

# EFEITO DO ACIBENZOLAR-S-METHYL (BENZOTHIADIAZOLE), COMO INDUTOR DE RESISTÊNCIA SISTÊMICA EM SOJA (*Glycine max* cv. FT-CRISTALINA), SOBRE *Heterodera glycines*<sup>1</sup>

Mara Rúbia da Rocha<sup>2</sup>, Roberto Moretton de Castro<sup>3</sup>, Rondinele Coelho Pina<sup>2</sup> e André Luiz Martini<sup>2</sup>

## ABSTRACT

EFFECT OF ACIBENZOLAR-S-METHYL (BENZOTHIADIAZOLE), AS A SOYBEAN SYSTEMIC RESISTANCE INDUCTOR, ON *Heterodera glycines*

The systemic acquired resistance is an important self defense mechanism of plants against diseases and it can occur naturally or be induced with chemical products. The purpose of this work was to evaluate the effect of acibenzolar-S-methyl (benzothiadiazole) on the induction of resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). The experiment was carried out under greenhouse conditions, at Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, in a completely randomized design with 5 treatments and 6 replications. Inoculum consisted of race 4 of *H. glycines* naturally infested soil, from Chapadão do Céu county. The soybean cv. FT-Cristalina was used for all experiment. Treatments were as follows: 1) control; 2) acibenzolar-S-methyl 0.15 g/l foliar spray; 3) acibenzolar-S-methyl 0.30 g/l foliar spray; 4) acibenzolar-S-methyl 0.15 g/l soil drench; 5) acibenzolar-S-methyl 0.30 g/l soil drench. Treatments were applied 3 times at 15, 30 and 45 days after sowing. At the end of the crop cycle, evaluations were made on number of *H. glycines* females on roots, number of cysts per 100 cm<sup>3</sup> of soil, and number of eggs per cyst. Significant differences were not observed between treatments although fewer females occurred when the product was applied as a soil drench and, when it was applied as a soil drench at the higher concentration, on viable cysts in soil.

**KEY WORDS:** Systemic acquired resistance, benzothiadiazole, soybean cyst nematode.

## RESUMO

A resistência sistêmica adquirida consiste em um importante mecanismo de defesa das plantas contra doenças e pode ocorrer naturalmente ou ser induzida através de tratamento químico. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação do produto acibenzolar -S- methyl (benzothiadiazole, nome comercial: Bion 50 WG), na indução de resistência sistêmica ao nematóide de cisto da soja *Heterodera glycines*. O experimento foi conduzido, sob condições de casa de vegetação, na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Utilizaram-se vasos de cerâmica e um solo naturalmente infestado por *H. glycines*, raça 4, proveniente do município de Chapadão do Céu (GO), e como planta hospedeira a soja 'FT-Cristalina'. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos (1. testemunha; 2. acibenzolar - S- methyl 0,15 g/l em pulverização foliar; 3. acibenzolar - S- methyl 0,30 g/l em pulverização foliar; 4. acibenzolar - S- methyl 0,15 g/l rega no solo; 5. acibenzolar - S- methyl 0,30 g/l rega no solo) e seis repetições. As aplicações foram feitas aos 15, 30 e 45 dias após semeadura. No final do ciclo da cultura, foram avaliados o número de fêmeas de *H. glycines* no sistema radicular, o número de cistos por 100 cm<sup>3</sup> de solo e o número de ovos por cisto. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos, para as variáveis avaliadas. Houve uma tendência de redução tanto do número de fêmeas quando o produto foi aplicado através de rega no solo, quanto do número de cistos, quando a aplicação foi através de rega no solo e na maior concentração do produto.

**PALAVRAS-CHAVE:** Resistência sistêmica adquirida, benzothiadiazole, nematóide de cisto da soja.

## INTRODUÇÃO

A resistência sistêmica adquirida (Systemic acquired resistance – SAR) ocorre naturalmente e consiste em importante mecanismo de defesa das plantas contra doenças, agindo pela estimulação de

resistência sistêmica, duradoura e de amplo espectro após a infecção por patógenos que causam necrose (Moraes 1998). O amplo espectro de SAR contrasta com a resistência específica proporcionada por genes de resistência utilizados em plantas cultivadas e, portanto, pode ser menos suscetível ao fenômeno de

1. Entregue para publicação em setembro de 2000.

2. Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. C.P. 131, CEP 74001-970. Goiânia, GO.

3. Novartis Biociências S.A. Setor Agro. Rua Prof. Vicente Rao, 90. CEP 04706-900. São Paulo, SP.

quebra de resistência. A ativação de SAR também pode ser provocada por extratos microbianos (Pieterse *et al.* 1996), por tratamento químico (White 1979, Ward *et al.* 1991, Malamy & Klessing 1992, Gurlach *et al.* 1996) ou ainda pela colonização da rizosfera por bactérias promotoras do crescimento (Alstrom 1991, Van Peer *et al.* 1991, Wei *et al.* 1991, Kempster 1996).

Vários trabalhos têm demonstrado uma reação de imunidade fisiológica provocada pela ativação de SAR, mas alguns autores, como Ward *et al.* (1991), por exemplo, identificaram nove grupos de genes que, conjuntamente, foram elevados a altos níveis durante a ativação de SAR.

O ácido salicílico desempenha um importante papel na SAR. Ele é acumulado nas plantas após a infecção local, e a SAR não pode ser biologicamente induzida se a planta não for capaz de acumular ácido salicílico, indicando que esse ácido é uma importante molécula envolvida na indução de SAR (Moraes 1998).

Diversos produtos químicos têm sido citados como ativadores de SAR. Até o momento, a única substância derivada de plantas que demonstrou ser um indutor de SAR é o ácido salicílico (White 1979, Malamy & Klessing 1992). Posteriormente, foi sintetizado o ácido 2,6 dicloroisonicotínico (INA), análogo do ácido salicílico que também tem sido demonstrado como ativador de SAR (Metraux *et al.* 1991). No entanto o uso destas duas substâncias tem apresentado fitotoxidez para a maioria das plantas cultivadas.

Recentemente um outro análogo do ácido salicílico, benzothiadiazole (BTH), demonstrou ser um potente ativador de SAR e tem possibilitado a proteção em condições de campo contra um amplo espectro de doenças em diversas culturas (Moraes 1998, Kempster 1998, Dann *et al.* 1998).

A ativação de SAR por BTH foi observada nas culturas de arroz, trigo, fumo, banana, tomate entre outras, geralmente contra doenças causadas por fungos e bactérias (Novartis 1997). Para que os próprios mecanismos de defesa da planta ativada demonstrem toda a sua atividade é necessário um período de tempo entre a aplicação do ativador de plantas e o início da infecção (Novartis, s.d.). A aplicação de BTH em trigo, antes da infecção, resultou em resistência duradoura contra o mildio pulverulento causado por *Erisiphe graminis* f.sp. *tritici*. Segundo Gurlach *et al.* (1996), uma única aplicação de 30 g/ha de BTH pode proteger o trigo contra o mildio pulverulento no campo durante toda a estação,

combinando proteção duradoura com uma desejável baixa taxa de aplicação. Neste experimento, com a aplicação de BTH, os autores obtiveram produção semelhante àquela obtida em plantas tratadas com fungicida padrão.

Dann *et al.* (1998) testaram a aplicação de INA e BTH em soja, sob condições de campo e casa-de-vegetação e observaram redução na severidade de *Sclerotinia sclerotiorum*, agente causal do mofo branco. Este efeito foi mais acentuado em cultivares suscetíveis a esta doença.

Kempster (1998) constatou a indução de resistência ao nematóide *Heterodera trifolii* em bioensaios com plantas de trevo (*Trifolium repens*), através da aplicação de ácido salicílico e BTH. Esta resistência se manifestou pela redução na fecundidade do nematóide, pela inviabilidade de cistos e pelo menor número de ovos dentro dos cistos.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da aplicação de acibenzolar-S-methyl (classe química: benzothiadiazole) na indução de resistência de plantas de soja 'FT Cristalina' ao nematóide de cisto *H. glycines*, sob condições de casa de vegetação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi realizado na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, sob condições de casa de vegetação. Foram utilizados vasos de cerâmica com capacidade para 1,4 litros e, como substrato, um solo naturalmente infestado por *Heterodera glycines*, raça 4, proveniente de uma área de cultivo de soja no município de Chapadão do Céu (GO). A população inicial de *H. glycines* foi determinada após homogeneização e amostragem do substrato, através de extração e contagem de cistos, segundo metodologia descrita por Tihohod (1993).

A semeadura foi realizada no dia 6/11/1998, colocando-se, em cada vaso, quatro sementes de soja, cultivar FT-Cristalina, suscetível a *H. glycines*. Dez dias depois foi realizado o desbaste deixando duas plantas por vaso.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e seis repetições. Os tratamentos foram constituídos da aplicação do produto acibenzolar-S-methyl (nome comercial: Bion 50 WG) através de pulverização foliar ou rega no solo, conforme se segue: 1) testemunha; 2) acibenzolar-S-methyl 0,15 g/l em pulverização foliar; 3) acibenzolar-S-methyl 0,30 g/l em pulverização foliar; 4) acibenzolar-S-methyl 0,15 g/l

rega no solo; 5) acibenzolar-S-methyl 0,30 g/l rega no solo. A aplicação do produto foi feita aos 15, 30 e 45 dias após semeadura.

Durante a primeira quinzena de dezembro foi feita a aplicação do fungicida Tebuconazole (Folicur 0,55 g p.c./l) para controle de mancha alvo (*Corynespora cassiicola*).

Ao final do ciclo da cultura avaliou-se o número de fêmeas de *H. glycines* no sistema radicular, o número de cistos por 100 cm<sup>3</sup> de solo e o número médio de ovos por cisto.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado da avaliação da população inicial de *Heterodera glycines* no substrato, obteve-se uma média de 237 cistos por 100 cm<sup>3</sup> de solo.

As médias dos números de fêmeas nas raízes, cistos por 100 cm<sup>3</sup> de solo e ovos por cisto, estão apresentadas na Tabela 1. Em nenhuma das variáveis avaliadas, foi observado um efeito significativo dos tratamentos, provavelmente porque as dosagens utilizadas foram muito baixas. Como ainda não há recomendação desse produto para a soja e temendo a ocorrência de fitotoxidez devido ao fato de as plantas serem muito novas, utilizaram-se baixas dosagens. Outra hipótese que pode ser levantada para justificar a ausência de resposta significativa foi a aplicação do produto em plantas que já entraram em contato com o patógeno, uma vez que foi feita a semeadura da soja em solo já infestado pelo nematóide *H. glycines*. Segundo a Novartis (1997), a aplicação de produto químico com a finalidade de induzir resistência (SAR)

deve ser feita preventivamente, para que os mecanismos de defesa da planta sejam estimulados.

Embora não tenham sido observadas diferenças significativas, nota-se que as médias obtidas para o número de fêmeas nas raízes apresentaram uma tendência a ser menores naqueles tratamentos em que o produto acibenzolar-S-methyl foi aplicado através de rega no solo (Tabela 1). Nestes tratamentos foram observados valores menores que na testemunha. Pode ser que a aplicação do acibenzolar-S-methyl através de rega no solo tenha resultado em um efeito mais direto sobre o patógeno, o que não era esperado, porque um ativador de resistência sistêmica não deve atuar diretamente sobre o patógeno e sim na ativação dos mecanismos de defesa da planta (Novartis 1997). Por outro lado, pode ser que a absorção radicular do produto seja mais eficiente, o que viria explicar esta tendência observada quando a aplicação foi feita através de rega no solo.

Com relação ao número de cistos/100 cm<sup>3</sup> de solo, observou-se que, mesmo não havendo diferença significativa, todos os tratamentos reduziram a população de *H. glycines*, em relação à testemunha. Esta tendência foi mais acentuada quando o produto foi aplicado em maior concentração e através de rega no solo. Isto é mais uma indicação de que talvez o produto tenha sido aplicado em concentrações muito baixas, sendo recomendável testar outras dosagens.

Os resultados obtidos no presente experimento não confirmam aqueles obtidos por Kempster (1998), que obteve maior número de cistos não viáveis e redução do número de ovos dentro dos cistos, devido à aplicação de ácido salicílico ou benzothiadiazole.

Tabela 1. Tratamentos, número de fêmeas de *Heterodera glycines* nas raízes de soja (*Glycine max*), cultivar FT-Cristalina, número de cistos viáveis e não viáveis por 100cm<sup>3</sup> de solo, e número médio de ovos por cisto viável. Goiânia, GO. 1999.

Tratamentos	Número de fêmeas nas raízes	Número de cistos viáveis e não viáveis /100 cm <sup>3</sup> de solo	Número médio de ovos por cisto viável
1. Testemunha	557,17	351,17	50,63
2. Bion 50 WG 0,15 g/l pulv. foliar	718,83	311,17	81,62
3. Bion 50 WG 0,30 g/l pulv. foliar	647,40	299,20	69,03
4. Bion 50 WG 0,15 g/l rega no solo	461,33	312,67	50,86
5. Bion 50 WG 0,30 g/l rega no solo	461,50	269,00	64,51
C.V. (%)	62,83	30,99	59,93

## CONCLUSÕES

Nas condições em que o trabalho foi desenvolvido, não foram observados efeitos significativos da aplicação de Acibenzolar-S-Methyl sobre a população de *Heterodera glycines*. Houve apenas uma tendência de redução, quando a aplicação foi feita através de rega no solo utilizando uma maior concentração. Acredita-se que a utilização de maiores concentrações do produto possa resultar em efeito significativo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alstrom, S. 1991. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterisation with rizosphere pseudomonads. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 37: 495-01.
- Dann, E, B.Diers, J. Byrum & R. Hammerschmidt. 1998. Effect of treating soybean with 2,6 dichloroisonicotinic acid (INA) and benzothiadiazole (BTH) on seed yields and the level of disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in field and greenhouse conditions studies. *European J. of Plant Pathology*, 104:271-78.
- Gorlach, J, S. Volrath, G. Knauf-Beiter, G. Hengy, U. Beckhove, K. H. Kogel, M. Oostendorp, T. Staub, E. Ward, H. Kessman & J. Ryals. 1996. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell*, 8(4):629-43.
- Kempster, V.N. 1998. Induced resistance to nematodes? *Phytopathology*, 88:46.
- Malamy, J. & D. F. Klessing. 1992. Salicylic acid and plant disease resistance. *Plant J.*, 2:643-54.
- Metraux, J.P, P. Ahl-Goy, T. Staub, J. Speich, A. Steinemann, J. Ryals & E. Ward. 1991. Induced resistance in cucumber in response to 2,6 dichloroisonicotinic acid and pathogens. In Hennecke, H. & D.P.S. Verma. (Eds.) *Advances in Molecular Genetics of Plant Microbe Interactions*. Kluwer Academic Publishers, 1:432-39.
- Moraes, M.G. 1998. Mecanismos da resistência sistêmica adquirida em plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, 6:261-84.
- Novartis. 1997. The plant activator; nature created the concept. *Novartis Crop Protection*. 35p.
- Novartis. s.d. Plant activator. Ativação da resistência de plantas: novo conceito no manejo integrado de doenças. São Paulo, SP. 4 p. (Informe Técnico).
- Pieterse, C.M.J., S. C. M. Van Wees, E. Hoffland, J. A. Van Pelt & L. C. Van Loon. 1996. Systemic resistance in arabidopsis induced by biocontrol bacterial is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. *The Plant Cell*, 8(8):1225-37.
- Tihohod, D. 1993. *Nematologia agrícola aplicada*. Funep/ Unesp, Jaboticabal, SP. 372 p.
- Van Peer, R., G. J. Niemann & B. Schippers. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS417r. *Phytopathology*, 81:728-34.
- Ward, E.R., S. J. Uknes, S. C. Williams, S. S. Dincher, D. L. Wiederhold, D. C. Alexander, P. Al-Goy, J. P. Metraux & J. A. Ryals. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, 3(10):1085-94.
- Wei, G., J. W. Kloepper & S. Tuzun. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Collettrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, 81:1508-12.
- White, R.F. 1979. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology*, 99: 410-12.