

Atuação do Ácido Salicílico e do Ataque de *Mahanarva spectabilis* na Indução de Defesa de Capim-Elefante

Melissa Vieira Leite¹, Alexander Machado Auad², Tiago Teixeira de Resende³, Mariana Paschoalini Frias⁴, Daniela de Melo Aguiar⁵, Carolina Dourado Amaral⁴, Dayane Ribeiro dos Santos⁴.

Resumo

O capim elefante é uma importante forrageira no Brasil que sofre severos danos pelo ataque das cigarrinhas das pastagens. Objetivou-se com o presente estudo verificar se o ácido salicílico e o ataque de *Mahanarva spectabilis*, despertam os mecanismos de defesa em capim elefante, provocando a resistência induzida, através do aumento da quantidade de fenóis produzidos. Estudaram-se quatro genótipos de capim-elefante (um resistente, um suscetível e dois intermediários) obtidos do programa de melhoramento de forrageiras da Embrapa Gado de Leite, os quais foram plantados em copos plásticos de 500 ml e mantidos em casa-de-vegetação. Aplicou-se 4 ml de solução de ácido salicílico por vaso, dois dias antes da montagem do experimento. Ninfas de cigarrinhas, coletadas nos campos experimentais da Embrapa/Gado de Leite e mantidas em plantas de capim elefante, em casa de vegetação, foram utilizadas na instalação do experimento. Utilizou-se delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial composto por 4 genótipos, 2 densidades do inseto (zero ou 4 insetos por planta), com e sem aplicação de ácido salicílico, com 5 repetições por tratamento. As ninfas permaneceram nas plantas por 10 dias e as mortas e as que emergiram adultos foram repostas diariamente. A parte aérea e a raiz das plantas foram cortadas, secas e moidas. Quantificaram-se os fenóis totais em Espectrofotômetro. A aplicação do ácido salicílico promoveu aumento da concentração de fenol na parte aérea e diminuição para raiz de capim elefante. Esse indutor também atuou no incremento da massa seca da parte aérea e raiz da forrageira. O ataque de ninfas de *M. spectabilis*, na presença do indutor, afetou a concentração de fenóis e a massa seca apenas na parte aérea das plantas. Constatou-se interação entre a aplicação do ácido salicílico e o ataque de *M. spectabilis*, despertando os mecanismos de defesa em capim elefante.

Introdução

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) é considerado uma das mais importantes forrageiras devido ao seu elevado potencial de produção de matéria seca, qualidade nutricional, palatabilidade, vigor e persistência (Pereira et al., 2001). As cigarrinhas-das-pastagens constituem-se em um problema de expressão econômica em vista dos severos danos causados pelos ataques anuais às forrageiras, reduzindo o crescimento e qualidade das mesmas e comprometendo a alimentação do rebanho (Valério, 2005). Como o controle químico é economicamente inviável, a indução de resistência é uma alternativa no controle dessas pragas.

A resistência induzida é o resultado da ativação de diferentes vias de defesa da planta, que podem provocar alterações na qualidade e na quantidade de compostos do metabolismo secundário e de proteínas de defesa (Vendramim & França, 2006). Entre os metabólitos secundários encontram-se os compostos fenólicos que, embora não apresentem função direta no crescimento e desenvolvimento das plantas, são de extrema importância para o metabolismo vegetal (Strack, 1997), tratando-se de um mecanismo de resistência bioquímico pré-formado pela planta (Pascholati & Leite, 1994). Os compostos fenólicos servem como defesa natural contra herbívoros e patógenos, tendo sido encontrada correlação entre os teores dessas substâncias com a resistência de plantas (Goodman et al., 1986).

Uma das principais demandas dos produtores de leite, em relação às instituições de pesquisa, refere-se à obtenção de cultivares de capim-elefante resistentes às cigarrinhas (Auad et al., 2007). Os materiais selecionados estão sendo utilizados no programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite, como genitores de características desejáveis. Porém, mesmo aqueles promissores apresentaram alta sobrevivência do inseto-

¹ Pós-doutoranda no Laboratório de Entomologia da Embrapa Gado de Leite, Bolsista da FAPEMIG, Juiz de Fora, MG, CEP: 36038-330. E-mail: melissabio2000@yahoo.com.br;

² Pesquisador da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, CEP: 36038-330. E-mail: amauad@cnppl.embrapa.br;

³ Assistente da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, CEP: 36038-330. E-mail: tiago@cnppl.embrapa.br;

⁴ Estagiários no Laboratório de Entomologia, Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. CEP: 36038-330. E-mails: pf.mariana@yahoo.com.br, carolinadamaryl@gmail.com, dayane.rsantos@yahoo.com.br;

⁵ Mestranda em Comportamento e Biologia Animal na UFJF, Juiz de Fora, MG, CEP: 36036-900. E-mail: dm_aguiar@yahoo.com.br.

praga, justificando então a indução de resistência nesses materiais; para tal, a utilização do ácido salicílico é uma opção viável, visto que, segundo Klessig et al. (2000), essa substância exerce importante papel na ativação das respostas de defesa das plantas ao ataque de insetos.

Assim objetivou-se com o presente estudo verificar se o ácido salicílico e o ataque de *Mahanarva spectabilis*, despertam os mecanismos de defesa em capim elefante, provocando a resistência induzida, por meio do aumento da quantidade de fenóis produzidos.

Material e Métodos

Avaliou-se quatro genótipos de capim-elefante, resistente (Cameroon de Piracicaba), suscetível (Roxo de Botucatu) e de resistência intermediária (Sem pêlo e Cameronn) seguindo a classificação de Auad *et al.* (2007), obtidos do programa de melhoramento de forrageiras da Embrapa Gado de Leite, os quais foram plantados em copos plásticos de 500 ml, e mantidos em casa-de-vegetação. Aplicou-se via solo, 4 ml de solução de ácido salicílico por vaso, realizada dois dias antes da montagem do experimento.

Ninfas de cigarrinhas, utilizadas para verificação da indução de resistência, foram coletadas nos campos experimentais da Embrapa/Gado de Leite e mantidas em plantas de capim elefante, em casa de vegetação. Após a instalação do experimento os copos foram fechados com tampas contendo um orifício central para a passagem da parte aérea das plantas e acrescentada uma camada de gaze entorno do orifício, para impedir a fuga das ninfas da cigarrinha. As ninfas de 4^o e 5^o instares, provenientes da criação estoque, permaneceram nas plantas por 10 dias. Nesse período, foram repostas as ninfas mortas e as que emergiram adultos, diariamente, para a manutenção da densidade de insetos.

Utilizou-se delineamento em blocos ao acaso em esquema fatorial composto por 4 genótipos, 2 densidades do inseto (0 e 4 insetos por planta), com e sem aplicação de ácido salicílico, com 5 repetições por tratamento, perfazendo um total de 80 parcelas experimentais.

A parte aérea das plantas foi cortada e pesada em seguida para determinação do peso verde. A raiz foi lavada sobre peneira, com jatos de água corrente, permaneceu em papel absorvente por 24h para retirar o excesso de água, e pesada para determinação do peso verde. A parte aérea e a raiz permaneceram em estufa a 55° C até a estabilização do peso e foram pesadas novamente para a verificação do peso seco. A matéria seca foi moída, cada amostra individualizada e identificada para a análise bioquímica. Realizou-se a extração dos fenóis das amostras pelo método de Folin-Denis e, em seguida, quantificou-se os níveis de fenóis presentes nas plantas submetidas aos diferentes tratamentos, em Espectrofotômetro a 760 nm.

Resultados e Discussão

Verificando o efeito dos fatores testados isoladamente, constatou-se que a aplicação do ácido salicílico na parte aérea de capim elefante, promoveu aumento na concentração de fenol e que esse composto químico esteve presente em maior quantidade no genótipo suscetível, Roxo de Botucatu (Figuras 1 A e B).

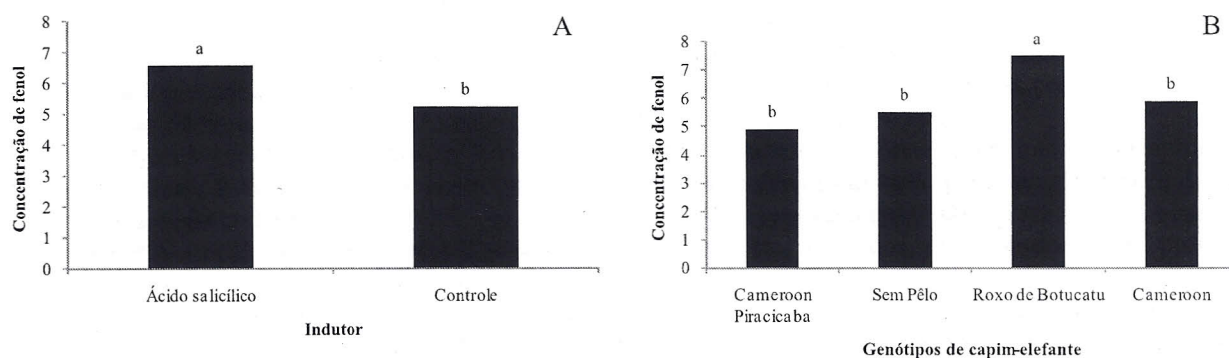


Figura 1- Concentração de compostos fenólicos na parte da cultivar. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott ($P < 0,05$).

A interação entre genótipos testados e a presença do inseto praga foi significativa, de forma que na ausência da cigarrinha das pastagens a concentração de fenol foi semelhante em todos os genótipos; no entanto, na presença do inseto praga, o genótipo o suscetível apresentou concentração 48% maior comparada ao resistente. Dentro de cada genótipo testado somente constatou-se diferença significativa para aquele resistente,

no qual as plantas com ninfas apresentaram concentração de fenol 36% menor do que as plantas não atacadas (Figura 2A). O oposto foi observado por Guimarães et al. (2008), que embora não tenham testado indutores, verificaram uma concentração maior de compostos fenólicos, para a cultivar SP83-5073 de cana-de-açúcar, quando atacada por *M. spectabilis*, apresentando possivelmente um mecanismo de resistência do tipo antibiose, mas esses autores ressaltam que dados sobre a biologia das cigarrinhas são necessários para sustentar essa hipótese.

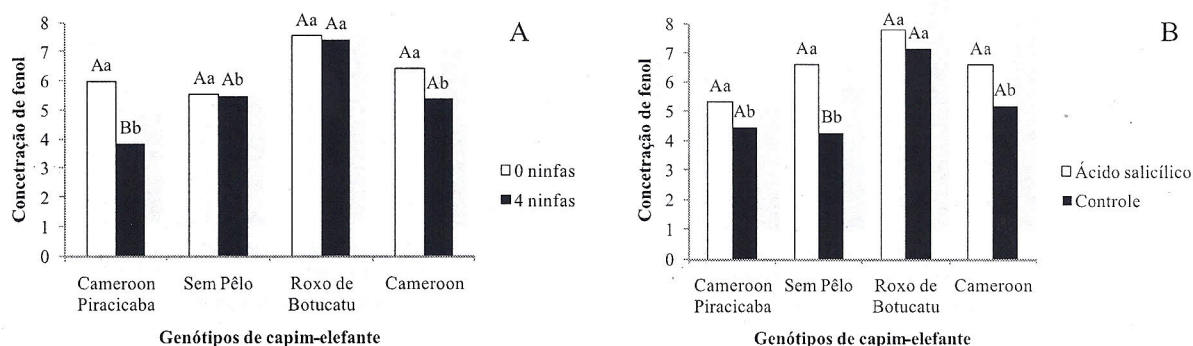


Figura 2- Concentração de compostos fenólicos na parte aérea de capim elefante. A- Interação entre genótipos testados e a presença do inseto; B- Interação entre genótipos testados e a presença do indutor. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro dos tratamentos e minúscula, entre os tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott ($P < 0,05$).

Quando se avaliou o efeito conjunto dos genótipos testados com e sem a presença do indutor de resistência, verificou-se que não houve diferença significativa nas concentrações de fenol entre os genótipos testados que receberam aplicações de ácido salicílico. Entre as plantas não tratadas com ácido salicílico, a concentração de fenol foi de 7,15 ppm no genótipo Roxo de Botucatu, os demais apresentaram concentrações em torno de 38% menores. Dentro de cada genótipo testado, apenas o Sem pêlo apresentou diferença significativa na concentração de fenol entre plantas tratadas (6,61) e não tratadas (4,27), sendo maior naquelas que receberam aplicação de ácido salicílico (Figura 2B).

Para cada genótipo, não houve diferença entre a massa seca de plantas em função da aplicação de ácido salicílico. Quando se compara entre as plantas não tratadas, os genótipos Cameroon Piracicaba e Sem Pêlo apresentaram maior massa seca. Para as tratadas as massas secas foram de 24,9; 22,9; 19,1 e 21,2g, respectivamente, para os genótipos Cameroon Piracicaba, Sem pêlo, Roxo de Botucatu e Cameroon, sendo diferentes entre si. Maia et al. (2000), verificaram um aumento da matéria verde em plântulas de soja quando aplicaram doses de 20 e 50 mg/kg de ácido salicílico e de matéria seca quando aplicaram 20mg/kg de ácido salicílico.

Na presença das ninfas de cigarrinha verificou-se a massa seca de 22,2g e 20,7g, respectivamente, nas plantas tratadas e não tratadas com ácido salicílico, sendo significativamente maior nas que foram tratadas. Como a massa seca é importante índice por estar diretamente ligada à produção da forrageira, sugere-se que a aplicação de ácido salicílico permite que as plantas tolerem o ataque de *M. spectabilis*.

Para as raízes, ao contrário do verificado na parte aérea, nas plantas não tratadas com ácido salicílico a concentração de fenol (2,62 ppm) foi maior que a observada nas tratadas (1,97 ppm).

Entre os genótipos testados, o Roxo de Botucatu e Cameroon apresentaram maior concentração de fenol, nas raízes, tanto na presença quanto na ausência de ninfas. Dentro de cada genótipo a presença de ninfas não induziu a alteração na concentração de fenol (Figura 3A). Esses resultados são contrários aos observados por Silva et al (2005), que verificaram um aumento nos compostos fenólicos, em cana-de-açúcar, promovido pela infestação com cigarrinhas das pastagens.

Considerando a interação genótipo e indutor, dentro dos genótipos, a aplicação de ácido salicílico induziu uma redução na concentração de fenol, nas raízes, de 29 e 28%, respectivamente, para os genótipos de capim elefante Roxo de Botucatu e Cameroon, nos demais não ocorreu a indução. Entre os genótipos verificou-se que nas plantas que não receberam a aplicação de ácido salicílico a concentração de fenol foi maior no Roxo de Botucatu e Cameroon, porém nas plantas tratadas essa diferença não foi observada (Figura 3B).

Para a interação genótipos e ninfas, verificou-se que, na ausência de ninfas, a matéria seca das raízes foi de 55,7; 57,9; 29,3 e 43,9g, e, na presença, de 61,8; 40,4; 28,4 e 39,2g, respectivamente, para os genótipos Cameroon Piracicaba, Sem Pêlo, Roxo de Botucatu e Cameroon. Quando não houve ataque das ninfas, a matéria seca das raízes foi maior nos genótipos Cameroon Piracicaba e Sem Pêlo, e quando houve apenas no

génotipo Cameron de Piracicaba, sugerindo que o mesmo suporta melhor o ataque dessa praga. Vale ressaltar que, segundo Auad et al. (2007), esse último apresenta resistência por antibiose.

Na interação genótipo e indutor, a aplicação de ácido salicílico promoveu um aumento significativo da massa seca dentro de cada genótipo, exceto naquele suscetível. E esse mesmo genótipo quando comparado aos demais apresentou menor matéria seca tanto em plantas tratadas quando nas não tratadas com o indutor.

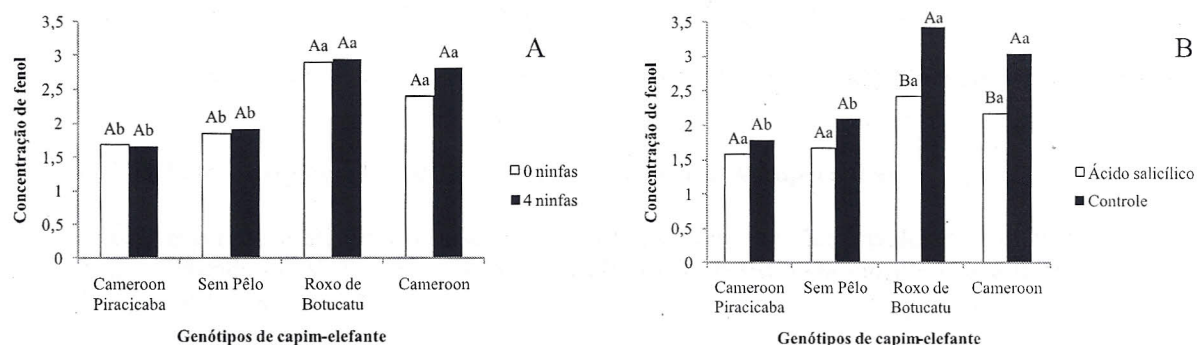


Figura 3- Concentração de compostos fenólicos na raiz de capim elefante. A- Interação entre genótipos testados e a presença do inseto; B- Interação entre genótipos testados e a presença do indutor. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, dentro dos tratamentos e minúscula, entre os tratamentos, não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott ($P < 0,05$).

Constatou-se que o ácido salicílico e o ataque de *M. spectabilis*, despertam os mecanismos de defesa em capim elefante, porém provocam diferentes variações na quantidade de fenóis produzidos na parte aérea e na raiz. Em contrapartida, o indutor proporciona um aumento da matéria seca, tanto na parte aérea quanto na raiz. Cabe a próximas investigações definir se as alterações na concentração de fenol, constatados na presente pesquisa, são suficientes para alterar a biologia da fase imatura de *M. spectabilis*, com intuito de incluir a tática de resistência induzida no programa de melhoramento da capim elefante.

Agradecimentos

Agradecemos à FAPEMIG, a UNIPASTO e ao CNPq pelo suporte financeiro a pesquisa.

Referências

Auad AM, Simões AD, Pereira AV, Braga ALF, Sobrinho F S, Lédo FJS, Paula-Moraes SV, Oliveira SA, Ferreira RB (2007) Seleção de genótipos de capim-elefante quanto à resistência à cigarrinha-das-pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 42(8):1077-1081.

Fernandes CD, Valério JR, Fernandes ATF (2000) Ameaças apresentadas pelo atual sistema de produção de sementes à agropecuária na transmissão de doenças e pragas. In: **Anais do I Workshop Sobre Sementes de Forrageiras, 1999**, Sete Lagoas, p. 55-68.

Guimarães ED, Mutton MA, Ferro MIT, Da Silva JA, Mutton MJR (2008) Níveis constitutivos de compostos fenólicos podem estar relacionados à resistência da cana-de-açúcar às cigarrinhas-das-raízes. **Revista de Agronegócios e Meio Ambiente** 1(3): 357-365.

Klessig DF, Durner J, Noad R, Navarre DA, Wendehenne D, Kumar D, Zhou JM, Shah J, Zhang S, Kachroo, Trifa Y, Pontier D, Lam E, Silva H (2000) Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 97(16): 8849-8855.

Maia FC, DeMoraes DM and DeMoraes RCP (2000) Ácido salicílico: efeito na qualidade de sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes** 22(1):264-270.

Pascholati SF and Leite B (1994) **Hospedeiro: mecanismo de resistência**. In: Luz WC (ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. 2:1-51.

Pereira AV, Do Valle CB, Ferreira RdeP, Miles J W (2001) Melhoramento de Forrageiras Tropicais. In: Nass LL, Valois ACC, Melo IS, Valadares-Inglis MC (ed.) **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Fundação Mato Grosso, Rondonópolis. p. 549-602.

Silva RJ Nda, Guimarães ER, Garcia Jf, Botelho PSM, Ferro MIT, Mutton MA, Mutton MJR (2005) Infestation of froghopper nymphs changes the amounts of total phenolics in sugarcane. **Scientia agricola** 62(6): 543-546.

Strak D (1997) Phenolic metabolism. In: Dey PM and Harbone JB (ed.). **Plant biochemistry**. Academic Press, London, p. 387-416.

Valério JR (2005) Insetos-praga em pastagens tropicais. **Informe Agropecuário**, v. 26, n. 226. 2005.

Vendramim JD and França SC (2006) Indução de resistência a insetos. In: Cavalcanti LS, Di Piero RM, Cia P, Pascholati SF, Resende MLV, Romeiro, RS (ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Editora FEALQ, Piracicaba, p. 11-28.