CONTROLE DE PODRIDÃO DE SCLEROTINIA E RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA EM PLÂNTULAS DE COUVE DE BRUXELAS POR MEIO DE TRATAMENTO DE SEMENTES COM INDUTORES BIÓTICO E ABIÓTICOS

LETÍCIA RODRIGUES^{1,2*}, EDUARDA MAIA PASSAGLIA³, TATIANA KUCIAK³,
DAIANI BRANDLER⁴, VANESSA NEUMANN SILVA⁵, PAOLA MENDES
MILANESI^{2,6}

1 Introdução

A couve de bruxelas (*Brassica oleracea* L. var. *gemmifera*), é uma brássica rica em nutrientes (LUENGO et al. 2011). A cultura é suscetível a podridão de Sclerotinia, causada pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (DERBYSHIRE; DENTON, 2016). A doença pode ser transmitida por sementes infectadas, então torna-se importante o tratamento destas, para evitar a disseminação do patógeno (ALMEIDA et al., 2005). O uso de indutores de resistência, tanto bióticos quanto abióticos, pode ser uma opção para o manejo dessa doença, visto que já há eficiência comprovada em outros patossistemas (GURGEL et al., 2014).

2 Objetivos

Verificar a eficiência de indutores de resistência biótico e abióticos sobre a qualidade fisiológica e incidência de podridão de Sclerotinia em sementes de couve de bruxelas e quantificar as respostas de resistência proporcionadas pelos tratamentos em plântulas.

3 Metodologia

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação na Universidade Federal da Fronteira Sul – Campus Erechim (RS), em delineamento experimental inteiramente casualizado, com o número de repetições especificado para cada

1 Acadêmica do curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, **Bolsista**, contato: lethirodrigues.uffs@gmail.com

2 Grupo de Pesquisa: Manejo Sustentável dos Sistemas Agrícolas (MASSA).

³ Acadêmica do curso de Agronomia, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim.

⁴ Eng. Agrônoma, M.Sc. em Ciência e Tecnologia Ambiental, Professora Substituta, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim.

⁵ Eng. Agrônoma, Dra. em Fitotecnia, Professora Adjunta, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó.

⁶ Eng. Agrônoma, Dra. em Agronomia, Professora Adjunta, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, **Orientadora**.

teste. Foram utilizadas sementes de couve de bruxelas, sem tratamento químico, com 89% de germinação.

As sementes de couve de bruxelas foram inoculadas com um isolado de *Sclerotinia sclerotiorum* por meio da técnica de restrição hídrica com manitol ($C_6H_{14}O_6$) como restritor osmótico. O patógeno foi cultivado em placas de Petri com meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), suplementado com manitol, assegurando um potencial hídrico de $-0,6$ MPa (TORTELLI et al., 2020).

Após sete dias de incubação (BOD a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas), as sementes previamente submetidas à assepsia, foram distribuídas em camada única sobre o meio BDA com manitol, contendo o patógeno. As sementes foram incubadas a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas, permanecendo em contato direto com *S. sclerotiorum* por 4 horas (conforme teste piloto) e, após, foram removidas do meio de cultura, permanecendo sob temperatura ambiente para secagem durante 24 horas.

Em seguida, as sementes foram tratadas com: T1) suspensão de *Saccharomyces cerevisiae* ($2,0$ mL kg^{-1} semente); T2) Extrato etanólico de própolis (EEP) marrom ($2,5$ mL kg^{-1} semente); T3) Quitosana ($2,0$ mL kg^{-1} semente); T4) Acibenzolar-S-metil ($0,4$ g p.c. kg^{-1} semente); T5) Controle água ($2,0$ mL kg^{-1} semente); T6) Controle álcool de cereais 70% ($2,5$ mL kg^{-1} semente); e T7) Controle ácido acético ($2,0$ mL kg^{-1} semente). Após tratadas, as sementes ficaram sob temperatura ambiente por 24 horas para secagem. Foram realizados os seguintes testes:

Germinação de sementes e incidência de *S. sclerotiorum*: conduzido com oito repetições de 25 sementes (BRASIL, 2009), em caixas tipo ‘gerbox’. Após a semeadura, as caixas foram dispostas em incubadora BOD a 20 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas. As avaliações foram realizadas por meio de contagens aos 5 e 10 dias após semeadura. A incidência (%) de *Sclerotinia sclerotiorum* em cada tratamento foi determinada pelo método de “blotter test”, em caixas “gerbox”. As sementes foram incubadas por 5 dias (20 °C e fotoperíodo de 12 h), quando se determinou o percentual (%) de incidência do patógeno.

Emergência à campo: em casa de vegetação, realizou-se a semeadura em bandejas (200 células; 18 mL/célula) em quatro repetições de 50 sementes. A avaliação de plântulas emergidas (%) foi realizada aos 14 dias após a semeadura, quando também quantificou-se a incidência (%) de podridão de *Sclerotinia* em plântulas por tratamento.

Indução de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo: considerado uma importante referência em ensaios de indução de resistência, a quantificação da fitoalexina deoxiantocianidina em sorgo foi realizada conforme metodologia adaptada de Baldin et al (2013), com três repetições por tratamento.

Proteínas solúveis e Fenilalanina amônia-liase (FAL): amostras de plântulas provenientes de cada tratamento foram maceradas em nitrogênio líquido e mantidas a -80°C até o momento das análises. A seguir, a concentração de proteínas foi mensurada pelo método Coomassie Blue (BRADFORD, 1976), e a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 590 nm. A atividade da FAL foi avaliada conforme descrito por RODRIGUES et al. (2006).

Análise estatística: os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e comparação de médias pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), com o auxílio do *software* SISVAR versão 5.6 (FERREIRA, 2011).

4 Resultados e Discussão

Para a emergência o melhor desempenho foi obtido em T5 (controle água) e o tratamento que apresentou o pior índice foi T2 (EEP a 30%), destoando dos resultados observados na germinação das sementes de couve de bruxelas (Tabela 1). O ácido acético (T7) inibiu a germinação em ambos os testes, não sendo possível quantificar, posteriormente, as respostas de resistência induzida em plântulas desse tratamento.

Para a incidência de *Sclerotinia sclerotiorum*, em laboratório, o menor índice da doença foi verificado em T6 (controle - álcool de cereais), mesmo não diferindo estatisticamente de T2, T3, T4 e T5. Já o pior controle do patógeno foi obtido em T1 (*Saccharomyces cerevisiae*). Tais resultados foram replicados em casa de vegetação (Tabela 1).

Não houve diferença significativa para a fitoalexina deoxiantocianidina, embora um discreto aumento tenha sido obtido em T3 (quitosana 3%), T1 (*S. cerevisiae*) e T4 (Acibenzolar-S-metil). O teor de proteínas totais também não diferiu, embora denote-se que nos controles com água destilada (T5), álcool de cereais (T6) e quitosana 3% (T3) houve ligeiro acréscimo, com média de 14,23 mg de proteína g^{-1} tecido. A atividade da FAL foi estimulada com a aplicação do ASM (T4) o qual obteve a melhor resposta, uma vez que houve diferenças em comparação aos resultados da testemunha (Tabela 2).

Tabela 1. Germinação (%), incidência em rolo de papel (%), emergência à campo (%) e incidência em plântulas (%; aos 14 dias após a semeadura), em couve de bruxelas, cujas sementes foram submetidas ou não a exposição com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratadas com: *Saccharomyces cerevisiae* (T1); extrato etanólico de própolis marrom (EEP) a 30% (T2); quitosana a 3% (T3); acibenzolar-S-metil (T4); controle água (T5); controle - álcool de cereais (T6); e controle - ácido acético (T7).

Tratamento	Germinação	Incidência ¹	Emergência ¹	Incidência ¹
	%			
T1	82,5 ab ²	15,0 a	52,0 b	14,5 a
T2	84,0 ab	6,5 b	27,0 c	6,5 ab
T3	77,0 b	2,0 b	50,0 b	3,0 b
T4	15,5 c	3,5 b	37,5 bc	3,5 ab
T5	86,0 ab	5,0 b	81,0 a	5,0 ab
T6	87,0 a	1,5 b	52,0 b	1,0 b
T7	0,0 d	0,0 b	0,0 d	0,0 b
Média	61,7	4,7	42,7	4,7
C.V. (%) ³	6,9	32,2	10,4	43,6

¹ Transformação vx+1. ² Médias seguidas pela mesma letra minúscula, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p = 0,05). ³ Coeficiente de variação.

Tabela 2. Indução da fitoalexina deoxiantocianidina (Abs 480 nm) por grama de peso fresco (g p.f.) em mesocótilos estiolados de sorgo, teor de proteínas totais (mg/g de tecido) e expressão da enzima Fenilalanina amônia-liase (FAL; Uabs/min/mg de proteína) em plântulas (15 dias após a semeadura), provenientes de sementes de couve de bruxelas submetidas ou não a inoculação com *Sclerotinia sclerotiorum* e tratadas com: *Saccharomyces cerevisiae* (T1); extrato etanólico de própolis marrom (EEP) a 30% (T2); quitosana a 3% (T3); acibenzolar-S-metil (T4); controle água (T5); e controle - álcool de cereais (T6).

Tratamento	Deoxiantocianidina	Proteínas totais	FAL
	Abs 480 nm/g p.f.	mg/g tecido	Uabs/min/mg de proteína
T1	0,2173 ^{ns}	13,43 ^{ns}	0,00155 b ¹
T2	0,1556	12,78	0,00132 b
T3	0,2463	14,01	0,00147 b
T4	0,2006	13,27	0,00180 a
T5	0,1576	14,22	0,00157 b
T6	0,1673	14,46	0,00135 b
Média	0,1938	13,64	0,00155
C.V. (%) ²	38,5	6,83	18,07

¹ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p = 0,05). ² Coeficiente de variação. ^{ns} Não significativo.

5 Conclusão

Os indutores avaliados não estimulam a germinação e a emergência de plântulas e não asseguram redução de incidência do patógeno em relação aos controles água, álcool de cereais e ácido acético. O indutor referência Acibenzolar-S-metil estimula a atividade da FAL em plântulas de couve de bruxelas, mesmo após 15 dias da semeadura. As doses utilizadas para

Saccharomyces cerevisiae e para o EPP não conferem resposta de resistência induzida em couve de bruxelas contra *Sclerotinia sclerotiorum*.

6 Referências Bibliográficas

ALMEIDA, A. M. R. et al. **Doenças das plantas cultivadas**. Manual de Fitopatologia. Vol. 2 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.

BALDIN, D. et al. 14607 - Extrato etanólico de própolis na indução de fitoalexinas em sorgo e na atividade antifúngica sobre *Botrytis cinerea* e *Phaeoisariopsis griseola*. **Cadernos de Agroecologia**, v. 8, n. 2, 2013.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantity of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248- 254, 1976.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: MAPA, 2009a.

DERBYSHIRE M.; DENTON, G. M. The control of sclerotinia stem rot on oilseed rape (*Brassica napus*): current practices and future opportunities. **Plant Pathology**, v. 65, n. 6, p. 859-877, 2016.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

GURGEL, L.M.S. et al. Metodologia alternativa no manejo da antracnose pós colheita em *Heliconia rostrata*. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, v. 19, n. 1, p. 20-24, 2014.

LUENGO, R. F. A. et al. Tabela de composição nutricional das hortaliças. Brasília-DF: Embrapa Hortaliças, 2011. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/1355126/9124396/Tabela%2BNutricional%2Bde%2BHortali%25C3%25A7as/d4ae0965-9e94-4f19-a20e-b7721bdc1266>>. Acesso em: 15 jun. 2022.

RODRIGUES, A. A. et al. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 492-499, 2006.

TORTELLI, B. et al. Treatments for *Sclerotinia sclerotiorum* on Inoculated Bean Seeds and Effects on Health and Physiological Quality, **Journal of Agricultural Studies**, v.8, n. 1, p. 371-386, 2020.

Palavras-chave: *Brassica oleracea* var. *gemmifera*; escleródios; restrição hídrica; apiagricultura; fenilalanina amônia-liase

Nº de Registro no sistema Prisma: PES-2021-0339

Financiamento: UFFS