo ASM nas concentrações de 62,5; 31,25 e 15,12 ppm, assim como a taxa de germinação dos esporos. O indutor de resistência apresentou melhor eficiência quando aplicado na dosagem de 15g do i.a./ 100 litros de água 15 dias antes da inoculação, conferindo uma proteção de 76,15 % na severidade da queima das folhas no inhame.

Palavras-chave: Indução de resistência, queima das folhas, *Dioscorea cayennensis*

EFFICIENCY OF THE ACIBENZOLAR-S-METIL FOR PROTECTION OF YAM PLANTS AGAINST *Curvularia eragrostides*

ABSTRACT: The effect of the plant resistance inducer acibenzolar-S-methyl on *in vitro* mycelial growth and sporulation of *Curvularia eragrostides* was evaluated, as well as the time and dosage of its application for the pathosystem yam x *C. eragrostides*. Five concentrations: 250; 125; 62.50; 31.25 and 15.12 ppm were evaluated for mycelial growth and sporulation of *C. eragrostides*. The ASM was sprayed onto the leaves of yam plants, at a concentration of 10 g, 20 g, and 30 g of the active ingredient (i.a.) per 100 liters of water, at time intervals of 10, 15, and 30 days before pathogen inoculation. Mycelial growth and sporulation of *C. eragrostides* was not affect by ASM, at the concentrations of 62.5; 31.25, and 15.12 ppm. Application of ASM was most effective at the dose of 15 g a.i./100 l of water, at 15 days before pathogen inoculation, providing protection against *C. eragrostides*, with a decrease of up to 76.15 % in yam leaf spot severity.

Key words: Induction of resistance, leaf blight, *Dioscorea cayennensis*.

INTRODUÇÃO

O inhame (*Dioscorea cayennensis* L.) na região do Recôncavo Baiano tem uma grande importância para os pequenos e médios agricultores, por ser o principal produto de renda e cultivo. Dentre as doenças fúngicas, a principal é a queima das folhas causada por *Curvularia eragrostides* Henn, resultando em prejuízos na produção, devido à sua alta capacidade de disseminação e alta redução na capacidade fotossintética da planta, ocasionando perdas de até 40% na produtividade (Garrido et al., 2003). Os sintomas aparecem em toda a parte aérea da planta, afetando as folhas, com lesões circulares com centro escuro e necrótico e halo amarelo (Romeiro, 1995).

O controle da queima das folhas em plantios no campo é praticamente inexistente nas condições da região do Recôncavo da Bahia e não existem estudos com produtos químicos ou alternativos. A eficácia de produtos alternativos na proteção de plantas tem crescido significativamente após a descoberta de indutores de resistência de origem biótica e/ou abiótica (Gorlach et al., 1996).

Dentre os ativadores químicos de defesa vegetal, a utilização do acibenzolar-S-metil (ASM), comercializado no Brasil como Bion[®], vem se tornando uma alternativa promissora para as novas estratégias de manejo de doenças vegetais (Pascholati, 2002). O ASM é rapidamente absorvido e translocado por toda planta, gerando um sinal sistêmico que desencadeia a expressão dos genes de defesa, possibilitando a proteção de plantas em condições de campo, contra um amplo espectro de doenças, como tomateiro, citros e cacauero (Uknes et al., 1996; Pascholati, 1999; Resende, 2002). Trabalhos conduzidos por Cavalcanti e Resende (2005) e Perez (2002), comprovaram a eficiência do ASM como indutor de resistência conferindo uma proteção significativa de 55,4 % na severidade em mudas de cacauero contra *Verticillium dahliae* e de 50 % contra *Crinipellis pernicioso*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) sobre o crescimento micelial e germinação de esporos de *C. eragrostides*, assim como identificar a melhor dose e época de aplicação do acibenzolar-S-metil na indução de resistência de mudas de inhame à *C. eragrostides*.

MATERIAL E MÉTODOS

O efeito do acibenzolar-S-metil (ASM) sobre o crescimento micelial de *C. eragrostides*, foi realizado através de um bioensaio utilizando-se o ASM em cinco concentrações (15,12; 31,25; 62,50; 125,00 e 250,00 ppm), mais uma testemunha absoluta, com cinco repetições. Foram obtidos discos de cultura pura do isolado de *C. eragrostides* do inhame, cultivado em meio de cultura batata dextrose agar (BDA), em escuro contínuo por oito dias à 27 °C. Após este período, discos de micélio foram retirados das bordas das placas e colocados no centro de cada placa de Petri contendo meio de cultura BDA, com as diferentes concentrações de ASM. As placas foram incubadas em câmara tipo BOD à 28°C, por oito dias. Para cada tratamento, foram utilizadas 10 placas de Petri, mantidas em incubadora BOD à 27 °C e fotoperíodo de 12 h, durante oito dias. Avaliou-se a taxa de crescimento micelial do fungo, calculando-se a percentagem de inibição pelo teste de Tukey (5%) e foram realizadas análises de regressão linear para calcular a CE₅₀ (concentração efetiva para inibir 50% do crescimento micelial).

O efeito do ASM na germinação dos esporos de *C. eragrostides* foi realizado em lâminas escavadas, testando-se as concentrações do ASM citadas anteriormente, com 40 µl da suspensão de esporos, na concentração de 1 x 10⁵ esporos/ml. As lâminas foram mantidas em câmara úmida, dentro de placas de Petri, por um período de 14 horas. Foram avaliadas as percentagens de germinação dos esporos, com auxílio do microscópio óptico, sendo os dados foram transformados em $\sqrt{x/100}$ (Banzatto e Kronka, 1992), utilizando o programa estatístico SISVAR 4.0 (Ferreira, 2000).

A determinação da melhor dose e época de aplicação do ASM foi realizada sob condições de casa-de-vegetação em mudas de inhame. As mudas de inhame foram plantadas em sacos de muda com 8 litros de substrato composto por 3 partes de solo e uma parte de esterco de gado curtido e mantidas em casa de vegetação, por um período de 2 meses após a germinação. O ASM foi aplicado via pulverização foliar de uma suspensão do produto comercial (Bion[®]) aos 30, 15 e 10 dias antes da inoculação do patógeno, em três dosagens (10g, 15g, e 30g i.a./100 litros de água). Para a inoculação do patógeno, a parte aérea das mudas de inhame mantida em câmara úmida, sendo coberta com sacos de plástico por 24 horas e após est período, as folhas foram pulverizadas até o ponto de escorrimento, com um suspensão de esporos de *C. eragrostides* na concentração de 1 x 10⁵

esporos/ml, mantendo-se a câmara úmida por mais 24 horas. O delineamento experimental foi em arranjo fatorial com blocos casualizados, constituído de quatro repetições e cinco plantas por parcela experimental. Os sintomas da queima das folhas foram avaliados aos 5, 10, 15 e 20 dias após a inoculação, utilizando-se a escala diagramática proposta por Michereff et al, (2000). Foi calculado o índice de doença, utilizando a fórmula proposta por Mackinney (1923) e a severidade em porcentagem, sendo a determinação da proteção pelo produto calculada, considerando-se a taxa de severidade igual a 100% para as plantas testemunhas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações de 250,00 e 125,00 ppm de ASM inibiram o crescimento micelial de *C.*

eragrostides em 68 e 56 %, respectivamente. Contudo, nas concentrações de 62,50; 31,25 e 15,12 ppm, o ASM não afetou significativamente o crescimento micelial do patógeno (Tabela 1). Os valores encontrados de EC₅₀ para o ASM em relação a *C. eragrostides* foram estimados em 73,17 ppm, confirmando a sua ação de indutor de resistência, pela ausência de efeito tóxico sobre o patógeno. Resultados semelhantes foram obtidos em testes *in vitro* utilizando o ASM em relação aos patógenos bacterianos, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Ralstonia solanacearum* e *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, mesmo nas maiores concentrações do produto (Kobayashi et al., 2001). As concentrações de ASM analisadas não afetaram a taxa de germinação de esporos (Tabela 1), reafirmando a ausência de efeito fitotóxico do produto. Estudos utilizando microscopia de fluorescência mostraram que a germinação dos esporos e a formação de apressórios por *Hemileia vastatrix*, não foram afetadas pelo tratamento com o ASM (Guzzo et al., 2001).

Tabela 1. Efeito *in vitro* de diferentes concentrações de ASM sobre o crescimento micelial e esporulação de *Curvularia eragrostides*.

Dose do ASM (ppm)	Crescimento micelial (%)	Germinação de esporos (%)
0	58,82 a	57 a
15,12	52,28 b	55 a
31,25	50,22 b	62 a
65,50	49,24 b	62 a
125,00	44,90 c	59 a
250,00	32,06 d	54 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Observou-se uma redução na severidade da queima das folhas do inhame com a aplicação do ASM na dose de 15 g i.a./100 l de água, para o período de aplicação de 15 dias antes da inoculação com *C. eragrostides*. Entretanto, com três pontos (épocas de aplicação), realizou-se apenas uma análise de variância, onde não foram observadas diferenças

significativas entre as doses e períodos de aplicação (Figura 11). Observou-se maior influência da época de aplicação do ASM em relação ao efeito das doses, indicando que o intervalo entre a aplicação do indutor e a inoculação do patógeno é essencial para a indução de proteção (Uknes et al., 1996).

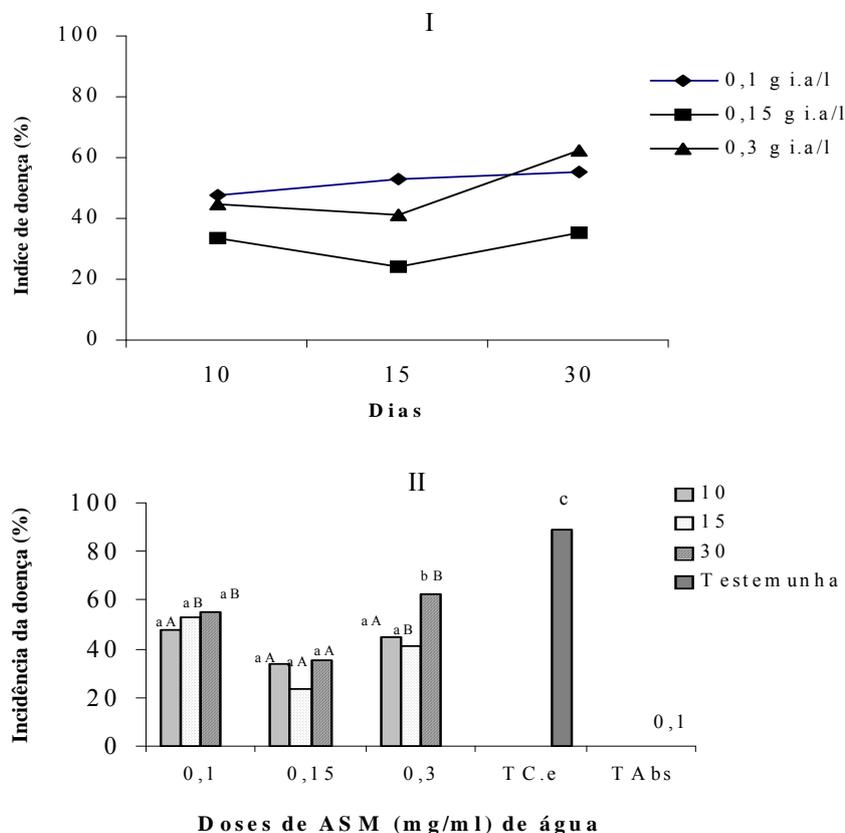


Figura 1. Efeito do ASM sobre mudas de inhame (*Dioscorea cayennensis*) 20 dias após inoculação com *Curvularia eragrostides*. **I-** Curvas da interação dose x época de aplicação; **II-** Severidade da doença, para a interação dose (0,1; 0,15; 0,30 g i.a/L) x época (10, 15 e 30 dias),

A aplicação do ASM nas mudas de inhame proporcionou uma redução na severidade de 76,15%, em relação às plantas do tratamento controle positivo (T_{Ce}), somente inoculadas com o patógeno (Figura III).

A aplicação de compostos indutores de resistência, como o ASM, possibilita o alerta prévio do sistema de

defesa vegetal, em plantas suscetíveis, o qual é potencializado após a interação com o patógeno, podendo ser estendida a outros patossistemas como uma alternativa no manejo integrado de doenças (Cavalcante e Rezende, 2005; Perez, 2002).

1. Doses crescentes de ASM inibiram o crescimento micelial *in vitro* de *C. eragrostides*, apesar de não ter efeito na germinação de esporos;

CONCLUSÕES

2. A análise do fatorial dose x época permitiu definir como melhor tratamento, a dose de 15 g i.a./100 l de água, aplicados 15 dias antes da inoculação.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo apoio financeiro ao projeto e a Bolsa PRODOC. À Riagro Ltda, pela disponibilização do ASM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAVALCANTI, L.S.; RESENDE, M.L.V. Efeito de épocas e doses de aplicação do acibenzolar-S-metil no controle de *Verticillium dahliae* em mudas de cacaueteiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 67-71, 2005.

GARRIDO, M. DA S.; SOARES, A.C.F; MENDES, L.N; PEREZ, J.O. O estudo de novas tecnologias para a produção de inhame no estado da Bahia. **Bahia Agrícola**, Salvador, v.6, n.1, p. 19-22, 2003.

GORLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUFF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzotriazolazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **Plant Cell**, Rockville, v. 8, p.629-643. 1996.

GUZZO, S.D.; CASTRO, R.M.; KIDA, K.; MARTINS, E.M.F. Ação protetora do acibenzolar-S-methyl em plantas de caféiro contra ferrugem. **Arquivos do Instituto Biológico**. São Paulo, v.68, n.1, p.89-94, 2001.

KOBAYASTI, L.; SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; CASTRO, R.M. Efeito *in vitro* do indutor de resistência acibenzolar-S-metil sobre bactérias patogênicas ao tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.293. 2001. (Suplemento).

MACKINNEY, N. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.26, n.5, p.195-199, 1923.

MICHEREFF, S.J.; MAFFIA, L.A.; NORONHA, M.A. Escala diagramática para avaliação da Severidade da Queima das Folhas do Inhame. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 4, 2000, p.

PASCHOLATI, S.F. Conclusões do grupo de discussão bioquímica fitopatológica e indução de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, p.241. 1999. (Suplemento).

PASCHOLATI, S.F. Indução de resistência sistêmica: opção para o controle de doenças de plantas no século XXI. **1ª Reunião Brasileira sobre indução de resistência em plantas contra fitopatógenos**. São Pedro, SP, Resumo, p. 8-10, 2002.

PEREZ, J.O. **Caracterização de isolados de *Crinipellis perniciosa*, indução de resistência à vassoura-de-bruxa no cacaueteiro e análise de peroxidases na interação planta-patógeno**. (Tese - Doutorado em Fitopatologia), Lavras: UFLA, 2002, 82p.

RESENDE, M.L.V.; NOJOSA, G.B.A.; CAVALCANTI, L.S; AGUILAR, M.A.G; SILVA, L.H.C.P; PEREZ, J.O; NIELLA, G.R; ANDRADE, G.C.G; CARVALHO, G.A.; CASTRO, R. M. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis perniciosa* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar s-methyl (ASM). **Plant Pathology**, Rockville, v. 51, p. 621-628. 2002.

UKNES, S.; VERNON, B.; MORRIS, S.; CHANDLER, D.; STEINER, H.; SPECKER, N.; HUNT, M.; NEUENSCHWANDER, U.; LAWTON, K.; STARRET, M.; FRIEDRICK, L.; WEIMANN, K.; NEGROTTO, D.; GORLACH, J.; LANAHAN, M.; SALMERON, J.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Reduction of risk for growers: methods for the development of disease-resistance crops. **New Phytologist**, Cambridge, v. 133, p. 3-10. 1996.