

INDUTORES DE RESISTÊNCIA À *Moniliophthora perniciosa* EM PLÂNTULAS DE CACAUUEIRO ATRAVÉS DA POTENCIALIZAÇÃO DAS SEMENTES

Deraldo Ramos Vieira¹, Stela Dalva Vieira Midlej Silva², Virgínia Oliveira Damaceno², Lindolfo Pereira dos Santos Filho², Raúl René Valle²

¹CEPLAC/ESOMI, BR 324, km 62 - São Sebastião do Passé, Bahia, Brasil. dramosvieira@ig.com.br; ²CEPLAC/CEPEC, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

Os produtores de cacau do sul da Bahia enfrentam dificuldades na produção de plântulas saudáveis de cacauueiro (*Theobroma cacao*), devido à incidência da doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. Com o objetivo de controlar a incidência da vassoura-de-bruxa em plântulas de cacauueiro, sete indutores de resistência foram aplicados nas sementes de cacau da variedade Maranhão suscetível à vassoura de bruxa, em diferentes concentrações e mistura destes por 24 horas. Após, as mesmas foram plantadas em tubetes contendo solo e aos 30 dias, as plântulas foram inoculadas na gema apical com 30 µL de uma suspensão de 2×10^5 basidiósporos mL⁻¹. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com 5 repetições de 16 plântulas por parcela, 80 plântulas por tratamento, perfazendo um total de 2.400 plântulas. Decorridos 60 dias da inoculação procedeu-se avaliação da doença e os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott. Dos tratamentos, 12 diferiram estatisticamente das testemunhas, sendo o T2, T6, T7, T9, T10, T11 dos ensaios 1, 2, 3 e T22, T24, T25, T26, T27 e T29, dos ensaios 4, 5 e 6. O uso destes tratamentos são promissores no controle da vassoura-de-bruxa em plântulas de cacauueiro.

Palavras-chave: Resistência sistêmica adquirida, sacarose, PAMPs.

Evaluation of inductors for resistance to *Moniliophthora perniciosa* of cocoa seedlings seeds through potentiation. Farmers in southern Bahia have difficulties in producing healthy seedlings of cacao (*Theobroma cacao*), due to the incidence of witches' broom disease, caused by the fungus *Moniliophthora perniciosa*. Aiming to control the incidence of witches' broom in cocoa seedlings seven resistance inducers were applied in the cocoa seeds variety of Maranhão susceptible to witch's broom in different concentrations and mixtures for 24 hours. After, they were planted in plastic pots containing soil and after 30 days, the seedlings were inoculated at the apical with 30 µL of a suspension of 2×10^5 basidiospores mL⁻¹. The experimental design was randomized blocks with five replicates of 16 seedlings per plot, 80 seedlings per treatment, for a total of 2,400 seedlings. After 60 days of inoculation proceeded disease evaluation and data were subjected to analysis of variance and the Scott-Knott test. Of all the treatments, 12 were statistically different from the control, sense T2, T6, T7, T9, T10, T11 the assays, 2, 3 and T22, T24, T25, T26, T27, T29, assays 4, 5 and 6. The use these treatments are promising in control witches' broom of cocoa seedlings.

Key words: Systemic acquired resistance, saccharose, PAMPs.

Introdução

Atualmente a sociedade está preocupada com a qualidade dos alimentos que consome, devido ao alto nível de contaminação com a variedade de agroquímicos utilizados na agricultura moderna, potencialmente prejudicial à saúde. A busca e a aplicação de inovações tecnológicas sustentáveis no cultivo do cacaueteiro e no processamento da amêndoa até o produto final, o chocolate, são prioridades da Ceplac (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira) (Ceplac et al., 2012). Essas tecnologias visam garantir alta produtividade na cultura e qualidade de vida para as gerações atuais e futuras. Seguindo essas diretrizes, a utilização de elicitores abióticos que induzam resistência sistêmica no cacaueteiro contra patógenos é uma alternativa economicamente viável, eficiente e ecologicamente aceitável. A indução de resistência sistêmica leva em consideração a ativação de mecanismos de defesa que se encontram latentes nas células das plantas (Conrath et al., 2006; Pastor et al., 2012).

Apesar da ausência de células de memória específica do sistema de defesa, a resposta de resistência sistêmica adquirida (RSA) nas plantas, confere também uma memória de longa duração, originada do ataque patogênico primário, porém muito menos específica do que a memória imunológica adaptativa em animais. Consequentemente, a RSA proporciona um estado permanente e elevado de resistência contra o ataque secundário de uma gama de agentes fitopatogênicos. Além disso, alguns estudos parecem indicar que esta memória imunitária pode, não apenas proporcionar proteção ao longo da vida da planta, mas esse tipo de resistência também é transmitido para as futuras gerações, através de mudanças epigenéticas que envolvem a metilação de DNA, remodelação de cromatina e aumento da recombinação de homólogos (Spoel & Dong, 2012, Luna et al., 2012, Slaughter et al., 2012, Walters e Paterson, 2012, Boyko et al., 2010, Molinier et al., 2006,).

As plantas podem ser sensibilizadas para uma rápida e potente ativação de resposta de defesa contra estresses bióticos e abióticos, pois estão equipadas com um sistema de proteção inato (Pastor et al., 2012). Essa resposta é desencadeada por “padrões moleculares associados à patógenos” (PAMPs), os quais protegem a planta contra a maioria dos microrganismos

potencialmente fitopatogênicos (Pastor et al., 2012). Dentre as várias maneiras de ativar esses mecanismos, a utilização de compostos naturais e/ou sintéticos, conhecidos como eliciadores, elicitores ou indutores de resistência tem se mostrado eficiente (Pastor et al., 2012; Conrath, 2011; Conrath et al., 2006).

Os produtores de cacaueteiro do sul da Bahia enfrentam dificuldades na produção de plântulas saudáveis de cacaueteiro (*Theobroma cacao*) devido à incidência da doença vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. A sacarose e outros indutores específicos têm sido utilizados para a indução de resistência em cacaueteiros adultos, devido à metabolização pela planta, por serem também substâncias de baixo custo, de fácil aquisição, e por apresentar baixo impacto ambiental, além de mostrar eficiência no controle da doença (Vieira e Valle, 2012).

Com o objetivo de controlar a incidência da vassoura-de-bruxa em plântulas de cacaueteiro, avaliou-se a eficiência de sete substâncias em diferentes concentrações e misturas como indutores de resistência quando aplicados em sementes.

Material e Métodos

O experimento foi instalado em casa de vegetação na Estação Experimental Sóstenes de Miranda (Esomi/Ceplac), localizada no km 62 da BR 324, no município de São Sebastião do Passé, Bahia.

Sementes de cacaueteiro da variedade Maranhão, suscetível à vassoura-de-bruxa, após a retirada da mucilagem foram imersas por 24h em soluções de diferentes concentrações e mistura de indutores de resistência e as testemunhas em água destilada (Tabela 1), antes de efetuar o plantio em tubetes.

Aos 30 dias do plantio, as plântulas foram inoculadas aplicando 30 µL de uma suspensão de 2×10^5 basidiósporos de *M. perniciosa* na gema apical. As plântulas inoculadas permaneceram por 48 h em câmara úmida, com umidade relativa acima de 90% e temperatura de 25 °C. Em seguida, foram removidas para casa de vegetação sob condições de ambiente natural. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 30 tratamentos 16 plântulas por parcela e cinco repetições, totalizando 80 plântulas por tratamento, perfazendo um total de 2.400 plântulas.

Tabela 1 – Relação dos indutores de resistência em *Theobroma cacao* a *Moniliophthora perniciosa* utilizados em seis ensaios

Ensaio	Tratamentos	AAs* (mM)	AS (mM)	S (mM)	KCl (mM)	CaCl ₂ a (mM)	Misturas
1	T1	2,2					
	T2	5,5					
	T3	11,0					
	T4	22,0					
T5 (testemunha)							
2	T6		0,75				
	T7		2,5				
	T8		5,0				
	T9		7,5				
	T10		10,0				
3	T11			75			
	T12			150			
	T13			300			
	T14			450			
	T15			900			
4	T16				500		
	T17				375		
	T18				250		
	T19				125		
	T20				Q 200 mg/L		
5	T21					10	
	T22					20	
	T23					5	
	T24						AS 15 mM + G 0,6 M + CaCl ₂ a 10 mM
6	T25						AS 15 mM+Q 200 mg/L+ CaCl ₂ a 10mM
	T26						AS 7,5mM+Q 200 mg/L+ CaCl ₂ a 10mM
	T27						AS 2,5mM+Q 200 mg/L+ CaCl ₂ a 10mM
	T28						Extrato de óleo de Neem 1%
	T29						Extrato de óleo de Neem 2%
T30 (testemunha)							

* AAs = ácido ascórbico; AS = ácido salicílico; S = sacarose; KCl = cloreto de potássio; CaCl₂ a = cloreto de cálcio anidro; Q = quitosona; G = glicose

Após 60 dias da inoculação, efetuou-se a avaliação nas plântulas, através da presença ou não de sintomas da vassoura-de-bruxa. Para os ensaios 1, 2 e 3, o T5 foi a testemunha comum a todos, enquanto T30 foi

para os ensaios 4, 5 e 6.

Os dados foram submetidos à análise de variância e a separação de grupos de médias foi realizada utilizando o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

Neste trabalho, os indutores de resistência testados, aplicados nas sementes, evidenciaram a ocorrência do fenômeno da potencialização ou *priming* após a inoculação das plântulas com *M. perniciosa*.

Nos Ensaios 1, 2 e 3, os tratamentos T2 (ácido ascórbico 5,5 mM), T6, T7, T9 e T10 (ácido salicílico 0,75, 2,5, 7,5 e 10 mM, respectivamente) e T11 (sacarose 75 mM) a incidência da doença foi estatisticamente diferente da testemunha T5 (Figura 1). Os resultados mostraram a ação do ácido ascórbico (AAs), ácido salicílico (AS) e a sacarose (S) como indutores de *priming* em plântulas de cacaueteiro a *M. perniciosa*, com incidência de 60% (T2), 48,7% (T6), 60% (T7), 52,5% (T9), 46,2% (T10), 55% (T11) e a testemunha (T5) com 83,7% (Figura 1).

Ácido ascórbico (AAs) (vitamina C) é um importante antioxidante que regula o sistema redox (redução/oxidação) em plantas, e desempenha um papel de destaque no metabolismo dos vegetais relacionados com a fotossíntese, fotoproteção, crescimento da parede celular e a expansão das células, resistência ao estresse ambiental, síntese de etileno, giberelinas, antocianinas, e hidroxiprolina, dentre outras funções (Smirnoff e Wheeler, 2000). Sementes de *Vicia faba* foram tratadas com solução de AAs na concentração de 10 mM por 24 horas e inoculadas com *Botrytis fabae* Sard em casa

de vegetação. A incidência da doença avaliada as 24, 48 e 72 horas após a inoculação em casa de vegetação e, em condições naturais de campo aos 30, 45, e 60 dias após a indução, por um período de dois anos, foi reduzida, destacando este indutor como o mais eficiente dentre os utilizados (El-Hendawy et al., 2010). Resultados semelhantes foram verificados quando plântulas de *Solanum tuberosum* induzidas com solução de AAs 5,5 mM (1,0g L⁻¹) apresentaram resistência às doenças causadas por *Alternaria solani* e *Phytophthora infestans*, quando comparadas à testemunha, tanto em casa de vegetação como em condições de campo (Nadia et al., 2007).

O AS é um fitormônio que participa de uma rede complexa de sinalização em plantas, principalmente com os mecanismos que regulam a resistência contra patógenos. Também participa nos eventos que ocorrem no sítio de infecção, como na morte de células da planta e em regiões remotas do sítio de infecção, quando a resistência sistêmica se estabelece (Vlot et al., 2009; Ryals, 1996). O AS se mostrou eficiente como indutor de resistência no controle da vassoura de bruxa em plantas de cacaueteiro do clone ICS 1 (Vieira & Valle, 2012). É possível que nesse mecanismo de pré-estresse induzido pelo AS, a resistência a *M. perniciosa* tenha ocorrido pela acumulação de mRNA e as proteínas kinases ativadoras de mitógenos (MPKs) comprovadamente envolvidas no acionamento do

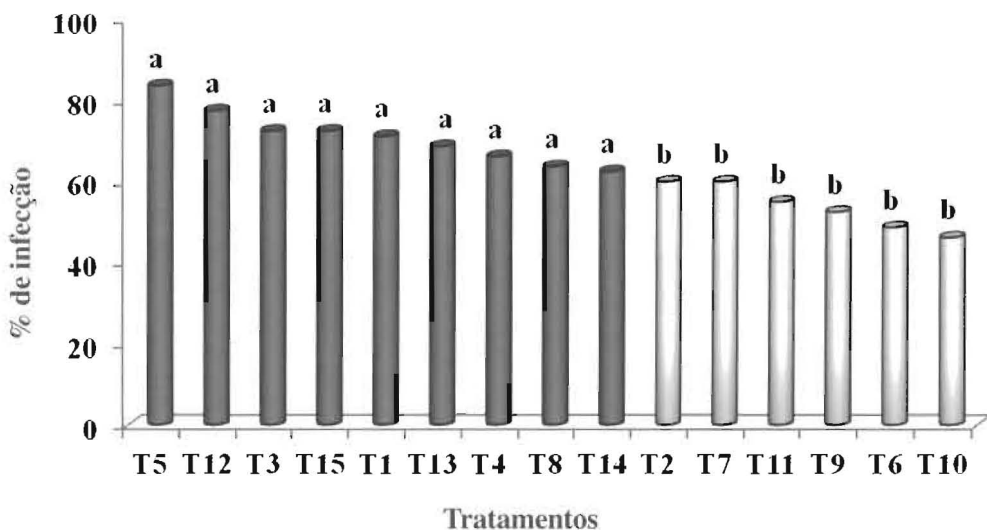


Figura 1. Incidência de *Moniliophthora perniciosa* em plântulas de *Theobroma cacao* potencializadas com indutores de resistência aplicados diretamente nas sementes. Ensaios 1, 2 e 3.

priming, como a MPK3 e MPK6, conforme constatado em plantas de *Arabidopsis thaliana* submetidas a AS na concentração de 300 μM (Beckers et al., 2009). Em salsa (*Petroselinum hortense*), suspensões de células tratadas com AS a 500 μM , não alteraram significativamente a indução do gene que expressa fenilalanina amônia liase (PAL), enzima relacionada com defesa e estado de *priming*. Todavia, quando as células foram pré-tratadas com AS, em concentrações de 50 até 500 μM e depois submetidas a doses baixas de um elicitador de *Phytophthora sojae*, altas concentrações de mRNA de PAL foram encontradas, indicando que o AS tinha pré condicionado as células de salsa para a expressão potencializada de genes induzíveis por elicitores, tais como o que expressa para a PAL (Conrath et al., 2006). Plantas de *Medicago sativa* (alfafa) submetidas à indução de resistência via sementes com AS a 10 mM, durante um período de 6 horas desenvolveram resistência em condições naturais de campo às doenças causadas por *Uromyces striatus* e *Peronospora trifoliorum*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium* spp., *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* e *Pythium* spp., além de aumentar a produção com relação ao controle (Morsy et al., 2011). Sementes de *Vicia faba* foram tratadas com solução de AS 10 mM por 24 h e em seguida plantadas em tubetes contendo solo. Aos 21 dias, as plântulas foram inoculadas com *Botrytis fabae* e a incidência da doença avaliada 24, 48 e 72 horas após a inoculação em casa de vegetação, condições naturais e também no campo aos 30, 45 e 60 dias após a indução, por um período de 2 anos. O resultado em casa de vegetação mostrou que AS reduziu a incidência da doença de 75,2 a 83,3 %, enquanto no campo, os resultados de dois anos, apresentaram menor eficiência atingindo até 22 %.

Resende et al. (2002) aplicaram Benzothiadiazole (BTH), um análogo de AS, nas concentrações de 20, 80 e 150 gL^{-1} nos intervalos de 3, 15 e 30 dias antes da inoculação em plântulas de cacaueteiro Catongo. Eles obtiveram uma redução na percentagem de plântulas infectadas de 34 a 85 %, enquanto que na testemunha, a percentagem de plantas infectadas foi de 69,1%. Este indutor mostrou-se como potente ativador de resistência sistêmica em condições de campo, contra uma série de patógenos e insetos em várias culturas (Görlach et al., 1996)

Sacarose (S) na concentração de 300 mM aplicada via sistema radicular em plantas de arroz induziu *priming* e desenvolveu resistência contra brusone, doença provocada por *Magnaporthe oryzae* (Gomez-Ariza et al., 2007). Eixos de embrião de *Lupinus luteus* cv. Polo (tremoço) cultivados em solução de S a 60 mM e inoculados com *Fusarium oxysporum* f. sp. *lupini* estimularam a atividade das enzimas PAL (EC 4.3.1.24), calcona sintase (EC 2.3.1.74), calcona isomerase (EC 5.5.1.6) e da isoflavona sintase (EC 1.14.13.86), das 12 às 48 horas após a inoculação, superando a atividade nos controles com e sem inoculação e sem S. Esse resultado sugere que a S está envolvida nos mecanismos de resistência contra fitopatógenos, através da rota dos fenilpropanoides (Morkunas et al., 2011). Resultados semelhantes foram encontrados por Serrano et al. (2012) quando induziram a produção da enzima calcona sintase em plantas de *Arabidopsis thaliana*, através da adição de S 100 mM no meio nutritivo. Os carboidratos estão envolvidos em muitas rotas metabólicas e de sinalização em plantas, podendo contribuir nas respostas do sistema imune contra patógenos, como moléculas de sensibilização ou *priming*, desencadeando os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPS) (Moghaddam & Van den Ende, 2012). Em *Nicotiana tabacum* cv SNN resistente a *Phytophthora nicotianae*, até 12 horas após a inoculação houve um aumento de 250% nos níveis de sacarose no apoplasto e uma super expressão das enzimas invertase ácida e glucose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PDH), síntese de calose, reação de hipersensibilidade, produção de espécies reativas de oxigênio, aumento significativo de hexoses (Scharte et al., 2005). A sacarose é um poderoso indutor de antocianinas (Solfanelli et al., 2006), e de proteínas de defesa em plantas, denominadas proteínas relacionadas com patogênese (proteínas RP ou PR proteins) como a PR 2 e PR 5 em plantas de *Arabidopsis thaliana* submetidas a solução de sacarose a 2% (Thibaud et al., 2004).

Nos ensaios 4, 5 e 6 os tratamentos T22, T24, T25, T26, T27 e T29 apresentaram incidência de vassoura de bruxa nas plântulas de 53,8; 42,6, 63,8, 58,8, 48,8 e 62,5%, respectivamente, diferindo estatisticamente da testemunha inoculada T30 com 88,8% (Figura 2). O T22 (CCA 20 mM) mostrou o efeito do Ca^{+} como molécula sinalizadora de mecanismos de defesa contra estresses bióticos.

Plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*) submetidas ao tratamento com solução de cálcio a 8 mM adicionada ao meio nutritivo e submetidas à inoculação com o fungo *Botrytis cinerea*, controlou a doença por induzir a expressão de vários genes envolvidos em mecanismos de resistência como o *NPRI*, *PRI*, *EDS1*, *PAD4*, *BA2H*, *ICS1*, como também produziu AS livre e conjugado, após 12 horas da inoculação, em níveis superiores ao controle (Li et al., 2012). No trabalho de El-Hendawy et al. (2010) sementes de *Vicia faba* (fava) foram tratadas com solução de cloreto de cálcio (CaCl_2) na concentração de 10 mM e receberam os mesmos procedimentos utilizados para AS. Os resultados mostraram que o CaCl_2 reduziu a incidência de doença causada por *Botrytis fabae* Sard de 71,8 % e 61 %, em casa de vegetação e campo, respectivamente, em relação à testemunha.

O tratamento 24 (mistura de AS 15 mM + G 0,6 M + CaCl_2 10 mM) nas proporções de 72, 18 e 10 % respectivamente, mostrou que os três indutores interagiram, pois além de suas funções essenciais como substratos de carbono, energia e biossíntese de polímeros dos vegetais, a G têm características hormonais, na função de mensageiro primário na transdução de sinais (Rolland et al., 2002), modulação e coordenação dos mecanismos internos da planta de acordo com as condições ambientais, promovendo o crescimento e desenvolvimento (Koch, 1996; Sheen,

1999; Rolland et al., 2002). Hexoquinases funcionam como sensores de G na modulação da expressão de genes e múltiplas rotas na sinalização de hormônios (Rolland et al., 2002). Em culturas de células de *Chenopodium rubrum*, sob o efeito de G de 20 a 100 mM foi produzida altas concentrações das enzimas envolvidas em mecanismos de defesa vegetal, como a fenilalanina amônia-liase (PAL) e invertase da parede celular (CWI-Invertase da Parede Celular), como também reprimiu a Rubisco, afetando negativamente a atividade fotossintética (Ehness, 1997). Resultados semelhantes foram encontrados por Roitsch et al. (2003) trabalhando com cultura de células de tomate, quando verificaram que a G induziu o aumento da atividade das enzimas invertase (EC 3.2.1.26) e PAL. Trabalho desenvolvido por Essmann et al. (2008) mostrou que um RNA interferente em plantas de fumo resistente a *Phytophthora nicotianae* impediu a ação da invertase ácida apoplástica, obstruindo a quebra da molécula de S, provocando uma queda acentuada nos níveis de G e aumento na suscetibilidade à doença pelos baixos níveis de deposição de calose, síntese de proteínas RPs, da PAL, reação de hipersensibilidade e produção de H_2O_2 , da G6PDH.

A utilização da G na mistura dos tratamentos provavelmente imobilizou o excesso de AS na forma glicosídica, tanto no momento da indução e após a inoculação no local infectado por *M. perniciosa*. A

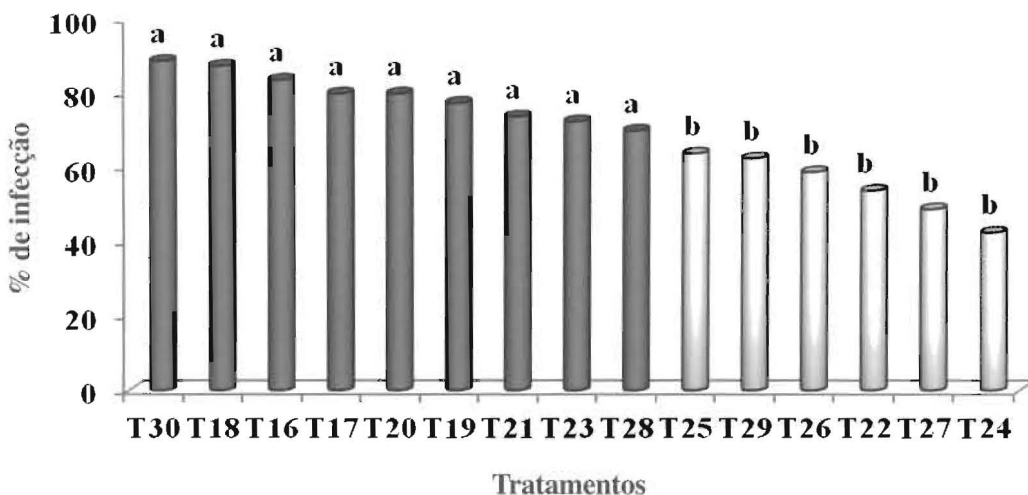


Figura 2. Incidência de *Moniliophthora perniciosa* em plântulas de *Theobroma cacao* potencializadas com indutores de resistência aplicados diretamente nas sementes. Ensaios 4, 5 e 6

forma glicosídica tem a função de regular a presença do AS nos sítios de infecção, evitando o seu efeito fitotóxico quando em excesso, além de manter uma reserva da substância para futuras necessidades (Vlot et al., 2009; Kawano et al., 2004). Folhas de fumo inoculadas com o vírus TMV, apresentou altos níveis de AS na forma glicosídica no sítio de infecção (Seo et al., 1995; Lee et al., 1995). Muitos trabalhos publicados identificam a molécula de Ca^{2+} como fator essencial para a ação do AS durante a indução dos mecanismos de defesa de plantas, uma vez que o Ca^{2+} desempenha um papel chave como mensageiro secundário para muitos processos relacionados aos mecanismo de defesa de plantas contra patógenos (Knight et al., 1991; Sanders et al., 1999).

O tratamento 25 (mistura de AS 15 mM (64%), Q 200 mg L⁻¹ (16%), CCA 10 mM), o T26 (mistura de AS 7,5 mM+ Q 200 mg L⁻¹+ CCA 10 mM) e o T27 (mistura AS 2,5 mM + Q 200 mg L⁻¹ + CCA 10 mM) também mostraram eficiência no controle da vassoura-de-bruxa. Nestes três tratamentos, a Q derivada de um polissacarídeo catiônico produzido através da deacetilação da quitina, aparece como um dos componentes exógeno, proveniente de parede celular de patógenos e que faz parte de um Padrão Molecular Associado a Patógeno (PAMPS) (Iriti & Faoro, 2009). A Q induz a resistência sistêmica, através de estímulos à produção de Ca^{2+} , ativação de MAP quinases, aposição de calose, explosão oxidativa, reação de hipersensibilidade dentre outras atividades (Iriti & Faoro, 2009). Quando pulverizada em plantas de tomate na concentração de 250 mg L⁻¹ foi eficiente no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* quando comparada a testemunha somente com água destilada (Paz-Lago et al., 2000). Sementes de milho tratadas com Q 2,5 g L⁻¹ controlou o míldio causado pelo fungo *Sclerospora graminicola* em casa de vegetação e campo, em 79 e 76%, respectivamente, pela ação das enzimas quitosanase (EC 3.2.1.132) e peroxidase, quando comparada a testemunha (Manjunatha et al., 2008). Resultados semelhantes foram encontrados por Nandeeshkumar et al. (2008) em sementes de *Helianthus annuus* (girassol) quando induzidas por Q 2g L⁻¹, obtiveram o controle do míldio causado pelo fungo *Plasmopara halstedii*, tanto em casa de vegetação como a campo, com redução da severidade da doença de 46 e 52 %, respectivamente.

Também indicou que o mecanismo de indução de resistência na cultivar suscetível Morden, envolveu a super expressão de proteínas como a catalase, a PAL e proteínas relacionadas com patogênese como a Pr-1a, α -1,3-glucanase, quitinase, peroxidase e calcona sintase, em níveis semelhantes a cultivar resistente .

O tratamento 29 (extrato do óleo de neem (*Azadirachta indica*) a 2%) também reduziu a incidência da vassoura de bruxa. Sementes de alfafa (*Medicago sativa*) tratadas com extrato de neem a 1%, durante 6 horas, desenvolveram resistência em plantas adultas, em condições de campo, contra as doenças da ferrugem, mofo (parte aérea) e murcha e podridão da raiz, durante dois anos, quando comparadas com o controle (Morsy et al., 2011). Plantas de grão de bico (*Cicer arietinum*) pulverizadas com neem a 2% e inoculadas com o fungo *Ascochyta rabiei* reduziram a incidência da ferrugem em 48%, enquanto as plantas testemunhas somente 18% (Sarwar et al., 2011). Plântulas de *Cucumis sativus* L. (pepino) com pulverizações do extrato de óleo de neem nas concentrações de 0,5, 1,0, 1,5, e 2% e inoculadas após 24 h com o fungo *Podosphaera xanthii* ao serem avaliadas após uma semana, o tratamento a 2% foi o mais eficiente, com um controle da doença de 94,7%, enquanto que as plantas testemunhas apresentaram uma incidência de 80%. A ação indutora foi relacionada com uma super expressão de PAL, TAL (Tirosina Amonia Liase) e fitoalexinas (Aboellil, 2007).

Conclusão

O uso de indutores de resistência em plântulas de cacauieiros via sementes foi promissor na redução de infecção de *Moniliophthora perniciosa* (vassoura-de-bruxa).

Agradecimentos

Os autores agradecem aos colegas Carlos Josafá Oliveira e Jorge Luiz Rizério Mafra Ney pela colaboração durante os ensaios em execução na Estação Experimental Sósthene de Miranda do Cepec/Ceplac.

Literatura Citada

- ABOELLIL, A. H. 2007. Trilogy, a product of neem (*Azadirachta indica*) induces resistance in cucumber against *Podosphaera xanthii*. Research Journal of Microbiology 2:402-414.
- BECKERS, G. J. M. et al. 2009. Mitogen-activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Cell 21:944-953.
- BOYKO, A. et al. 2010. Transgenerational adaptation of *Arabidopsis* to stress requires DNA methylation and the function of dicer-like proteins. Public Library of Science 5:1-12.
- COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. 2012. Inovação Tecnológica e Sustentabilidade. In: Congresso Brasileiro do Cacau, 3. Ilhéus, Bahia. Circular I.
- CONRATH, U. et al. 2006. Priming: getting ready for battle. Molecular Plant Microbe Interact 19:1062-1071.
- CONRATH, U. 2011. Molecular aspects of defence priming. Trends in Plant Science 16:524-531.
- EHNESS, R. et al. 1997. Glucose and stress independently regulate source/sink relations and defense mechanisms via signal transduction pathways involving protein phosphorylation. The Plant Cell 9:1825-1841.
- EL-HENDAWY, S.; SHABAN, W.; SAKAGAMI, J. I. 2010. Does treating faba bean seeds with chemical inducers simultaneously increase chocolate spot disease resistance and yield under field conditions? Turkish Journal Agriculture Forestry 34:475-485.
- ESSMANN, J. et al. 2008. RNA interference-mediated repression of cell wall invertase impairs defense in source leaves of tobacco. Plant Physiology 147:1288-1299.
- GÓMEZ-ARIZA, J. et al. 2007. Sucrose-mediated priming of plant defense responses and broad spectrum disease resistance by overexpression of the maize pathogenesis-related PRms protein in rice plants. Molecular Plant-Microbe Interactions 20:832-842.
- GÖRLACH, J. et al. 1996. Benzothiadiazole. A novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. The Plant Cell 8:629-643.
- IRITI, M.; FAORO, F. 2009. Chitosan as a MAMP, searching for a PRR. Plant Signaling & Behavior 4:66-68.
- KAWANO, T. et al. 2004. Controlled salicylic acid levels and corresponding signaling mechanisms in plants. Plant Biotechnology 21:319-335.
- KNIGHT, M. R. et al. 1991. Transgenic plant aequorin reports the effects of touch and cold-shock and elicitors on cytosolic calcium. Nature 352:524-526.
- KOCH, K. E. 1996. Carbohydrate modulated gene expression in plants. Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology 47:509-540.
- LI, L. et al. 2012. Role of calcium in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) resistance to *Botrytis cinerea*. African Journal of Biotechnology 11:9013-9022.
- LEE, H. I.; LEON, J.; RASKIN, R. 1995. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proceedings of the National Academy of Sciences 92:4076-4079.
- LUNA, E. et al. 2012. Next-Generation Systemic Acquired Resistance. Plant Physiology 158:844-853.
- MANJUNATHA, G. et al. 2008. Chitosan enhances disease resistance in pearl millet against downy mildew caused by *Sclerospora graminicola* and defence-related enzyme activation. Pest Management Science 64:1250-7.
- MOGHADDAM, M. R. B.; VAN den ENDE, W. 2012. Sugars and plant innate immunity. Journal of Experimental Botany 63:3989-3998.
- MOLINIER, J. et al. 2006. Transgeneration memory of stress in plants. Nature Letters 442:1046-1049.
- MORKUNAS, I. et al. 2011. Cross-talk interactions of sucrose and *Fusarium oxysporum* in the

- phenylpropanoid pathway and the accumulation and localization of flavonoids in embryo axes of yellow lupine. *Journal of Plant Physiology* 168: 424-433.
- MORSY, K. M.; ABDEL-MONAIM, M. F.; MAZEN, M. M. 2011. Use of abiotic and biotic inducers for controlling fungal diseases and improving growth of alfalfa. *World Journal of Agricultural Sciences*. pp.566-576.
- NADIA, G. et al. 2007. Induction of systemic resistance in potato plants against late and early blight diseases using chemical inducers under greenhouse and field conditions. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 3:73-81.
- NANDEESHKUMAR, P. et al. 2008. Chitosan induced resistance to downy mildew in sunflower caused by *Plasmopara halstedii*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72:188-194.
- PASTOR, V. et al. 2012. Primed plants do not forget. *Environmental and Experimental Botany* doi:10.1016/j.envexpbot.2012.02.013.
- PAZ-LAGO, D., et al. 2000. Tomato -*Fusarium oxysporum* interactions II-Chitosan and MSB induced resistance against FOL in Young tomato plants. *Cultivos Tropicales* 21:17-20.
- RESENDE, M. L. V. et al. 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahlia* by acibenzolar-S-methyl (ASM). *Plant Pathology* 51:621-628.
- ROITSCH, T. et al. 2003. Extracellular invertase: key metabolic enzyme and PR protein. *Journal of Experimental Botany* 54:513-524.
- ROLLAND, F.; MOORE, B.; SHEEN, J. 2002. Sugar sensing and signaling in plants. *The Plant Cell* 14(Supplement):185-205
- RYALS, J. A. et al. 1996. Systemic acquired resistance. *The Plant Cell* 8:1809-1819.
- SANDERS, D. et al. 1999. Communicating with calcium. *The Plant Cell* 11:691-706.
- SARWAR, N. et al. 2011. Induced systemic resistance in Chickpea against *Ascochyta* blight by safe chemicals. *Pakistan Journal of Botany* 43:1381-1387.
- SCHARTE, J. et al. 2005. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with *Phytophthora nicotianae*. *Plant Cell and Environment* 28:1421-1435.
- SERRANO, M. et al. 2012. Repression of sucrose/ultraviolet B light-induced flavonoid accumulation in microbe associated molecular pattern-triggered immunity in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 158:408-422.
- SEO, S.; ICHIZAWA, K.; OHASHI, Y. 1995. Induction of salicylic acid in tobacco leaves by exogenous salicylic acid. *Plant Cell Physiology* 36:447-453.
- SHEEN, J. 1999. C4 gene expression. *Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology* 50: 187-217.
- SLAUGHTER, A. et al. 2012. Descendants of Primed *Arabidopsis* Plants Exhibit Resistance to Biotic Stress. *Plant Physiology* 158:835-843.
- SMIRNOFF, N.; WHEELER, G. L. 2000. Ascorbic Acid in Plants: Biosynthesis and Function. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 35:291-314.
- SOLFANELLI, C. et al. 2006. Sucrose specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 140:637-646.
- SPOEL, S. H.; DONG, X. 2012. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nature Reviews* 12:89-100.
- THIBAUD, M. C. et al. 2004. Sucrose increases pathogenesis-related PR-2 gene expression in *Arabidopsis thaliana* through an SA-dependent but NPR1-independent signaling pathway. *Plant Physiology and Biochemistry* 42:81-88.
- VIEIRA D. R.; VALLE R. R. 2012. Indução de resistência sistêmica em plantas contra fitopatógenos. In: Valle, R. R. ed. *Ciência, Tecnologia e Manejo do Cacauero*. pp. 303-337.

- VLOT, A. C.; DEMPSEY, D. A.; KLESSIG, D. K. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review Phytopathology* 47:177-206.
- WALTERS, D. R.; PATERSON, L. 2012. Parents lend a helping hand to their off spring in plant defence. *Biology Letters* 8:871-873.