

PROTEÇÃO DE MUDAS DE CAFEIEIRO CONTRA *Cercospora coffeicola* PELA UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS VEGETAIS

Daniel R. AMARAL¹ E-mail: dandanruf@yahoo.com.br, Mário L. V. RESENDE¹, Renata S. RESENDE¹

¹Universidade Federal de Lavras/Departamento de Fitopatologia, Lavras, MG.

Resumo:

A resistência induzida se caracteriza pela ativação dos mecanismos latentes de defesa de uma planta e pode ser obtida pelo tratamento com eliciadores abióticos ou bióticos. Este trabalho visou a proteção de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* utilizando extratos vegetais. Pode-se observar que os extratos aquosos folha de café infectada com ferrugem, extrato bruto aquoso (VLA) de vassoura de lobeira (*Solanum lycocarpum*) e extrato de casca de frutos de café proporcionaram a maior proteção de plantas de cafeeiro, comparados com acibenzolar S-metil, um indutor de resistência padrão. Estes extratos proporcionaram uma diminuição na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de 37, 32 e 40 %, respectivamente, quando comparado com a testemunha inoculada. Plantas tratadas com ASM apresentaram 41% menor AACPD que a testemunha inoculada.

Palavras-chave: Cercosporiose, indução de resistência, controle alternativo, café.

PROTECTION OF COFFEE SEEDLINGS AGAINST *Cercospora coffeicola* BY USING PLANT EXTRACTS

Abstract:

The induced resistance is characterized by the activation of latent defense mechanisms of a plant and can be obtained by the treatment with abiotic or biotic elicitors. This work was aimed to protect coffee seedlings against *Cercospora coffeicola* by using plant extracts. It was observed that the aqueous extracts from rusted coffee leaves, from witches' broom diseased branches of 'lobeira' (*Solanum lycocarpum*) and from husks of coffee berries provided the best protection of coffee plants, compared to acibenzolar S-methyl (ASM), a standard inducer of resistance. These extracts provided a decrease in the area under the disease progress curve (AUDPC) of 37, 32 and 40%, respectively, when compared to the inoculated control. Treated plants with ASM provided 41% reduction in AUDPC.

Key words: brown eye spot, induced resistance, alternative control, coffee.

Introdução

A proteção das plantas pode ocorrer por diversos mecanismos, como resistência induzida, que se caracteriza pela ativação de mecanismos latentes de resistência de uma planta, que pode ser obtida pelo tratamento com agentes bióticos, como microrganismos viáveis ou inativados (Stangarlin & Pascholati, 1994) ou abióticos, como por exemplo ácido salicílico (Hammerschmidt & Dann, 1997) e seu análogo acibenzolar S - metil (ASM) (Friedrich et al., 1996), Bion®. A resposta das plantas pode ser, por exemplo, o acúmulo de fitoalexinas, lignina, peroxidases e de proteínas relacionadas à patogênese (Pascholati, 1998). Segundo Smith (1996), eliciadores são moléculas de origem biótica ou abiótica capazes de estimular qualquer resposta de defesa nas plantas. Os eliciadores bióticos compreendem moléculas como oligossacarídeos, glicoproteínas, oligopeptídeos, ácidos graxos e podem estar presentes nas mais diversas formas de vida, como fungos, bactérias e extratos de plantas infectadas por patógenos ou não. Os eliciadores abióticos são representados por metais pesados (HgCl₂) e luz ultravioleta, entre outros (Pascholati & Leite, 1995). A variada natureza química dos eliciadores demonstra que não há uma característica estrutural única que determine a atividade eliciadora (Bonaldo et al., 2004).

A eficiência de extratos vegetais no controle de fitopatógenos *in vitro* e *in vivo* tem sido observada em diversos trabalhos (Gonzaga et al., 2003; Karaman et al., 2003; Okemo et al., 2003). O extrato metanólico de "casca de café" quando aplicado em cacaueiro, na diluição em água de 1:1, reduziu para 21% a incidência de vassoura-de-bruxa, contra 61% na testemunha (Lopes et al., 2003). Extratos aquosos de folhas de café infectadas com *Hemileia vastatrix* foram eficazes no controle de *Phoma costarricensis*, em experimentos com folhas destacadas, em que aplicação preventiva do extrato promoveu proteção contra o supracitado patógeno, com 28% na diminuição na porcentagem da doença quando comparado com a testemunha inoculada (Barguil, 2004). O extrato bruto aquoso (VLA) de vassoura de bruxa de lobeira (*Solanum lycocarpum*), causada por *C. pernicioso*, aplicado em plantas de tomate e cacau promoveram a proteção dessas plantas contra os patógenos *Xantomonas vesicatoria* e *Verticillium dahliae*, com 33% e 40% de diminuição na porcentagem da doença quando comparado com as testemunhas inoculadas, respectivamente. Este extrato também induziu o acúmulo de várias substâncias, relacionadas a defesa da planta como as peroxidases (Cavalcanti et al., 2004; Ribeiro Júnior et al., 2004).

Sendo o pericarpo e o endocarpo de frutos de café (denominado no trabalho como “casca de frutos de café”) e folhas de café infectadas com *H. vastatrix* caídas ao solo, resíduos da cafeicultura, materiais vegetais facilmente disponíveis para os cafeicultores e plantas de lobeira facilmente encontradas na região de cerrado, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de extratos aquosos de folha e de casca de café, ramos de lobeira infectados com *Crinipellis pernicioso* e extrato de folhas de eucalipto na proteção de mudas de cafeeiro.

Material e Métodos

Para obtenção dos extratos vegetais foram empregadas folhas de café naturalmente infectadas por *H. vastatrix*, extrato obtido a partir do pericarpo (exocarpo e mesocarpo) e endocarpo de frutos de cafeeiro (denominado no trabalho como “casca de frutos de café”), folhas de eucalipto (*Corymbia citriodora*) e extrato bruto aquoso (VLA) de vassoura de lobeira (*Solanum lycocarpum*), causada por *C. pernicioso*. Esses órgãos/tecidos vegetais foram processados no Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, para dar origem a extratos. Para isso, 80g do órgão/tecido vegetal moído foram re-suspensos em 400 mL de água destilada e conduzidos à extração a quente, em refluxo, seguida de filtração a vácuo, no caso do extrato de lobeira e para os demais extratos 10 g do órgão/tecido vegetal moído foram re-suspensos em 1000 mL de água destilada e conduzidos à extração a quente, em refluxo, seguida de filtração a vácuo.

Utilizaram-se três testemunhas: 01) testemunha inoculada; 02) testemunha absoluta e 03) mudas pulverizadas com 0,2 g de ASM/L e inoculadas. O cultivar utilizada foi a Acaia Cerrado com um ano de idade. O delineamento utilizado foi de blocos casualizados (DBC), com três repetições e parcela experimental de doze plantas.

O fungo foi obtido a partir de folhas naturalmente atacadas, e inoculado 7 dias depois da pulverização dos tratamentos. Realizaram-se avaliações de quinze em quinze dias, num total de seis avaliações. Avaliou-se a severidade da doença através da escala de Oliveira et al. (1999) e número de lesões por folha. Os valores obtidos foram transformados em área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e do número de lesões (AACPNL).

Resultados e Discussão

As áreas abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) dos tratamentos em que se utilizou o extrato de folhas de café infectado com ferrugem, refluxo a 100°C (EFID 100), extrato bruto aquoso (VLA) de vassoura de lobeira (*Solanum lycocarpum*) e extrato de casca de frutos de café foram menores que aquela apresentada pela testemunha inoculada e semelhante estatisticamente à testemunha absoluta e aquelas tratadas com ASM ao nível de 5% de probabilidade (Figura 1). O extrato de folhas de café infectadas com ferrugem, refluxo a 50°C (EFID 50), apresentou AACPD semelhante estatisticamente à testemunha inoculada ao nível de 5% de probabilidade (Figura 1). Já extrato de eucalipto (*C. citriodora*) apresentou AACPD diferente da testemunha inoculada e dos demais tratamentos ao nível de 5% de probabilidade (Figura 1).

Nenhum dos extratos apresentou efeito direto de toxidez ao fungo, nas dosagens utilizadas, conforme foi observado nos testes de crescimento micelial. Resultado semelhante foi encontrado por Resende et al. (2004), que observaram que alguns extratos não exerciam efeito tóxico ao patógeno, mais conferiram proteção contra doença. O extrato de EFID 100 apresentou uma diminuição de 37% na doença quando comparada a testemunha inoculada. Esporos de *H. vastatrix* inativados por autoclavagem e preparados na forma de extratos aplicados 7 dias antes da inoculação do patógeno, foram capazes de induzir proteção contra *H. vastatrix* (Maxemiuc–Naccache, 1983; Maxemiuc–Naccache & Dietrich, 1985; Guzzo et al., 1987). Resende et al. (2004), observaram uma diminuição na AACPD em plantas tratadas, 7 dias antes da inoculação com extrato aquoso de folha de café infectada por *H. vastatrix*. Segundo Guzzo et al. (1987), a parede do fungo é composta pela combinação de β -glucanas e quitinas, que seriam responsáveis pela resposta de defesa de plantas ao patógeno. No caso do extrato EFID 100, o princípio de atividade pode ser o mesmo, visto que em teste para isolar seu efeito utilizou-se extrato de folhas de café sadio e o extrato de EFID 100. O extrato EFID apresentou AACPD menor que a testemunha inoculada enquanto o extrato de folhas de café sadio apresentou AACPD semelhante à testemunha inoculada (Amaral et al., dados não publicados). Provavelmente, o efeito conferido pelo extrato EFID 50, não tenha sido semelhante ao do EFID 100, por causa da temperatura utilizada na preparação do extrato. A temperatura de 50°C talvez não seja suficiente para inativar o esporo de *H. vastatrix*, e conseqüentemente conferir proteção às plantas de cafeeiro. O extrato de VLA apresentou uma diminuição na severidade da doença de 32% quando comparado à testemunha inoculada. Aguilar et al. (2004), utilizando o mesmo extrato, observaram queda na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) no patossistema cacauero e *Verticillium dahliae* com relação à testemunha inoculada. O extrato de casca de frutos de café também não apresentou atividade tóxica ao fungo, como se observou no teste de crescimento micelial. Entretanto, este extrato foi o que proporcionou a maior diminuição na severidade da doença. Esta diminuição foi de 40% quando comparado a testemunha inoculada. Quando comparado ao produto comercial Bion®, a diferença é mínima, já que a diminuição na severidade da doença proporcionada foi de 39%. O extrato de eucalipto apresentou uma diminuição na severidade da doença da ordem de 21% quando comparado a testemunha inoculada. Bonaldo et al. (2004) observou que extrato de eucalipto (*C. citriodora*) (20%) conferiu proteção local e sistêmica à plantas de pepino quando pulverizado 48 horas antes da inoculação com o patógeno *Colletotrichum lagenarium*.

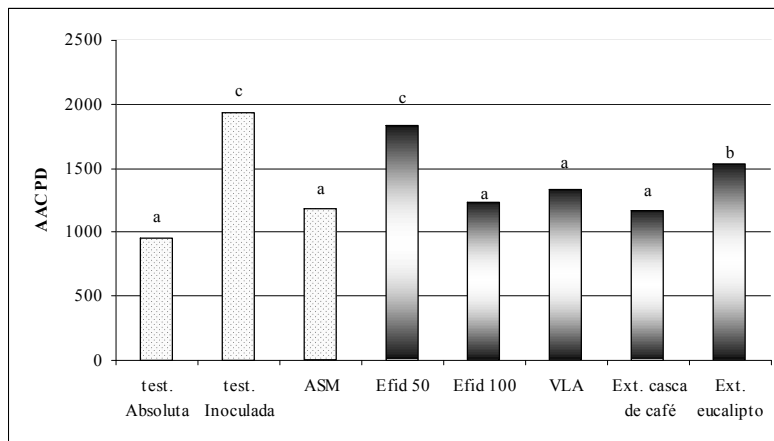


Figura 1 Área abaixo da curva de progresso da severidade da doença. *Letras diferentes diferem pelo teste de Scott & Knott a 5%. ASM – acibenzolar S-metil; EFID 50 – extrato de folha de café infectadas com ferrugem com tratamento térmico à 50°C; EFID 100 - extrato de folha de café infectadas com ferrugem com tratamento térmico à 100°C; VLA – extrato bruto aquoso de lobeira (*Solanum lycocarpum*) infectada com *C. pernicioso*.

O número de lesões também foi avaliado neste experimento. O resultado foi semelhante aquele apresentado para a severidade. Os extratos EFID 100, VLA e casca de frutos de café foram semelhantes entre si e diferentes da testemunha inoculada ao nível de 5% de probabilidade (Figura 2). Barguil (2004) já havia observado que os extratos EFID e casca de frutos de café também influenciavam no tamanho das lesões observados em folhas destacadas de café inoculadas com *P. costarricensis*. A autora observou que estes extratos apresentavam áreas abaixo da curva de progresso do número de lesões (AACPNL) inferior àquela apresentada pela testemunha inoculada.

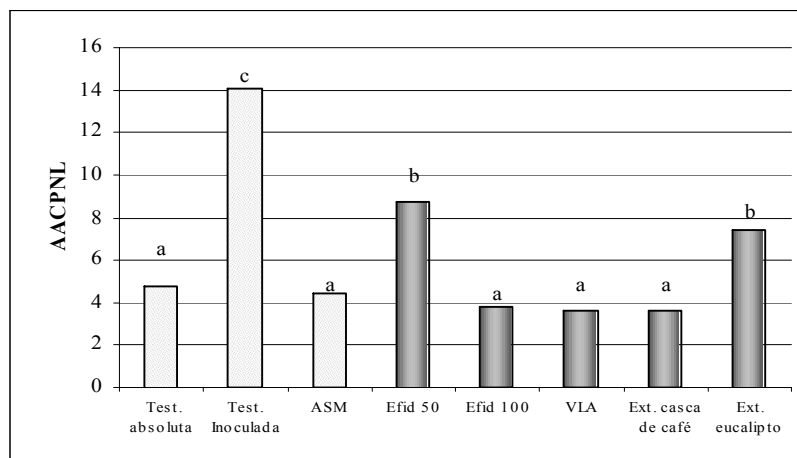


Figura 2. Área abaixo da curva de progresso do número de lesões. *Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott a 5%. ASM – acibenzolar S-metil; EFID 50 – extrato de folha de café infectadas com ferrugem com tratamento térmico à 50°C; EFID 100 - extrato de folha de café infectadas com ferrugem com tratamento térmico à 100°C; VLA – extrato bruto aquoso de lobeira (*Solanum lycocarpum*) infectada com *C. pernicioso*.

O extrato de EFID 50 não influenciou na AACPD, mas no resultado para AACPNL pode-se observar que este extrato diferiu da testemunha inoculada. Isso pode ser devido a um tamanho maior das lesões apresentadas para as plantas tratadas com tal extrato. Em experimento com tomate e *Xantomonas campestris* pv. *vesicatoria*, Ribeiro Júnior et al. (2004) e Cavalcanti et al., (2004), observaram que plantas tratadas com extrato de vassoura-de-lobeira apresentaram menor valor de AACPL (área abaixo da curva de progresso da lesão causada por *X. campestris* pv. *vesicatoria*) sendo inferior apenas ao ASM e Ecolife® e superior as frações parciais de extração de quitosana, provenientes de quitina de carapaça de caranguejo e de micélio de *C. pernicioso* (Pereira et al., 2004). O extrato de eucalipto (*C. citriodora*) apresentou resultado similar a aquele apresentado para severidade.

As plantas tratadas com este extrato apresentaram AACPNL inferior a testemunha inoculada, e superior as plantas tratadas com os extratos EFID 100, VLA e casca de frutos de café.

Com a avaliação do progresso da doença no tempo em plantas tratadas com os extratos, observou-se que aos 35 dias após a pulverização dos tratamentos, plantas pulverizadas com o extrato de casca de frutos de café apresentavam uma

redução na AACPD de 48%, enquanto as plantas tratadas com ASM e a testemunha absoluta apresentavam AACPD 56 e 70% de diminuição na AACPD em comparação a testemunha inoculada, respectivamente (Tabela 1). Aos 50 dias, a redução da AACPD foi de 37%, menor que aquela observada aos 35 dias para as plantas tratadas com o extrato de casca de café. Para as plantas tratadas com ASM e a testemunha absoluta observou-se uma diminuição na AACPD de 55 e 77%, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1: Efeito de extratos vegetais na área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da cercosporiose do cafeeiro.

Tratamentos/DAP*	20 dias	35 dias	50 dias	65 dias	80 dias
Testemunha absoluta	38,41 ^a	97,34 ^a	110,19 ^a	235,03 ^a	248,33 ^a
Testemunha inoculada	72,31 ^b	298,22 ^c	463,48 ^c	524,75 ^c	679,33 ^b
ASM	34,09 ^a	136,25 ^a	208,91 ^b	381,41 ^b	541 ^b
EFID 50**	46,4 ^a	264,34 ^c	440,62 ^c	533,36 ^c	624,66 ^b
EFID 100**	39,98 ^a	216,09 ^b	308,09 ^b	456,11 ^c	618,66 ^b
ext. de casca de café	46,08 ^a	156,53 ^a	293,39 ^b	456,16 ^c	545,66 ^b
VLA**	33,25 ^a	203,19 ^b	359,58 ^c	442,53 ^c	546,66 ^b
ext. de eucalipto	35,35 ^a	268,53 ^c	407,75 ^c	513,36 ^c	580,66 ^b

¹ Letras iguais na coluna não diferem entre si, pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$)

*dias após a pulverização

** EFID 50 – extrato de folha de café com ferrugem, com tratamento térmico a 50°C; EFID 100 – extrato de folha de café com ferrugem, com tratamento térmico a 100°C; VLA – extrato de lobeira (*Solanum lycocarpum*) infectada com *Crinipellis pernicioso*.

Conclusões

Os extratos folhas de café infectadas com ferrugem, casca de frutos de café e extrato bruto de vassoura de lobeira conferem proteção a mudas de cafeeiro diminuindo os níveis de doença com base na área abaixo da curva do progresso da doença e número de lesões.

Referências bibliográficas

- Aguilar, M. A. G.; Ribeiro Júnior, P. M.; Pereira, R. B.; Cavalcanti, F. R.; Sonegheti, S.; Resende, M. L. V. Extratos naturais na proteção de mudas de cacaueteiro contra *Verticillium dahliae* Kleb. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 263, ago. 2004.
- Barguil, B. M. 2004. **Indução de resistência e reação de cultivares *Coffea arabica* L. a *Phoma costarricensis* Echandi.** (Dissertação de Mestrado). Lavras, Universidade Federal de Lavras.
- Bettiol, W. (Ed.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas.** Jaguariúna. EMBRAPA-CNPDA. 1991.
- Bonaldo, S. M.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Tessmann, D. J.; Scapim, Carlos A. 2004. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira** 29 (2), pp.128-134.
- Cavalcanti, f. R.; Ribeiro Júnior, P. M.; Pereira, R. B.; Zaccaroni, A. B.; Villas Boas, C. H.; Resende, M. L. Natural extracts induce lignification on cocoa and tomato leaves In: **REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS, 2.; SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4.**, 2004, Lavras, p.107.
- Friedrich, L., Lawton, K., Ruess, W., Masner, P., Specker, N. Rella, M. G., Meier, B., Dincher, S., Ghini, R. & Kimati, H. **Resistência de Fungos a Fungicidas.** Jaguariúna. Embrapa Meio Ambiente. 2000. p. 74.
- Gonzaga, F.; Leonetti, D. B.; Dringra, O. D. & Stadnik, M. J. Efeito de extratos naturais de plantas no controle de oídio do feijoeiro e de bactérias fitopatogênicas. **Fitopatologia Brasileira** (Suplemento) 28: 363-363. 2003.
- Guzzo, S.D.; Martins, E.M.F.; Moraes, W.B.C. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*. I. Partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. **Fitopatologia Brasileira** 12 (4): 377-385. 1987.
- Hammerschmidt, H. & Dann, E.K. Induced resistance to disease. In: Rechcigl, N.A. & Rechcigl, J.E. (Eds.). **Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control.** Boca Raton: CRC – Lewis Publishers, 1997. Cap.8:177-199.

Karaman, I.; Sahin, F.; Gulluce, M.; Ogutçu, H.; Sengul, M. & Adiguzel, A. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. **Journal of Ethnopharmacology** 85: 231-235. 2003.

Lopes, F. C. A.; Corrêa, L. G. G.; Vilas-Bôas, C. H.; Resende, M. L. V. Uso do extrato de casca de café para o controle da vassoura-de-bruxa em mudas de cacau. **Fitopatologia Brasileira** (Suplemento)28: 353-353. 2003.

Maxemiuc–Naccache, V. 1983. **Alterações bioquímicas em folhas de *Coffea arabica* resistentes e suscetíveis à infecção por *Hemileia vastatrix* (ferrugem do cafeeiro)**. (Tese de Doutorado). São Paulo, Escola Paulista de Medicina.

Maxemiuc–Naccache, V.; Dietrich, S.M.C. Changes in phenols and oxidative enzymes in resistant and susceptible *Coffea arabica* inoculated with *Hemileia vastatrix* (coffee rust). **Revista Brasileira de Botânica** 8: 185-190. 1985. 145 p.

Okemo, P. O.; Bars, H. P.; Vivanco, J. M. In vitro activities of *Maesa lanceolata* extracts against fungal plant pathogens. **Fitoterapia** 74: 312-316. 2003.

Oliveira, C.A.; Pozza, E.A.; Oliveira, V.B.; Santos, R.C.; Chaves, Z.M. Escala diagramática para avaliação da severidade de cercosporiose em folhas de cafeeiro. In: **SIMPÓSIO DOS CAFÉS DO BRASIL**, 2, 2001, Vitória. Resumos... Vitória: Embrapa café, 2001. p. 80.

Pascholati, S.F. 1998. Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos. Tese de Livre Docência. Piracicaba. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

Pascholati, S.F.; Leite, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H. & Amorim, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. Vol. I. São Paulo. Agronômica Ceres. 1995. pp. 417-53.

Pereira, R. B.; Zaccaroni; Ribeiro-Junior, P. M.; Cavalcanti, F. R.; Resende, M. L. Produtos comerciais e extratos naturais no controle da mancha bacteriana causada por *Xanthomona campestris* pv. *vesicatoria* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 260, ago. 2004. Suplemento.

Resende, M.L.V.; Barguil, B.M.; Resende, R.S.; Beserra Júnior, J.E.A. & Salgado, S.M.L. Induction of resistance against *phoma costarricensis* on coffee leaves by extracts from citrus pulp and coffee leaves and husks. **The International Joint Workshop on PR-Proteins and Induced Resistance**. Helsingor, Dinamarca, p. 79., 2004.

Ribeiro-Júnior, P. M.; Pereira, R. B.; Cavalcanti, F. R.; Zaccaroni, A. B.; Resende, M. L. V. Lignificação induzida por extratos naturais e produtos comerciais em tomateiro infectado por *Xantomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 261, ago. 2004. Suplemento.

Smith, C.J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist** 132:1-45. 1996.

Stangarlin, J. R.; Pascholati, S. F. Atividade de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (rubisco), clorofilase, β -1,3-glucanase e quitinase e conteúdo de clorofila em cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) infectados com *Uromyces appendiculatus*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 34-42, jan./mar. 2000.

Zadoks, J.C. The costs of change in plant protection. **Journal of Plant Protection** 9:151-159. 1992.