

Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na Produtividade de Sorgo e na Severidade de Doenças Foliares no Campo

Everaldo Piccinin, Robson M. Di Piero & Sérgio F. Pascholati

Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Fitopatológica, Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Cx. Postal 09, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Fax (019) 3434-4839, e-mail: sfpascho@esalq.usp.br

(Aceito para publicação em 30/11/2004)

Autor para correspondência: Sérgio Florentino Pascholati

PICCININ, E., DI PIERO, R.M. & PASCHOLATI, S.F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo. Fitopatologia Brasileira 30:5-9. 2005.

RESUMO

Saccharomyces cerevisiae é uma levedura com potencial para o controle de doenças de plantas, pois apresenta a capacidade de sintetizar compostos antibióticos, habilidade de competição por espaço e nutrientes no filoplano de muitas espécies vegetais, além de possuir elicitores na parede celular. O presente trabalho teve como objetivos avaliar a produtividade de duas cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor*) tratadas com a levedura, e verificar o controle da antracnose, causada por *Colletotrichum sublineolum* e da mancha foliar, provocada por *Exserohilum turcicum*. Os experimentos foram conduzidos em campo, em um delineamento de blocos ao acaso, com sete tratamentos e quatro repetições. Aplicações semanais de *S. cerevisiae* (Fermento Biológico Fleischmann – 25 mg/ml) reduziram significativamente a antracnose em sorgo cv. Tx-398B e melhoraram a produtividade da mesma. Na cv. 910753, uma única aplicação com a levedura foi suficiente para reduzir o progresso da mancha foliar, porém a produtividade não foi elevada por qualquer um dos tratamentos. Conclui-se que *S. cerevisiae* apresenta um bom desempenho no campo para o controle de doenças foliares em sorgo, melhorando ou não comprometendo a produtividade da cultura, na dependência da cultivar utilizada.

Palavras-chave adicionais: antracnose, mancha foliar, controle biológico, indução de resistência.

ABSTRACT

Effect of *Saccharomyces cerevisiae* on sorghum productivity and on leaf disease severity in the field

Saccharomyces cerevisiae is a yeast with potential to control plant diseases by producing antibiotic compounds. It has shown, a great ability to compete at phyloplane for space and nutrients and by having elicitors in the cell walls. The present study was carried out to evaluate the productivity of sorghum (*Sorghum bicolor*) plants treated with the yeast and control of sorghum leaf diseases caused by *Colletotrichum sublineolum* and *Exserohilum turcicum*. The trials were conducted in the field, in a randomized block design, with seven treatments and four replicates. Weekly sprayings with commercial baker's yeast (*Fermento Biológico Fleischmann* – 25 mg/ml) significantly reduced the anthracnose on sorghum Tx-398B cultivar and improved its production. On the other hand, for the 910753 cultivar, a single yeast application was enough to reduce leaf spot progress, although production was not increased by any of the treatments. Thus, *S. cerevisiae* was able to control sorghum leaf diseases in the field, either improving or maintaining productivity, depending upon the cultivar used.

Additional keywords: anthracnose, leaf spot, biological control, resistance.

INTRODUÇÃO

O sorgo (*Sorghum bicolor* Moench) é um dos principais cereais cultivados e consumidos no mundo, passando a ter destaque na economia agrária do Brasil a partir da década de 80 (Roque & Guatimosim, 1985).

Entre os graves problemas da cultura, a antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum sublineolum* Ces (Wils) e a mancha foliar de *Exserohilum turcicum* (Pass.) se destacam em virtude da ampla ocorrência nas regiões produtoras e pelas altas perdas provocadas. São doenças favorecidas por

temperaturas na faixa de 22 a 28 °C e alta umidade relativa do ar (Frederiksen, 1991).

O controle dessas doenças se dá principalmente pela utilização de resistência varietal. No entanto, o elevado número de raças desses fungos tem levado os pesquisadores a buscarem medidas alternativas de controle, nas quais se encaixam o controle biológico e a indução de resistência (Pascholati, 1998).

Diversos trabalhos mostraram o potencial de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen em controlar doenças de plantas. A levedura, formulada como Fermento Biológico

Fleischmann, protegeu plantas de sorgo contra *C. sublineolum* na dose de 1 mg/ml do fermento, em casa de vegetação. No campo, os melhores resultados foram obtidos com as doses de 15 a 25 mg/ml, em intervalos de tempo entre o tratamento com a levedura e a inoculação do fitopatógeno inferiores a sete dias (Lopez, 1991).

A aplicação do filtrado de cultivo de *S. cerevisiae* em folhas de café (*Coffea arabica* L.), 72 h antes da inoculação com *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., agente causal da ferrugem, induziu resistência ao patógeno (Martins *et al.*, 1986). Já no tratamento utilizando o fermento comercial, Roveratti (1989) encontrou correlação entre a proteção das plantas de café e efeitos diretos sobre *H. vastatrix* (redução do número de uredosporos presentes na superfície foliar e inibição da germinação dos que restaram nas folhas), sem evidenciar a indução de resistência nas plantas. Segundo o mesmo autor, a maior redução na severidade da ferrugem foi obtida quando o tratamento com a levedura foi efetuado até duas semanas antes da inoculação com *H. vastatrix*, utilizando-se concentrações iguais a ou maiores que 20 mg/ml do produto comercial.

Até o momento, poucos estudos foram conduzidos para se avaliar a produtividade das plantas tratadas com *S. cerevisiae*. Assim, tendo em vista os resultados já alcançados com a levedura, e considerando a fácil disponibilidade para aquisição ou cultivo da mesma, o presente trabalho teve como objetivos avaliar a produtividade de duas cultivares de sorgo tratadas com o fermento biológico comercial e verificar a proteção dessas cultivares contra a antracnose e a mancha foliar, em campo.

MATERIALE MÉTODOS

Cultivares de sorgo utilizadas e instalação do campo experimental

Foram utilizadas as cultivares de sorgo granífero Tx-398B (suscetível a *C. sublineolum*) e 910753 (suscetível a *E. turcicum*), plantadas no espaçamento de 1 m entrelinhas e dez plantas/m, em campo experimental do Setor de Fitopatologia, ESALQ/USP. Sementes de ambas as cultivares foram fornecidas pelo Centro Nacional de Milho e Sorgo/EMBRAPA, Sete Lagoas, MG. As cultivares foram semeadas em áreas vizinhas, separadas por uma bordadura central de 2 m, constituída por cultivares de sorgo resistentes aos patógenos. Para cada cultivar foram elaborados quatro blocos contendo sete linhas de plantio, e uma linha de plantio com 5 m de comprimento constituiu-se a unidade experimental.

Tratamentos realizados

Foram realizados sete tratamentos nos dois campos estudados: (A) testemunha não-inoculada; (B) testemunha inoculada; (C) levedura aplicada uma única vez, 24 h antes da inoculação com o fitopatógeno; (D) levedura aplicada uma única vez, 24 h após a inoculação; (E) levedura aplicada semanalmente; (F) fungicida aplicado semanalmente; (G) fungicida aplicado uma única vez, 24 h antes da inoculação. Cada tratamento contou com quatro repetições (uma repetição/bloco).

A levedura empregada foi *S. cerevisiae*, formulada comercialmente (Fermento Biológico Fleischmann), adquirida no mercado na forma de tabletes de 15 g, e utilizada nas plantas em dosagem de 25 mg/ml. As pulverizações das suspensões de levedura, preparadas no momento de uso, foram realizadas após as 17 h do dia e feitas de modo a cobrir toda a superfície foliar até o ponto de escorrimento. O fungicida utilizado foi o Propiconazole, na dose de 2,5 ml/litro de água destilada.

Produção de inóculo e inoculação das plantas

Colletotrichum sublineolum foi cultivado em meio de aveia, sob luz U.V. (340 nm), a 23 °C durante 15 dias. No campo semeado com a cv. Tx-398B, cada planta foi inoculada com 10 ml de uma suspensão de esporos do fungo (4×10^5 esporos/ml), aplicada em todas as folhas das plantas, exceção feita para as plantas do tratamento (A).

No caso de *E. turcicum*, o patógeno foi cultivado em grãos de sorgo mantidos em frascos erlenmeyers de 250 ml. Cada frasco recebeu 50 g de grãos mais 40 ml de água destilada e foi autoclavado duas vezes, com um intervalo de 24 h entre as autoclavagens. Foram repicados seis discos de meio de cultura BDA (0,5 mm diâmetro) contendo crescimento micelial do fungo em cada frasco, e a incubação se deu a 25 °C, sob condição de escuro, em estufa comum. Após 40 dias, os grãos estavam tomados pelo patógeno e foram utilizados para a inoculação das plantas da cultivar 9107053, realizada através da adição de três grãos colonizados no cartucho de cada uma das plantas, exceção feita para as plantas do tratamento (A).

A inoculação em ambos os campos foi realizada aos 37-38 dias após a semeadura, quando as plantas se encontravam no estágio fenológico 15 (Frederiksen, 1991).

Avaliação dos ensaios

As avaliações de severidade das doenças foram iniciadas cinco dias após as inoculações, sendo realizadas avaliações semanais em cada ensaio durante seis semanas. Foram amostradas 20 plantas/tratamento (cinco plantas/unidade experimental).

Para a cultivar Tx-398B, inoculada com *C. sublineolum*, utilizou-se uma escala diagramática como referência para estimar a severidade da antracnose (Piccinin, 1995). Para a cultivar 9107053, a severidade foi estimada a partir da área foliar lesionada em relação à área foliar total. A fórmula largura da lesão x comprimento da lesão x $\pi/4$ foi adotada para se calcular a área de cada lesão de *E. turcicum* (lesões semelhantes a elipse) (Kochman & Brown, 1975), enquanto a área foliar foi determinada através da fórmula comprimento foliar x largura foliar x 0,75 (Francis *et al.*, 1969). A medida utilizada para a análise estatística dos tratamentos foi a área sob a curva de progresso da doença, calculada por interpolações lineares entre os níveis de doença nas sucessivas datas de avaliação da severidade.

A colheita foi realizada aos 110 e 140 dias após o plantio dos campos com TX-398B e 9107053 respectivamente, e as panículas foram secas durante sete dias em estufa com circulação de ar forçado a 45 °C. Os grãos foram então retirados

e pesados para a comparação da produtividade dos tratamentos em cada um dos ensaios.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O clima chuvoso que predominou durante a condução do experimento favoreceu a disseminação de *C. sublineolum* entre plantas, demonstrada pela elevada severidade da antracnose no tratamento onde as plantas não foram artificialmente inoculadas (Figura 1), bem como favoreceu as epidemias nas cultivares Tx-398B (susceptível a *C. sublineolum*) e 9107053 (susceptível a *E. turcicum*).

Nesse ambiente, uma única aplicação com a levedura *S. cerevisiae* não foi eficaz no controle da antracnose (Figura 1) e também não trouxe benefícios à produção da cultivar Tx-398B (Figura 2). Por outro lado, aplicações semanais reduziram

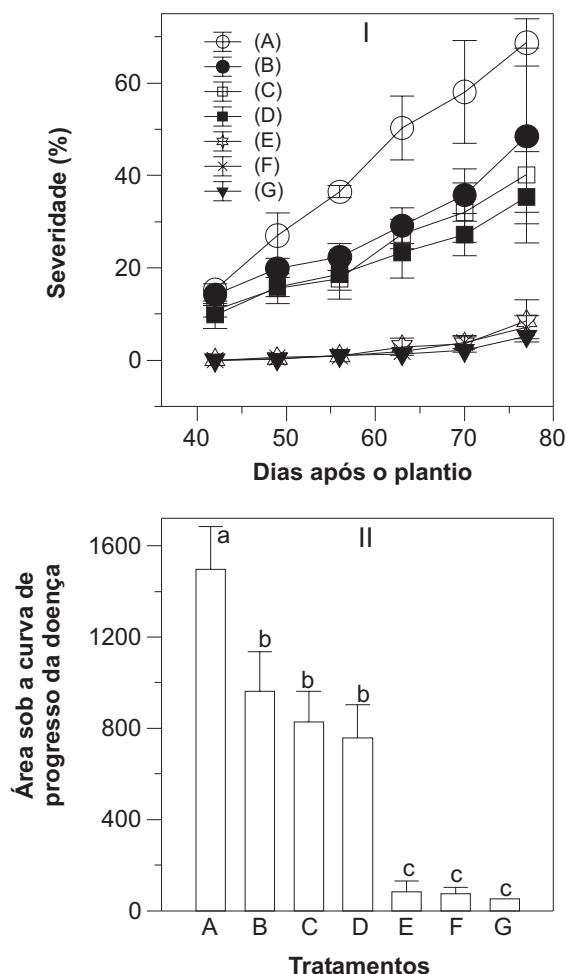


FIG. 1 - Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* no progresso da antracnose em campo de sorgo (*Sorghum bicolor*) (cv. Tx-398B) inoculado com *Colletotrichum sublineolum*. I – severidade da doença ao longo do tempo; II – área sob a curva de progresso da doença. (A) testemunha não-inoculada; (B) testemunha inoculada; (C) levedura aplicada 24 h antes da inoculação; (D) levedura aplicada 24 h após a inoculação; (E) levedura aplicada semanalmente; (F) fungicida aplicado semanalmente; (G) fungicida aplicado 24 h antes da inoculação.

a velocidade de progresso da doença, em magnitude semelhante ao tratamento com fungicida (Figura 1). Esse atraso na evolução da epidemia de antracnose pode ter contribuído para o aumento de produtividade verificado em plantas de sorgo tratadas semanalmente com a levedura ou com fungicida em relação à testemunha inoculada. Deve-se ressaltar que não houve diferenças estatísticas quanto à produção entre os tratamentos quando comparados pelo teste de Tukey a 5% (Figura 2), entretanto, contrastando os quatro primeiros tratamentos contra os três últimos (levedura semanal, fungicida semanal e fungicida uma vez) encontrou-se um aumento significativo para a produção do segundo grupo, através do teste F.

O resultado foi diferente no campo inoculado com *E. turcicum*. Houve redução na quantidade de doença mesmo com uma única aplicação da levedura, independente do tempo de pulverização (Figura 3). No entanto, tratamento algum propiciou aumento significativo na produtividade da cultivar 910753 (Figura 4), mostrando que essa cultivar apresenta tolerância à mancha foliar.

A ação de *S. cerevisiae* no controle das doenças pode ocorrer diretamente sobre os fitopatógenos através de mecanismos de antibiose e competição por espaço e por nutrientes. Silva & Pascholati (1992) demonstraram que, além das suspensões de células de *S. cerevisiae*, o filtrado de cultivo da levedura inibiu a germinação de esporos e a formação de apressórios por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wils. e protegeu plantas de milho (*Zea mays* L.) contra o fitopatógeno. Resultados semelhantes com preparações da levedura foram encontrados por Stangarlin & Pascholati (1994) na interação milho x *E. turcicum*, os quais reforçam a antibiose como um modo de ação importante de *S. cerevisiae*.

Sabe-se, ainda, que espécies do gênero *Colletotrichum* precisam de fonte de energia externa ao conídio para germinarem. Nesse sentido, as leveduras, constituindo eficientes competidoras por açúcar no filoplano da maioria das

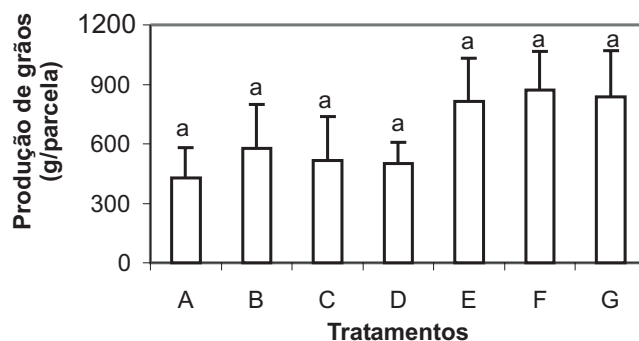


FIG. 2 - Produtividade de sorgo (*Sorghum bicolor*) (cv. Tx-398B), em campo inoculado com *Colletotrichum sublineolum*, avaliada aos 110 dias após o plantio. (A) testemunha não-inoculada; (B) testemunha inoculada; (C) levedura aplicada 24 h antes da inoculação; (D) levedura aplicada 24 h após a inoculação; (E) levedura aplicada semanalmente; (F) fungicida aplicado semanalmente; (G) fungicida aplicado 24 h antes da inoculação.

espécies cultivadas, representam uma alternativa para o controle desse tipo de fitopatógeno (Windels & Lindow, 1985; Tokeshi, 1991).

Outro aspecto a considerar é a presença de elicitores nas células e preparações de *S. cerevisiae* (Hahn & Albersheim, 1978; Wullf & Pascholati, 1999), os quais ativam os mecanismos de defesa da planta, contribuindo para o controle de doenças. Lopez (1991) demonstrou que plantas de sorgo pré-tratadas com o fermento biológico apresentaram aumento no acúmulo de compostos fenólicos em resposta à inoculação com *C. sublineolum*, sugerindo que a levedura pode modificar o metabolismo da planta no sentido de induzir resistência contra o patógeno.

Uma desvantagem apontada para a indução de resistência é que a ativação dos mecanismos de defesa

desviaria parte da energia utilizada no metabolismo normal da planta, comprometendo a produtividade. Essa desvantagem é contestada por alguns que afirmam que o indutor leva a planta a um estado de alerta, a energia para defesa sendo gasta apenas quando do reconhecimento do fitopatógeno pela planta induzida (Piga *et al.*, 1997).

A relação custo-benefício para a planta onde existe o envolvimento da indução de resistência carece de maiores estudos. No presente trabalho, houve exposição constante das cultivares de sorgo a elicitores de *S. cerevisiae* (nas parcelas onde houve aplicação semanal da levedura), e o rendimento dessas parcelas foi vantajoso (cv Tx-398B) ou não foi comprometido (cv 910753), dando suporte à hipótese da manutenção de um estado de alerta na planta. No entanto, faz-se necessário caracterizar melhor o quanto da proteção conferida pela levedura ocorre por controle direto dos fitopatógenos e qual a real participação da resistência induzida nas interações aqui estudadas. Além disso, determinações sobre as doses e freqüências de aplicação da levedura são fundamentais na tentativa de se deslocar a relação custo-benefício a favor da melhor produtividade possível da cultura de sorgo conduzida em clima favorável a doenças foliares.

Atualmente, existem produtos comerciais que contêm elicitores derivados da parede celular de *S. cerevisiae* na sua composição. Alguns desses produtos estão registrados como biofertilizantes e têm mostrado efeitos positivos no controle de doenças em plantas quando utilizados em conjunto com fungicidas tradicionais, embora publicações científicas não estejam disponíveis até o momento (Tosun, 2002).

A utilização de agentes de biocontrole/indutores de resistência, tal como *S. cerevisiae*, dificilmente irá substituir por completo o uso de fungicidas tradicionais, mas pode contribuir em muito para o controle integrado de doenças de plantas, principalmente nos casos onde é pequena a disponibilidade de materiais de interesse agrônomico resistentes e em áreas propensas à seleção de linhagens patogênicas insensíveis a fungicidas.

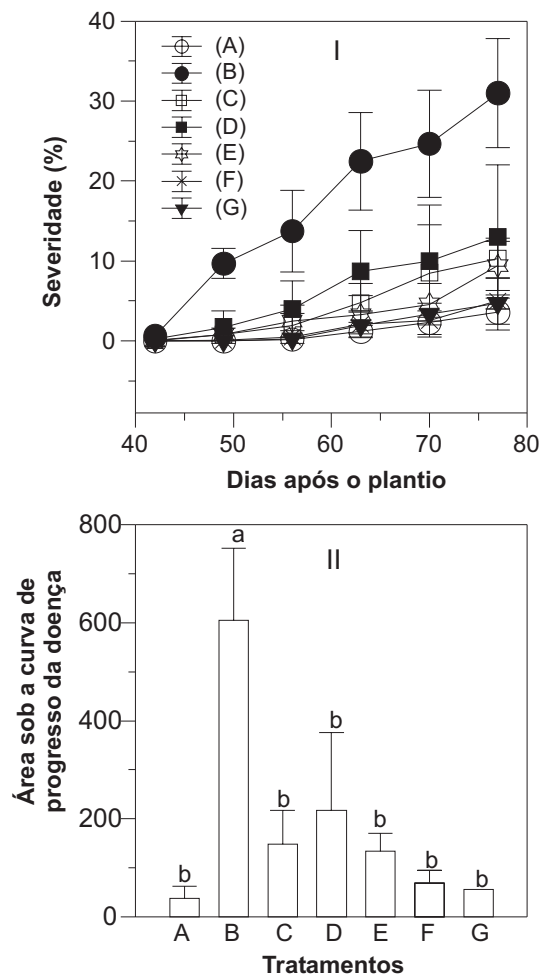


FIG. 3 - Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* no progresso da mancha foliar de *Exserohilum turcicum* em campo de sorgo (*Sorghum bicolor*) (cv. 910753) inoculado artificialmente. I – severidade da doença ao longo do tempo; II – área sob a curva de progresso da doença. (A) testemunha não-inoculada; (B) testemunha inoculada; (C) levedura aplicada 24 h antes da inoculação; (D) levedura aplicada 24 h após a inoculação; (E) levedura aplicada semanalmente; (F) fungicida aplicado semanalmente; (G) fungicida aplicado 24 h antes da inoculação

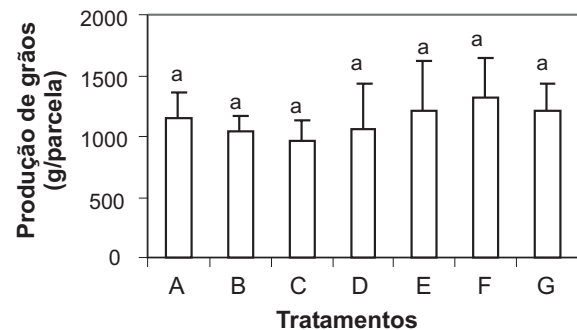


FIG. 4 - Produtividade de sorgo (*Sorghum bicolor*) (cv. 910753), em campo inoculado com *Exserohilum turcicum*, avaliada aos 140 dias após a semeadura. (A) testemunha não-inoculada; (B) testemunha inoculada; (C) levedura aplicada 24 h antes da inoculação; (D) levedura aplicada 24 h após a inoculação; (E) levedura aplicada semanalmente; (F) fungicida aplicado semanalmente; (G) fungicida aplicado 24 h antes da inoculação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DA SILVA, S.R. & PASCHOLATI, S.F. *Saccharomyces cerevisiae* protects maize plants, under greenhouse conditions, against *Colletotrichum graminicola*. *Journal of Plant Disease and Protection* 99:159-167. 1992.
- FRANCIS, C.A., RUTGER, J.N. & PALMER, A.F.E. A rapid method for plant leaf area estimation in maize (*Zea mays* L.). *Crop Science* 9:537-539. 1969.
- FREDERIKSEN, R.A. *Compendium of Sorghum Diseases*. 2nd ed. Saint Paul/Minnesota. The American Phytopathological Society. 1991.
- HAHN, M.B. & ALBERSHEIM, P. Isolation and partial characterization of an elicitor from yeast extract. *Plant Physiology* 62:107-111. 1978.
- KOCHMAN, J.K. & BROWN, J.F. Host and environmental effects on post penetration development of *Puccinia avenae* and *Puccinia coronata* pv. *avenae*. *Annual Review of Biology* 81:33-41. 1975.
- LOPEZ, A.M.Q. Controle alternativo da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. em sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) (Dissertação de Mestrado). Rio Claro. Universidade Estadual Paulista. 1991.
- MARTINS, E.M.F., DE MARIA, A.C., STOCKER, G.G. & MORAES, W.B.C. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat-treatment. *Fitopatologia Brasileira* 11:899-909. 1986.
- PASCHOLATI, S.F. 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"/USP. 1998.
- PIGA, P.M., BÉLANGER, R.R., PAULITZ, T.C. & BENHAMOU, N. Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63-28. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 50:301-320. 1997.
- ROQUE, P. & GUATIMOSIM, P. Sorgo: muitas alternativas numa só agricultura. *Agricultura de Hoje* 10:44-49. 1985.
- ROVERATTI, D.S. Proteção de plantas de café (*Coffea arabica* L.) contra *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. por *Saccharomyces cerevisiae* (Dissertação de Mestrado). Piracicaba. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP. 1989.
- STANGARLIN, J.R. & PASCHOLATI, S.F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. *Summa Phytopathologica* 20:16-21. 1994.
- TOKESHI, H. Manejo da microflora epífita no controle de doenças de plantas. *Anais, 4ª Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas*, Campinas, SP. 1991. pp.32-62.
- TOSUN, N. Disease control with a yeast elicitor in conjunction with fungicides. (Department of Plant Protection, Ege University, Izmir, Turkey). Flyer. 2002.
- WINDELS, C.E. & LINDOW, S.E. *Biological Control on the Phylloplane*. 2nd ed. Saint Paul. The American Phytopathological Society. 1985.
- WULFF, N.A. & PASCHOLATI, S.F. Partial characterization of sorghum phytoalexin elicitors isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. *Fitopatologia Brasileira* 24:428-435. 1999.