

## Ação de indutores de resistência em cacauero infectados com *Ceratocystis cacaofunesta*

Gabriel Leonardi Antonio<sup>1</sup>; Roberto de Lima Donato<sup>1</sup>; Matheus Rodrigo Iossi<sup>1</sup>; Ana Carolina Firmino<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>FCAT- Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Rod. Cmte João Ribeiro de Barros, km 651 - Bairro das Antas - Dracena/SP - Brasil - CEP 17900-000

Autor para correspondência: Gabriel Leonardi Antonio (gabriel-leonardi@bol.com.br)

Data de chegada: 09/06/2017. Aceito para publicação em: 26/11/2018.

10.1590/0100-5405/181211

### RESUMO

Antonio, G.L.; Donato, R.L.; Iossi, M.R.; Firmino, A.C.. Ação de indutores de resistência em cacauero infectados com *Ceratocystis cacaofunesta*. *Summa Phytopathologica*, v.45, n.1, p.104-106, 2019.

O fungo *Ceratocystis cacaofunesta* é um dos principais problemas na cultura do cacauero no Brasil. Para o cacauero há poucas alternativas para o controle da doença, sendo que a indução de resistência vem sendo testada como uma possibilidade de controle. Neste trabalho foram utilizados três indutores de resistências em três concentrações diferentes visando a indução de resistência do cacauero atacado por *Ceratocystis* sendo elas: glicose (0,1M, 0,5M e 1M), sacarose (0,1M, 0,5M, 1M) e acibenzolar-s-metilico (1ppm,

100ppm e 1000ppm). Além disso, amostras das plantas tratadas foram coletadas e analisadas para verificar a presença de grãos de amido. O único tratamento que não apresentou nenhuma morte de planta foi o acibenzolar-s-metilico a 1 ppm. Foi observado grãos de amido em todas as plantas tratadas, porém em quantidades diferentes. São necessários estudos mais detalhados para confirmar a efetividade do produto na indução de resistência de plantas de cacauero ao fungo *Ceratocystis*.

**Palavras-chave:** Theobroma cacao; controle de doenças; grãos de amido.

### ABSTRACT

Antonio, G.L.; Donato, R.L.; Iossi, M.R.; Firmino, A.C. Action of resistance inducers in cocoa plants infected with *Ceratocystis cacaofunesta*. *Summa Phytopathologica*, v.45, n.1, p.104-106, 2019.

The fungus *Ceratocystis cacaofunesta* is one of the main problems in cacao culture in Brazil. For cocoa, there are few alternatives to control the disease, and induction of resistance has been tested as a possibility of control. In this study, three resistance inducers were used at three different concentrations with the aim of inducing resistance in the cacao tree attacked by *Ceratocystis*: glucose (0.1M, 0.5M and 1M), sucrose (0.1M, 0.5M, 1M) and acibenzolar- $\hat{I}^2$ -methyl (1ppm,

100ppm and 1000ppm). In addition, samples were collected from the treated plants and analyzed for the presence of starch grains. The only treatment that did not show any plant death was acibenzolar-s-methyl at a concentration of 1 ppm. Starch grains were observed in all treated plants, but in different amounts. More detailed studies are needed to confirm the effectiveness of the product in inducing resistance of cacao plants to the fungus *Ceratocystis*.

**Keywords:** Theobroma cacao; disease control; starch grains.

A marcha-de-*Ceratocystis* do cacauero é uma doença causada pelo fungo *Ceratocystis cacaofunesta* e caracteriza-se por obstruir os vasos do xilema das plantas provocando murcha das folhas e posteriormente a morte. Esta doença foi relatada em cacauero em 2001 e em pouco tempo ela se encontra amplamente disseminada sendo as plantas provenientes da variedade Theobahia as mais suscetíveis (5).

O uso de porta-enxerto resistente é o método de controle mais indicado para esta doença. Porém, deve-se levar em consideração que em muitos trabalhos de resistência a este fungo os clones testados tinham reações diferentes conforme o isolado do fungo utilizado para os testes (4). Sendo assim a indução de resistência em plantas vem sendo estudada com uma alternativa ao uso de agentes químicos e cultivares resistentes. Em relação a presença de grãos de amido, a visualização dos mesmos é um método indireto para a detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS), sendo que estas moléculas podem impedir diretamente o crescimento do patógeno (3).

Diante deste problema e da importância que este patógeno vem tomando dentro da cultura do cacauero, o presente trabalho tem como objetivos: (i) estudar a ação de indutores de resistência em cacauero infectados com *C. cacaofunesta* (ii) avaliar a presença de grãos de amido em cacaueros tratados com indutores de resistência e inoculados com *C. cacaofunesta*.

Para realização do estudo o isolado de *C. cacaofunesta* foi obtido junto a CEPLAC (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira) de Ilhéus-BA. O fungo foi cultivado em meio MEA (malte, extrato de levedura e Agar) pelo período de 10 dias para realização do experimento.

Foram utilizadas sementes do cultivar Theobahia cedidas pela CEPLAC e plantadas em vaso de 5 L com substrato Plantimax HT® dentro da casa de vegetação da FCAT em Dracena – SP.

A aplicação dos elicitores de resistência foi realizada quando a planta apresentava seis meses, sendo que em cada caule foi aplicada

uma injeção contendo 0,1 mL de solução nos seguintes tratamentos: 0,1M de Glicose; 0,5M de Glicose; 1M de Glicose; 0,1M de Sacarose; 0,5M de Sacarose; 1M de Sacarose; 1ppm de acibenzolar-s-metilico; 100ppm acibenzolar-s-metilico; 1000ppm acibenzolar-s-metilico, além da testemunha somente inoculada com o fungo e da inoculada apenas com meio de cultura MEA, ambas sem aplicação de elicitores.

A inoculação do fungo foi realizada sete dias após a aplicação dos indutores seguindo o método descrito por Firmino et al. (4). No total foram dois experimentos com 11 tratamentos com 5 repetições cada. Foram avaliados o tamanho das lesões causadas pelo fungo em cada tratamento 60 dias após a inoculação conforme Firmino et al. (4).

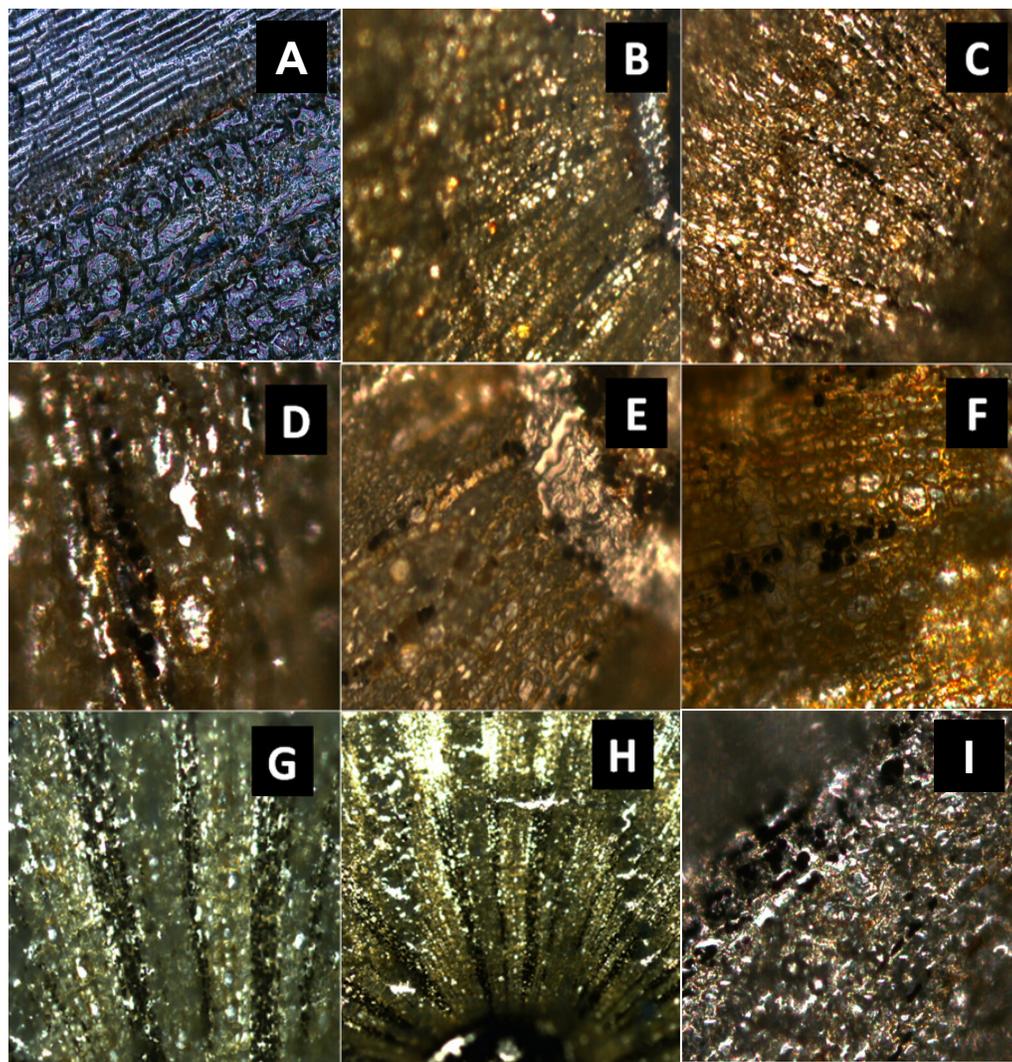
Para avaliar a presença de grãos de amido em cacauzeiros tratados com indutores de resistência fragmentos do caule das plantas de cada tratamento foram coletados e fixados em “Karnovsky” e processados conforme Antonio et al. (1)

Pela Tabela 1, os tratamentos Glicose apresentaram menores lesões em relação a testemunha inoculada nos dois experimentos, porém as plantas tratadas com este elicitor, independente da dose, foram as primeiras a apresentarem sintomas de murcha seguida de seca (15 dias após a inoculação). Isso pode explicar as menores lesões nesses tratamentos, pois com a planta morta a lesão causada pelo fungo

**Tabela 1.** Tamanho médio das lesões no xilema de cacauzeiro causado por *C. cacaoifunesta*.

Tratamento	Medias das Lesões (cm) <sup>1</sup>
0,1 M de Glicose	3,4 b
0,50 M de Glicose	8,15 c
1 M de Glicose	5,4 b
0,1 M de Sacarose	9,0 c
0,50 M de Sacarose	8,0 c
1 M de Sacarose	13,5 d
1 ppm de acibenzolar-s-metilico	2,6 b
100 ppm acibenzolar-s-metilico	9,5 c
1000 ppm acibenzolar-s-metilico.	10,5 c
Planta inoculada somente com o fungo	9,5 c
Planta sem inoculação do fungo	0 a
C.V. (%)	14,5

<sup>1</sup>Médias das lesões dos dois experimentos. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si em nível de 5% pelo teste de Scott-Knott



**Figura 1.** Cortes histológicos realizados nas amostras das plantas tratadas com diferentes doses e tipos de elicitores de resistência (Pontos escuros são os grãos de amido). A: planta inoculada somente com um disco de meio de cultura sem o fungo; B e C: glicose 0,1M e 1M, respectivamente; D, E e F: sacarose 0,1M, 0,5M, 1M, respectivamente; G, H: Acibenzolar-s-metilico 1ppm e 1000ppm; e I: planta somente inoculada com *Ceratocystis*.

deixa de se desenvolver Neste período, de 20 dias após a inoculação, também foram observadas a murcha das plantas testemunhas positivas, inoculadas somente com o fungo.

As plantas tratadas 0,1M e 0,5M de sacarose apresentaram murcha de 25 a 30 dias após a inoculação e secaram cinco dias depois do aparecimento deste sintoma.

A dose de 1ppm de Acibenzolar-s-metilico se mostrou a mais efetiva no controle de *Ceratocystis* em mudas de cacaueteiro (Tabela 1). Neste tratamento as plantas permaneceram vivas até o último dia de avaliação, que ocorreu 60 dias após a inoculação. As plantas tratadas com Acibenzolar-s-metilico, nas doses de 100ppm e 1000ppm, apresentaram sintomas de murcha e seca durante o mesmo período das plantas de sacarose.

Segundo testes realizados por Vieira e Valle (7), os quais injetaram soluções de glicose, sacarose e ácido salicílico em troncos de cacaueteiro para verificar a indução de resistência de plantas a doença vassoura de bruxa, todos os indutores foram eficientes no controle de vassoura de bruxa comparados ao controle. A diferença na reação de plantas de cacaueteiro tratadas com açúcares e Acibenzolar-s-metilico no presente experimento quando comparado com a reação das plantas tratadas por Vieira e Valle (7), pode ser explicada pela diferença na assimilação de açúcares por diferentes espécies de fungos. É possível que a parede da célula e invertases vasculares da *Ceratocystis* permita que a colonização de tecidos das plantas seja facilitada pelo transporte e absorção de sacarose e glicose derivada de plantas. Estudos têm mostrado que durante as interações planta-fungo, ambos os indivíduos desta interação contribuem para a atividade do processamento do açúcar. As plantas usam suas enzimas ligadas a quebra do açúcar para a sinalização a respostas ao estresse e de defesa, além de nutrição, já os fungos podem converter em açúcares extracelulares e intracelulares, como frutose e glicose, assegurando a disponibilidade de nutrientes durante a infecção (6)

Foi observada a presença de grãos de amido em todas as amostras tratadas (Figura 1). Apesar de não se ter realizado nenhum método de quantificação do amido nas amostras analisadas, foi possível verificar visualmente que as plantas tratadas com Acibenzolar-s-metilico, principalmente na concentração de 1ppm, apresentaram maiores quantidades de grãos de amido no tecido. Há duas hipóteses associadas a isso. A primeira seria que houve maior acúmulo de amido nas células, já que estas plantas sobreviveram por um período maior de tempo. A segunda hipótese, é que este produto pode induzir um aumento na produção de grãos amido pela planta devido ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) induzidas pelos elicitores de resistência.

O incremento na quantidade de grãos de amido pode impedir diretamente o crescimento do patógeno, fortalecer a parede celular e a membrana plasmática, por meio de ligações cruzadas com proteínas estruturais e pela peroxidação de lipídeos, respectivamente, além de regular genes de resistência da planta ou formar ácido jasmônico que atua como mensageiro secundário devido a presença do peróxido de hidrogênio (2, 3).

Conclui-se que o acibenzolar-s-metilico na concentração de 1 ppm se mostrou efetivo como indutor de resistência a *Ceratocystis* e que todas as plantas apresentaram produção de grãos de amido.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos pesquisadores da CEPLAC, ao CNPq e a Pro - reitoria de pesquisa da UNESP.

## REFERÊNCIAS

1. Antonio, G. L. ; Donato, R. L. ; Iossi, M. R. ; A. C. Firmino . Análise da presença de grãos de amido em cacaueteiro tratadas com indutores de resistência e inoculadas com *Ceratocystis cacaofunesta*. In: 40 Congresso Paulista de Fitopatologia, 2017, Campinas. Summa Phytopathologica, 2017. v. 43.
2. Bennici A., Calamassi R., Pazzagli L., Comparini C., Schiff S., Bovelli R., Mori B., Tani C., Scala A. Cytological and ultrastructural responses of *Platanus acerifolia* (Ait.) Willd. leaves to cerato-platanin, a protein from *Ceratocystis fimbriata* f. sp. platani. Phytopathologia Mediterranea, cidade, v. 44, p. 153-161, 2005.
3. Doke, N.; Miura, Y.; Sanchez, L. M.; Park, H.-J.; Noritake, T.; Yoshioka, H.; Kwakita, K. The oxidative burst protects plants against pathogen attack: mechanism and role as an emergency signal for plant bio-defence – a review. Gene, v.179, p.45-51, 1996.
4. Firmino, A. C., Tozze Jr, H. J., Furtado, E. L. Resistência de genótipos de eucalipto a *Ceratocystis* spp. Scientia Forestalis, 165-173, 2013.
5. Silva, S. D. V. M.; Luz, E. D. M. N. *Ceratocystis fimbriata* em cacaueteiros das variedades Theobahia cultivadas na Bahia. Fitopatologia Brasileira, Brasília, DF, v. 25, 2000. 424 p. Suplemento.
6. Van Der Nest, M. A., Steenkamp, E. T., Mctaggart, A. R., Trollip, C., Godlonton, T., Sauerman, Wingfield, M. J. Saprophytic and pathogenic fungi in the Ceratocystidaceae differ in their ability to metabolize plant-derived sucrose. BMC evolutionary biology, v. 15, n. 1, p. 1, 2015.
7. Vieira, D., Valle, R. R. Indução de resistência sistêmica para o controle da vassoura-de-bruxa *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer em cacaueteiros (*Theobroma cacao* L.) dos clones ICS 1 e CCN 51. 15ª Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau, São José, Costa Rica, 2006. Disponíveis em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/inducacao>>. Acesso em: 9 dez. 2015.