

Indução de Resistência a Oídio (*Microsphaera diffusa*) em Soja (*Glycine max* (L.) Merr.) Mediada por Entomopatógenos

Induction of Resistance to Powdery mildew in Soybean (Glycine max (L.) Merr.) Mediated by Entomopathogens

ZANOTTI, Josinaldo¹. josinaldozanotti@yahoo.com.br. GOUVEA, Alfredo de¹. alfredo@utfpr.edu.br. PIZZATTO, Mariana¹. mariana_pizzatto@hotmail.com; MAZARO, Sergio Miguel¹. sergio@utfpr.edu.br. POSSENTI, Jean Carlo¹. jpossenti@utfpr.edu.br. VENTURINI, Tiago¹. tiagoventurini@zootecnista.com.br. API, Ivandro¹. ivandroapi@hotmail.com.

¹Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Dois Vizinhos

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da aplicação de entomopatógenos sobre a produção de fitoalexinas, o desenvolvimento de oídio *Microsphaera diffusa* e a produtividade de soja. O trabalho foi realizado *in vitro* e *in vivo* na UTFPR Campus Dois Vizinhos, avaliou-se *Baculovirus*, *Bacillus thuringiensis* e *Metarhizium anisopliae*, isoladamente ou em combinações. A bactéria *B. thuringiensis* induziu a produção de fitoalexina gliceolina em cotilédones de soja, reduziu a incidência de oídio causado por *Microsphaera diffusa*, reduziu a desfolha provocada por herbívoros em soja, não interferindo, contudo, na produtividade.

Palavras-chave: Soja orgânica, Controle Biológico, Entomopatógeno, Fitoalexina.

Abstract

This study had the objective of to evaluate the effect of the application of entomopathogens on to produce phytoalexins, the development of powdery mildew Microsphaera diffusa and productivity of soybean. The work was performed in vitro and in vivo in UTFPR Campus Dois Vizinhos, it was evaluated Baculovirus, Bacillus thuringiensis and Metarhizium anisopliae, alone or in combination. The bacterium B. thuringiensis induce the production of phytoalexins glyceolin in cotyledons of soybean, reduced the incidence of powdery mildew caused by Microsphaera diffusa, reduced the defoliation caused by herbivores in soybeans, not influencing, however, on productivity.

Keywords: Organic soybean, Biological Control, Entomopathogen, Phytoalexin.

Introdução

O controle de praga no sistema de cultivo de soja possui alternativas comprovadamente eficazes, entre eles o Vírus da Poliedrose Nuclear, Baculovirus anticarsia e a bactéria *Bacillus thuringiensis*, além dos fungos *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, que no complexo de percevejos da soja em condições de campo, são promissores associados a outras táticas de manejo (MOSCARDI, 2003).

As doenças, no entanto, se constituem em um grande obstáculo e uma ameaça para produção de soja orgânica pela escassez de alternativas ao controle com fungicidas. Neste contexto a indução de resistência a doença pode representar uma alternativa promissora no manejo da cultura. Vários trabalhos têm mostrado que a aplicação de várias bactérias entre elas *B. thuringiensis* e fungos vivos ou inativados têm protegido várias espécies vegetais contra doença pela ativação de mecanismos de defesa (GUZZO; MARTINS, 1996; CIA, 2005).

O objetivo do trabalho foi o de avaliar o efeito da aplicação de entomopatógenos, sobre a produção de fitoalexina, o desenvolvimento de oídio *Microsphaera diffusa* e pragas e os reflexos sobre a produtividade em condições de campo.

Metodologia

Resumos do VI CBA e II CLAA

Para avaliação da produção de fitoalexinas nos cotilédones de soja, foi desenvolvido um ensaio no laboratório de Fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Dois Vizinhos em 2008, utilizando-se o delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro repetições. Sementes de soja da cultivar BRS 232 foram imergidas em hipoclorito de sódio 1% para a desinfecção por um período de 15 minutos, em seguida lavadas em água destilada e semeadas em gerbox, sendo que as sementes foram semeadas em areia autoclavada e mantidas em casa de vegetação. Após 10 dias os cotilédones das plântulas foram removidos e lavados com água destilada. Na face abaxial dos cotilédones foi feito um corte superficial e, sobre este foi depositado 40 µL da preparação elicitora a base de entomopatógenos, fungicida ou de água destilada.

Os cotilédones foram pesados e então arranjados em placas de petri (cinco por placa) forradas com disco de papel filtro umedecidos com água destilada. As placas tampadas e não vedadas, foram mantidas em BOD, a 26°C, no escuro. Após 20 horas, os cotilédones foram retirados das placas e colocados em tubos plásticos contendo 10mL de água destilada, então estes tubos foram agitados em mesa agitadora por 1 hora para a extração de gliceolina. A solução foi filtrada em papel de filtro Whatman nº 41 e a absorbância determinada em 285 nm. Nos tratamentos foram utilizados os entomopatógenos VPN, *B. thuringiensis*, *M. anisopliae* e fungicida nas doses de 0, 25, 50, 100, 150 e 200 % da dose recomendada do produto comercial a saber: Vírus da Poliedrose Nuclear (Baculovirus annticarsia) (Copervírus na dose 0,0; 0,043; 0,085; 0,17; 0,255; 0,34 g.L⁻¹), *B. thuringiensis* (Dipel, na dose 0,0; 0,825; 1,65; 3,3; 4,95; 6,6 mL.L⁻¹), *M. anisopliae* (Metanat EF na dose 0,0; 2,5; 5; 10; 15; 20 mL.L⁻¹) e o fungicida Azoxistrobina + ciproconazol (Priori Xtra na dose 0,0; 0,375; 0,75; 1,5; 2,25; 3).

Para avaliação do efeito dos entomopatógenos sobre o desenvolvimento de doenças foi conduzido um experimento na Fazenda Experimental da UTFPR – *Campus* Dois Vizinhos na safra 2007/2008. A Fazenda Experimental está situada a 25°42'52" de latitude S e longitude de 53°03'94" W-GR, a 520 metros de altitude. A cultivar utilizada foi a BRS 232, com linhas de semeadura espaçadas 0,5 m uma das outras e contendo em média 10 plantas por metro linear, as parcelas eram constituídas por quatro linhas de cultivo e com cinco metros de comprimento. A semeadura foi realizada na primeira quinzena do mês de novembro.

O delineamento experimental utilizado foi o blocos ao acaso com quatro repetições, sendo os tratamentos constituídos por T1 - Baculovirus (Copervírus na dose 0,17 g.L⁻¹), T2 – *B. thuringiensis* (Dipel, na dose 3,3 mL.L⁻¹), T3 - *M. anisopliae* (Metanat EF na dose 10 mL.L⁻¹), T4 - Baculovirus + *B. thuringiensis*, T5 - Baculovirus + *M. anisopliae*, T6 - *B. thuringiensis* + *M. anisopliae*, T7 - fungicida (Azoxistrobina + ciproconazol na dose 1,5 mL.L⁻¹) e T8 - tratamento testemunha com a aplicação de água destilada.

Os tratamentos foram realizados em três épocas, iniciando-se na fase vegetativa, com 45, 60 e 75 dias após a semeadura. As aplicações foram realizadas com um pulverizador costal de 20 L, no período da manhã para minimizar as perdas causadas pela evaporação, e utilizando barreiras plásticas nas laterais da parcela para evitar a deriva.

Aos 90 dias após a semeadura foi realizado a análise da desfolha base na escala de danos de lagartas em folhas de soja proposta por Panizzi et al., (1977), avaliando-se 40 folhas por parcela, escolhidas ao acaso na parte inferior, mediana e superior das plantas.

As avaliações da incidência de doenças foliares foram realizadas a partir da primeira aplicação dos tratamentos, em intervalos de 15 dias, em um total de quatro avaliações. Para as avaliações foram escolhidas ao acaso e marcadas quatro plantas por parcela. Em cada planta foram

Resumos do VI CBA e II CLAA

avaliados 09 folíolos escolhidos ao acaso e marcados, sendo três no terço inferior, médio e superior da planta. Com base nos dados obtidos foi determinada a área abaixo da curva de progresso da doença da incidência de oídio, utilizando-se da seguinte fórmula: $AACPD = \sum[(Y_i + Y_{i+1}) \cdot 2 - 1 \cdot (T_{i+1} - T_i)]$, onde AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença; Y_i = incidência na época da avaliação i e T_i = idade da planta na época da avaliação i .

A colheita foi realizada manualmente e as plantas debulhadas com o auxílio de um debulhador de parcelas. Os grãos foram devidamente separados e pesados, sendo os dados convertidos para expressar a produtividade em $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro, com o software SASM Agri. As análises de regressões foram feitas pelo programa SANEST.

Resultados e discussões

Entre os entomopatógenos avaliados apenas a bactéria *Bacillus thuringiensis* induziu a produção de fitoalexina gliceolina em tecido de cotilédones de soja dependentemente da dosagem utilizada, sendo os resultados apresentados na Figura 1.

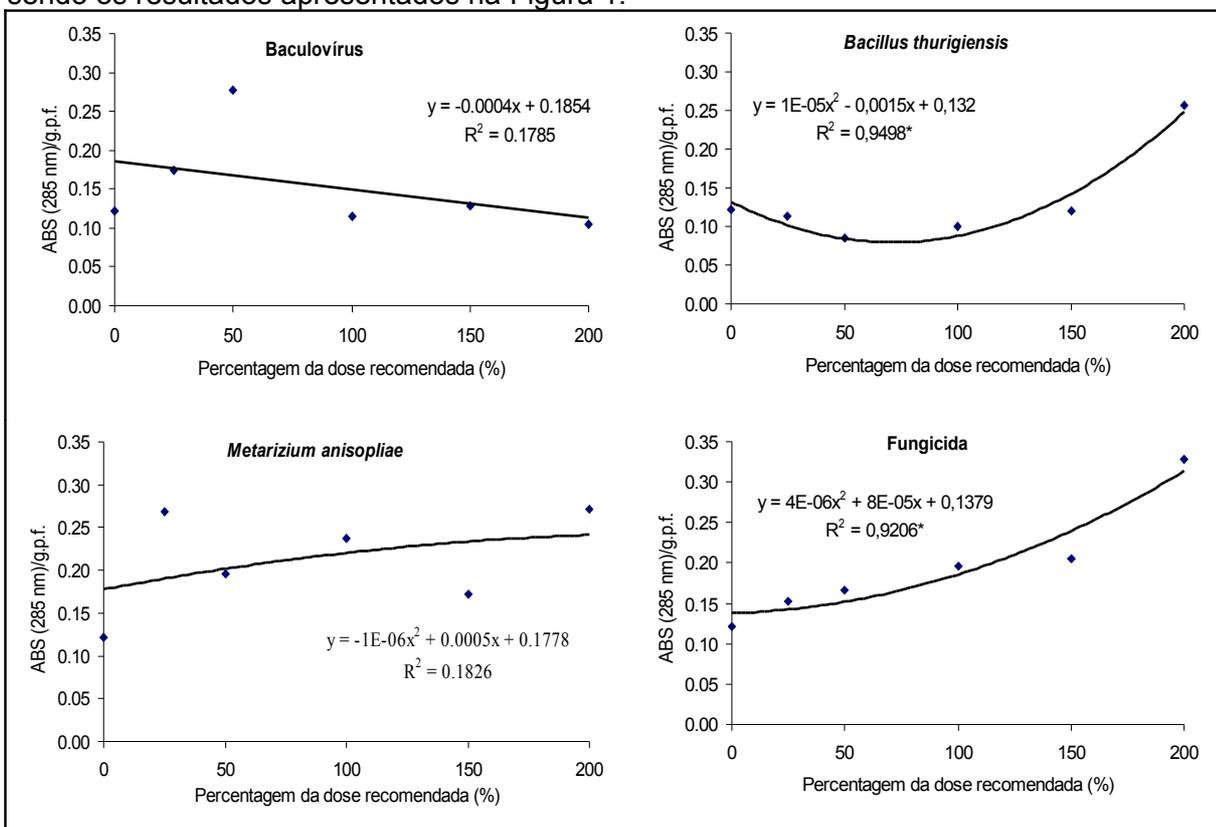


FIGURA 1. Indução de fitoalexina gliceolina em cotilédones de soja pelo tratamento com os entomopatógenos Baculovirus (Copervirus - dose recomendada 0,17 g.L⁻¹), *Bacillus thuringiensis* (Dipel - dose recomendada 3,3 mL.L⁻¹) e *Metarhizium anisopliae* (Metanat EF - dose recomendada 10 mL.L⁻¹) e fungicida (Azoxistrobina + ciproconazol - dose recomendada 1,5 mL.L⁻¹). Dois Vizinhos, 2008. *Significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste de Duncan.

Guzzo & Martins (1996), observaram resultados semelhantes quando aplicada *B. thuringiensis* em tecido foliar de cafeeiro promovendo ao aumento da atividade das enzimas relacionadas à proteção das plantas contra ferrugem causada por *Hemileia vastatrix*.

Na avaliação das doenças constatou-se apenas a ocorrência de oídio causado por *Microsphaera diffusa*, sendo que, apenas tratamento com *Bacillus thuringiensis* associado com *Metarhizium*

Resumos do VI CBA e II CLAA

anisopliae apresentou efeito contra a doença, quando analisada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da incidência, sendo os resultados apresentados na Tabela 1.

TABELA 1. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da incidência de oídio *Microsphaera diffusa* Cooke & Peck, desfolha em plantas e produtividade de soja tratada com os entomopatógenos Baculovirus (Copervirus - 0,17 g.L-1), *Bacillus thuringiensis* (Dipel - 3,3 mL.L-1) e *Metarhizium anisopliae* (Metanat EF - 10 mL.L-1) e fungicida (Azoxistrobina + ciproconazol - 1,5 mL.L-1). Dois Vizinhos, 2007/2008.

Tratamentos	AACPD		Desfolha (%)		Produtividade (kg. ha ⁻¹)	
Baculovirus	3509,2	ab	10,5	cde	1.716,0	ns
<i>Bacillus thuringiensis</i>	3499,4	ab	9,8	de	1.811,5	
<i>Metarhizium anisopliae</i>	3624,8	a	18,7	a	1.858,0	
Baculovirus + <i>B. thuringiensis</i>	3475,6	ab	8,6	e	1.853,0	
Baculovirus + <i>M. anisopliae</i>	3118,5	ab	13,2	bcd	1.586,6	
<i>B. thuringiensis</i> + <i>M. anisopliae</i>	2978,9	b	7,3	e	1.672,1	
Controle químico com fungicidas	3417,4	ab	16,8	ab	1.744,9	
Testemunha	3531,8	a	14,7	abc	1.775,1	
Coeficiente de Variação (%)	9,7		12,8		11,5	

Médias seguidas de mesmas letras ou "ns" nas colunas não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Duncan.

Cia (2005), observou a redução na incidência de antracnose em fruto de mamão causada por *Colletotrichum gloeosporioides* quando realizada a aplicação de *B. thuringiensis*.

Conclusões

Apesar da existência de efeito dos tratamentos sobre desfolha e oídio, nenhum tratamento apresentou efeito sobre a produtividade. Os resultados obtidos com a aplicação de *B. thuringiensis* demonstram o potencial do uso do entomopatógeno na defesa contra doenças.

Referências

CIA, P. Avaliação de agentes bióticos e abióticos na indução de resistência e no controle pós-colheita da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamão (*Carica papaya*). Piracicaba, 2005. 197 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura. "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Phytopathology*, Berlim, v. 144, n. 9/10, p. 449-454, 1996.

MOSCARDI, F. Uso de Baculovirus e *Bacillus thuringiensis* no controle de lagarta da soja, *Anticarsia gemmatalis*. In: CORRÊA-FERREIRA, B. S. (Org.). *Soja orgânica: alternativas para o manejo dos insetos-pragas*. Londrina: Embrapa Soja, 2003. 83 p.

PANIZZI, A.R., et al. *Insetos da soja no Brasil*. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1977. 20 p. (Boletim Técnico, 1).