

# Efecto de Diferentes Adherentes y Formulaciones de una Bacteria Parasítica en el Combate del Ojo de Gallo *Mycena citricolor* (Berk & Curt) Sacc. en el Cafeto<sup>1</sup>

S. Calvo\*, E. Vargas\*\*

## ABSTRACT

The effect of different adhesives and formulations of the antagonistic bacterium 16At on the control of American leaf spot of coffee was studied at Turrialba, Costa Rica. Five cv. 'Caturra' coffee plants, seven years old, were chosen from each of the four foci of infection selected from a well-shaded coffee plantation. Two different formulations of the bacterium were used: mixed with peat and with nutrient broth. The adhesives used were cassava starch and linseed oil. Two spray applications, using water as carrier and with 15 days interval, were made during the rainy season. The effect of the treatments was determined by weekly evaluations of the following parameters: total leaves, diseased leaves, lesions per leaf, lesions with gemmae and total number of gemmae. These data were taken from eight plagiotropic branches per plant. The treatment bacteria + cassava starch + peat proved to be the best. It worked as a biologic balance since the bacteria population decreased after gemmae lyses had taken place; it remained low on the leaf surface but rose again when new gemmae were produced and parasitized, showing a good control of the disease under heavy infection conditions.

## INTRODUCCION

Las bacterias, como agentes de combate biológico de enfermedades del follaje, tienen la ventaja sobre los hongos de ser primeras en la colonización del filoplano; además, poseen gran velocidad de crecimiento y habilidad de utilizar formas variadas de nutrimentos en diversas condiciones. La mayoría de ellas actúa por competencia de nutrimentos; otras, por producción de antibióticos (1, 7). Solamente hay dos estudios de bacterias parasíticas, específicamente de Morgan (5), con *Bacillus pumillas* que parasita *Puccinia graminis*, en trigo y cebada. Recientemente, en Costa Rica Mora (6) aisló una bacteria del filoplano de hojas sanas de cafeto, parasítica sobre *M. citricolor*, que desintegra las gemas y el micelio en 48 h

<sup>1</sup> Recibido para publicación el 5 de setiembre 1989. Parte de la tesis de grado de Licenciada en Fitotecnia, presentada por primera autora a la Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica. Los fondos fueron suministrados por IDRC, Canadá.

\* Laboratorio de Fitopatología, Escuela de Fitotecnia, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

## COMPENDIO

En una finca ubicada en San Juan Norte de Turrialba, Costa Rica se llevó a cabo un ensayo en el período comprendido entre julio y noviembre de 1987. En el campo se seleccionaron cuatro focos de infección de la enfermedad. En cada uno, se tomaron seis plantas del cv. 'Caturra' de 7 a 8 años; donde no se había hecho aspersión de fungicidas, en uno de los lotes, se aplicó un tratamiento que consistió en 35 g de turba inoculada con la bacteria antagonista 16AI + adherente (aceite de linaza 4 cc); en otro grupo de plantas se aplicaron 100 cc de caldo nutritivo + bacteria antagonista + aceite de linaza (4 cc); a otro grupo, 35 g de turba inoculada + almidón (10 g) y el último grupo constituyó el testigo absoluto. En todos los casos se utilizaron siete litros de agua y se hicieron dos aspersiones cada 15 días. Las dosis fueron determinadas en un estudio previo, realizado en el Laboratorio de Microbiología de Suelos, del Centro de Investigaciones Agronómicas. El intervalo de aplicación se determinó midiendo la persistencia de la bacteria en pruebas previas en el campo. Semanalmente, se tomaron datos de las variables: número de hojas totales, número de hojas enfermas, número de lesiones por hoja, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas, en ocho ramas plagiotrópicas de cada planta. El comportamiento de los tratamientos, según la prueba de Tuckey, mostró que el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón fue el que presentó los promedios menores de porcentaje de lesiones con cabecitas, porcentaje de hojas enfermas, número de lesiones por hoja, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas. Los tratamientos que siguieron en efectividad fueron: el de Bacteria + Turba + Adherente y el de Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente. En cuanto al comportamiento de los tratamientos y su relación con las condiciones climáticas, se observó un aumento de la enfermedad durante los recuentos cuarto, quinto, noveno y décimo; no obstante, las variables porcentaje de lesiones con cabecitas, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas, se mantuvieron en niveles bajos para el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón; no fue así para los otros tratamientos; se obtuvo un buen control de la enfermedad bajo una presión de inóculo adecuada pero no alta.

sirviendo de sustrato alimenticio e incrementando la población de células, pero que, en ausencia de gemas, se mantiene en poblaciones bajas en el filoplano. Además, este investigador desarrolló una formulación de la bacteria utilizando turba en polvo como vehículo, la cual resultó efectiva al inhibir la infección cuando se perspersó sobre hojas en cámaras húmedas.

Para poder evaluar adecuadamente el potencial de las bacterias como agentes de combate biológico, se debe estudiar su persistencia en el filoplano y los

efectos que puedan tener las diferentes formulaciones y eventualmente, optimizar los esquemas de aplicación en el campo (7, 9). Knudsen (4) y Spurr (8), determinaron que las poblaciones de *Bacillus thuringiensis* (HD-1) y (HD-521), *Bacillus cereus* var *mycoïdes* y *Pseudomonas cepacea* (pc. 742), utilizadas para combatir el hongo *Cercospora arachidicola* en maní, decaían rápidamente después de 14 días de aplicadas. Ese hallazgo motivó la realización del presente estudio, tendiente a determinar el efecto de diferentes adherentes y formulaciones de la bacteria en el combate de la enfermedad, bajo condiciones de campo

MATERIALES Y METODOS

Para determinar la dosis óptima de la bacteria parasítica que se podría usar en el campo, se realizaron pruebas en el Laboratorio de Microbiología de Suelos, del Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, durante los meses de octubre de 1986 a febrero de 1987. Para ello, se utilizaron hojas de cafeto sanas y escogidas al azar de un cafetal ubicado en Tres Ríos, a 1 270 msnm y colocadas en cámaras húmedas transparentes, probándose cinco tratamientos: 1-10 gramos de turba inoculada + 90 cc de agua esterilizada; 2-5 gramos de turba inoculada + 95 cc de agua esterilizada; 3-2 gramos de turba inoculada + 98 cc de agua esterilizada; 4-1 gramo de turba inoculada + 99 cc de agua esterilizada y 5-0.5 gramos de turba inoculada + 99.5 cc de agua esterilizada.

Para cada tratamiento se tomó la correspondiente cantidad de turba y se procedió a inocularla con un cultivo bacteriano de 48 horas en agar nutriente, dejándola crecer en reposo por tres días, a temperatura ambiente, en bolsas plásticas. Para evitar problemas al momento de la aplicación, se filtró el inoculante colocando un poco de algodón en el fondo del embudo. Posteriormente, el inoculante se asperjó con un atomizador *Devilbis* No. 15, cubriendo totalmente las superficie de las hojas. Dos días después, se produjeron heridas en las hojas con un alfiler, a ambos lados de la vena central y con la ayuda de un pincel; se colocaron diez cabecitas de *Mycena citricolor* en las heridas. Las hojas se asperjaron con agua destilada, cada dos días, para mantener la humedad y durante los ocho días siguientes se hicieron observaciones diarias.

Las hojas se mantuvieron en cámaras húmedas transparentes que presentaron las características descritas por Mora (6). El número de repeticiones fue de siete para cada tratamiento

Para conocer la unidad poblacional de la bacteria inoculada, se hicieron recuentos de células bacteria-

nas por triplicado, a los 0, 2, 6 y 8 días de aplicada la bacteria, empleando la técnica por dilución en platos Petri (18, 38, 42). Para ello, se utilizó un sacabocados de 1 cm de diámetro; se tomó, de cada hoja, cinco discos los cuales se colocaron en 10 ml de agua esterilizada y se hicieron diluciones por triplicado hasta  $10^{10}$  (18, 37). Luego, se colocó 0.1 ml de las diluciones  $10^6$ ,  $10^7$ ,  $10^8$  y  $10^9$  en platos Petri con agar nutritivo y se dejaron a temperatura ambiente. El cálculo de colonias bacterianas se realizó al cuarto día cuando se procedió a contar el número de ellas. El color característico de la colonia de la bacteria en estudio, fue un amarillo fuerte

En este ensayo se consideró, como mejor tratamiento, aquél en el cual la unidad poblacional bacteriana fuera mayor, a los ocho días de aplicados los tratamientos estudiados

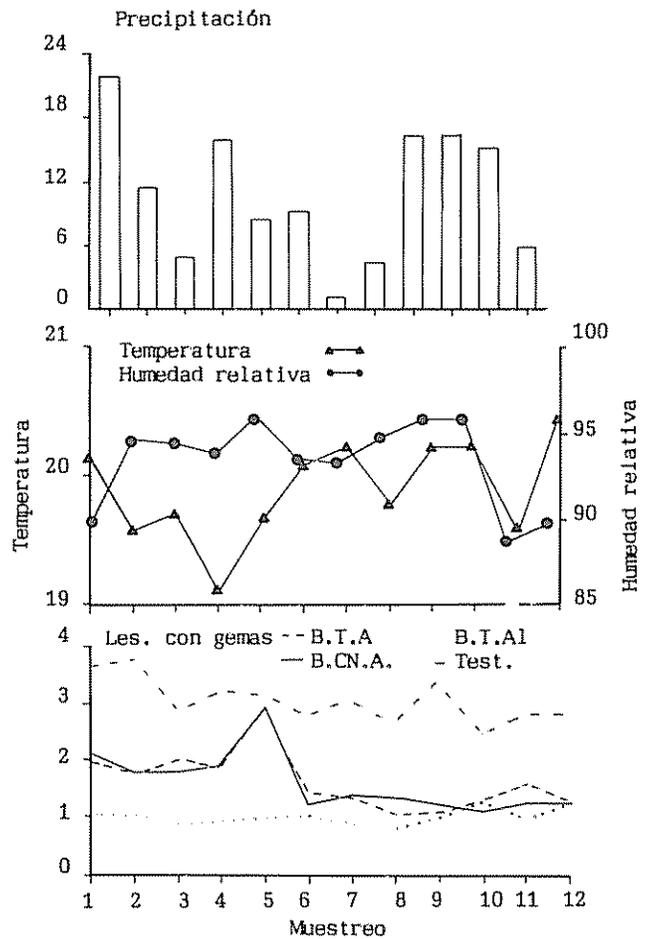


Fig 1. Efecto de diferentes formulaciones de la bacteria y adherentes sobre el número de lesiones con gemas de *M. citricolor* y se relación con los elementos climáticos

Para determinar la frecuencia de las aplicaciones, el 23 de julio de 1987, se procedió a aplicar cada tratamiento en el campo, utilizando para ello un atomizador manual de espalda Carpi, de 16 litros, con boquilla cónica. Aproximadamente, 1 hora, 47, y 10 días después de la aplicación, se colectaron muestras de 12 hojas por tratamiento y se llevaron al Laboratorio de Microbiología de Suelos, del Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, para evaluar la persistencia de la bacteria, empleando la técnica por dilución en platos Petri.

El ensayo de campo se estableció en una finca ubicada en San Juan Norte de Turrialba, provincia Cartago, Costa Rica, a 646 msnm. El ensayo se inició el 9 de julio y éste finalizó el 12 de noviembre de 1987. Las condiciones meteorológicas que ocurrieron durante el transcurso del estudio aparecen en la Fig. 1.

Las plantas de café utilizadas en el ensayo fueron del cultivar Caturra, de 7-8 años, con una infección alta de ojo de gallo debida, en parte a la sombra y sin haber efectuado ningún combate químico de la enfermedad.

Se escogieron en el campo los focos de infección que presentaran el mayor número de plantas; de éstas, se utilizaron seis plantas por tratamiento las cuales se numeraron al azar y se marcaron con cintas de diferentes colores para diferenciar cada tratamiento, de manera que éstos quedaran separados. En cada planta se escogieron ocho ramas plagiotrópicas que tuvieran hojas con lesiones y éstas se marcaron con cinta, cuatro en el tercio medio y cuatro en el tercio inferior, orientadas en la dirección de los puntos cardinales.

Los tratamientos aplicados fueron: 1) Turba inoculada con la bacteria antagonista 16AT + aceite de linaza (adherente superior); 2) Bacteria antagonista + aceite de linaza + caldo nutritivo; 3) Turba inoculada con la bacteria antagonista + almidón de yuca; 4) Testigo absoluto.

La dosis utilizada fue de 35 g de turba que había sido inoculada con una población bacteriana base de  $10^9$  por aplicación, para cada tratamiento, excepto el número dos, en el cual sólo se aplicó la bacteria antagonista (con igual población bacteriana) con 100 cc de caldo nutritivo. Se utilizaron 10 g de almidón cuando éste fue empleado como adherente, pero, cuando el adherente fue aceite de linaza, se utilizaron 4 cc del mismo. Cada dosis fue disuelta en siete litros de agua y con ella, se procedió a asperjar uniformemente las plantas en el campo de manera que no hubiera goteo del producto. Debido al factor de dilución, la población bacteriana, ya en la superficie foliar, fue de aproximadamente de  $10^6$ .

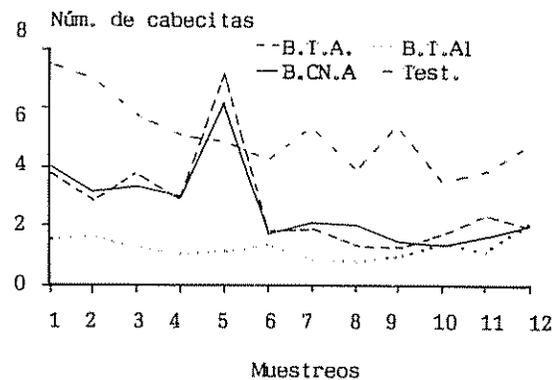


Fig. 2. Efecto de diferentes formulaciones de la bacteria y adherentes sobre el número de gemas de *M. citricolor*.

Las aplicaciones se realizaron cada 15 días, entre agosto y setiembre de 1987, utilizándose el mismo atomizador descrito. Semanalmente, se hicieron recuentos en cada bandola de las siguientes variables: hojas totales, hojas enfermas, lesiones por hoja, lesiones con gemas o cabezitas y número total de cabezitas. Se consideró que una cabezita era normal cuando se mantenía unida al pedicelo y conservaba su color natural.

El diseño experimental que se utilizó fue un irrestricto al azar, con seis repeticiones. Los muestreos generaron un arreglo de parcelas divididas, por lo que el análisis se hizo siguiendo este modelo.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La dosis óptima de la bacteria parasítica 16AT, a emplear en el campo, fue la de 0.5 g de turba inoculada + 99.5 cc de agua esterilizada que correspondió a 35 g de turba inoculada, diluida en siete litros de agua por tratamiento. Esta dosis fue la que mantuvo una población bacteriana mayor y la que determinó que, en hojas infectadas con *M. citricolor*, se evitara la formación de lesiones (Cuadros 1 y 2).

Se determinó que el intervalo óptimo de las aplicaciones de los tratamientos en el campo, sería cada quince días, pues, aproximadamente diez días después de la aplicación, la población bacteriana había decaído completamente para los tratamientos: Turba inoculada + Adherente y Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente, mientras que el tratamiento con Turba inoculada + Almidón mantuvo una población adecuada de bacterias. El hecho de que la población bacteriana en el testigo fuera de cero pudo haberse debido a que la bacteria fue aislada de las plantaciones del CATIE, en Turrialba, en donde las condiciones macro y microclimáticas son diferentes a la zona en que se

Cuadro 1. Niveles poblacionales de la bacteria parasítica 16AT, para cada tratamiento. Laboratorio de Microbiología de Suelos. 1986.

Recuento	Tratamiento				
	10 g Turba + 90 cc de agua	5 g Turba + 95 cc de agua	2 g Turba + 98 cc de agua	1 g Turba + 99 cc de agua	0.5 g Turba + 99.5 cc de agua
1:2 d d a.	$1.37 \times 10^{11}$	$3.6 \times 10^{10}$	$5.05 \times 10^9$	$4.3 \times 10^{10}$	$4.73 \times 10^{12}$
2:6 d d a.	$2.81 \times 10^9$	0	$3.3 \times 10^{11}$	$9.98 \times 10^{10}$	$1.07 \times 10^{12}$
3:8 d d a.	0	0	$6.5 \times 10^{10}$	$5.05 \times 10^9$	$8 \times 10^{10}$

estableció el experimento. Sin embargo, a la hora de introducirla, la bacteria fue capaz de establecerse y de actuar contra el patógeno (Cuadro 3).

En el ensayo de campo, se consideró que el mejor tratamiento sería aquél que disminuye significativamente, tanto el número de lesiones con cabecitas como el número de cabecitas, consideradas ambas como las variables más relevantes de la enfermedad estudiada.

De acuerdo al análisis de varianza (Cuadros 1, 2 y 3), se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos, los muestreos y la interacción de ambas para los parámetros hojas enfermas, porcentaje de lesiones con cabecitas, lesiones por hoja, lesiones con cabecitas y número de cabecitas.

El comportamiento de los tratamientos, según la prueba de Tuckey (Cuadros 4 y 5), indicó que el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón fue el que presentó los menores promedios de porcentaje de lesiones con cabecitas, porcentaje de hojas enfermas, número de lesiones por hoja, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas. Los tratamientos que siguieron en efectividad fueron: el de Bacteria + Turba + Adherente y el de Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente.

La mayor efectividad para el combate de la enfermedad que presentó el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón, podría deberse a que el almidón de yuca que se utilizó como adherente, permitió que en la superficie foliar se mantuvieran partículas de mayor diámetro de turba de lo que podría lograrse con el adherente agrícola o aceite de linaza. Así, se logró que una mayor cantidad de células bacteriales permanecieran más tiempo en la superficie de la hoja y alcanzaran las cabecitas, utilizándolas como sustrato para multiplicarse. Podría pensarse también que el almidón, además de servir como adherente, fuera también fuente alimenticia para la bacteria; así, cualquier sustrato o medio que mantenga una población bacteriana mayor que la natural en la superficie foliar favorecerá el combate, ya sea al disminuir el inóculo por desintegración de las cabecitas inmaduras o impedir la infección, al desintegrar la cabecita desprendida del pedicelo, antes de la penetración. Otra característica que podría favorecer al almidón sería que, al secarse, formara una película capaz de proteger las células bacteriales de la inactivación por radiaciones ultravioleta, requisito indispensable en este tipo de combate biológico.

El tratamiento de Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente, aparentemente, permitió un rápido crecimiento de bacterias debido a la presencia del caldo

Cuadro 2. Sobrevivencia de cabecitas en hojas inoculadas con *Mycena citricolor* para cada tratamiento. Laboratorio de Microbiología de Suelos. 1986.

Hoja	Tratamiento				
	10 g Turba + 90 cc de agua	5 g Turba + 95 cc de agua	2 g Turba + 98 cc de agua	1 g Turba + 99 cc de agua	0.5 g Turba + 99.5 cc de agua
1	0	0	0	0	0
2	0	2	0	2	0
3	0	3	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	1	0	1	0
7	0	0	0	0	0

Cuadro 3. Fluctuaciones poblacionales de la bacteria parasitica en el campo, para cada tratamiento. San Juan Norte de Turrialba. 1987.

Recuento	Tratamiento			Testigo
	Bact + I + Adh	Bact + CN + Adh	Bact + I + Alm	
1: 1hr d a	$8.3 \times 10^8$	$1.3 \times 10^8$	$1.2 \times 10^{10}$	0
2: 4 d d a	$2.4 \times 10^9$	$1.7 \times 10^9$	$1 \times 10^{10}$	0
3: 7 d d a	$1 \times 10^9$	$1 \times 10^8$	$1 \times 10^9$	0
4: 10 d d a	0	0	$1 \times 10^7$	0

I: Turba                      CN: Caldo nutritivo                      Alm: Almidón

nutritivo, en una proporción mayor que en los otros tratamientos. Pero, por estar disuelto en agua, se pudo haber perdido por lavado producido por el agua de lluvia y al terminarse esta fuente alimenticia, la población bacteriana decayó recuperándose hasta que la producción de nuevas cabecitas se incrementara y así, constituirse en el nuevo sustrato energético de las bacterias.

En cuanto al comportamiento mostrado por los tratamientos durante el ensayo y su relación con las condiciones climáticas que se presentaron (Fig 1), se observó un aumento acelerado de la enfermedad durante los recuentos cuarto, quinto, noveno y décimo, en algunos de los tratamientos. Durante estos muestreos, los promedios de las variables: porcentaje de lesiones con cabecitas, número de lesiones con cabecitas y número de cabecitas, se mantuvieron en niveles bajos para el tratamiento de Bacteria + Turba + Almidón, no así para los tratamientos de Bacteria + Turba + Adherente y el de Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente. Durante este periodo, se presentaron altas precipitaciones al igual que porcentaje elevados de humedad relativa, lo cual favoreció el desarrollo de la enfermedad, como lo indican Bonilla y Carvajal (2, 3). La menor efectividad de los tratamientos expuestos pudo deberse a pérdida por lavado de los productos y no a la defoliación, pues el testigo fue el tratamiento que presentó mayor caída de hoja.

Pero, al incrementarse el número de cabecitas, las bacterias tuvieron un mayor sustrato del cual alimentarse y multiplicarse, y así reducir nuevamente el nivel de infección manteniéndose bajo hasta el final, de manera igual para todos los tratamientos y siempre inferior al testigo el cual todavía muestra una tendencia a aumentar. Podría pensarse que la temperatura influye en la efectividad de la bacteria, pues, durante el cuarto muestreo, ésta disminuyó pero se observó un aumento en el promedio de las variables: número de cabecitas, número de lesiones con cabecitas y porcentaje de lesiones con cabecitas, para los tratamientos biológicos, excepto el que contiene almidón el cual mantiene una mayor población de bacterias en la hoja (Cuadro 3). Este comportamiento parece indicar que el desarrollo de la bacteria es favorecido por temperaturas altas. Posterior a esos aumentos en los promedios de las variables, se alcanza un cierto equilibrio, manteniendo la bacteria una población adecuada con base en pocas cabecitas y una cierta capacidad de mantenerse en la filósfera por mecanismos aún desconocidos, lo cual le permite ir disminuyendo la producción de inóculo en forma progresiva mediante erradicación del hongo en un número significativo de lesiones (Fig. 1).

Si se observan las curvas de desarrollo de la enfermedad (Figs 1, 2 y 3), se nota que la cantidad de inóculo inicial fue diferente para cada tratamiento,

Cuadro 4. Promedio de las variables porcentaje de hojas enfermas y lesiones por hoja para cada tratamiento. San Juan Norte de Turrialba. 1987.

Tratamiento	Variable	
	% Hojas enfermas	Lesiones/Hoja
Bac + Turba + Adh	6.75	b*
Bac + C N. + Adh	7.18	b
Bac. + Turba + Alm	4.99	c
Testigo	8.33	a

\* Medias seguidas de una misma letra no se consideran estadísticamente distintas según la prueba de Tuckey ( $\alpha = 0.05$ ).

Cuadro 5. Promedio de las variables lesiones con cabecitas (cab), número de cabecitas y porcentaje de lesiones con cabecitas. San Juan Norte de Turrialba. 1987.

Tratamiento	Variable					
	Lesiones cab.		Número cab.		% Lesiones cab.	
Bac. + Turba + Adh	1.62	b*	2.72	b	2.17	b
Bac. + C.N. + Adh	1.59	b	2.64	b	2.25	b
Bac. + Turba + Alm	0.99	c	1.26	c	1.69	c
Testigo	3.03	a	5.08	a	3.26	a

\* Medias seguidas de una misma letra no se consideran estadísticamente distintas según la prueba de Tuckey ( $\alpha = 0.05$ )

siendo menor para el de Bacteria + Turba + Almidón y mayor para el testigo, lo cual pudo haberle dado ventaja. No obstante, pareciera tener la conveniencia de que mantiene una mayor población de bacterias en la hoja.

Se determinó también que fue durante las primeras seis semanas cuando se produjeron las mayores reducciones en los promedios para cada una de las variables, en los tratamientos: Bacteria + Turba + Adherente y Bacteria + Caldo Nutritivo + Adherente (Figs. 1, 2 y 3). Esto señala la posibilidad de combatir esta enfermedad, en forma efectiva, si las aplicaciones de la bacteria se inician, en forma temprana, al comienzo de la época lluviosa cuando el inóculo está más bajo, como ocurrió en el tratamiento con almidón, el cual comenzó con inóculo bajo y alcanzó el equilibrio, desde el comienzo.

En cuanto a las aplicaciones se puede decir que, tanto el momento como la dosis y la frecuencia, parecieran ser las correctas ya que se mantuvo un combate efectivo de la enfermedad durante el ensayo. Se considera que la presión del inóculo en el ensayo fue adecuada mas no alta.

LITERATURA CITADA

1. BAKER, F.L.; COOK, R.J. 1982. Biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 433 p.
2. BONILLA, J.C. 1980. Estudio del ojo de gallo causado por el hongo *Mycena citricolor*. In Simposio Latinoamericano sobre caficultura (3., 1980; Tegucigalpa, Honduras). Memorias Tegucigalpa. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, Zona Norte. p. 177-188.
3. CARVAJAL, J.F. 1939. Ojo de gallo (*Omphalia flavida*). Instituto de Defensa del Café de Costa Rica. Fotocopia. Tesis 371. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. p. 535-576.
4. KNUDSEN, G.R.; SPURR JUNIOR, A.W. 1987. Field persistence and efficacy of five bacterial preparations for control of peanut leaf spot. *Plant Disease* 71(5): 442-445.
5. MORGAN, F.L. 1963. Infection, inhibition and germ-tube lysis of the three cereal rusts caused by *Bacillus pumilus*. *Phytopathology* 53:1 346-1 348.
6. MORA, F. 1987. Combate biológico de ojo de gallo (*Mycena citricolor* Bert & Curt) Sacc, en café mediante bacterias antagonistas. Tesis Ing. Agr. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica, Facultad de Agronomía. 58 p.

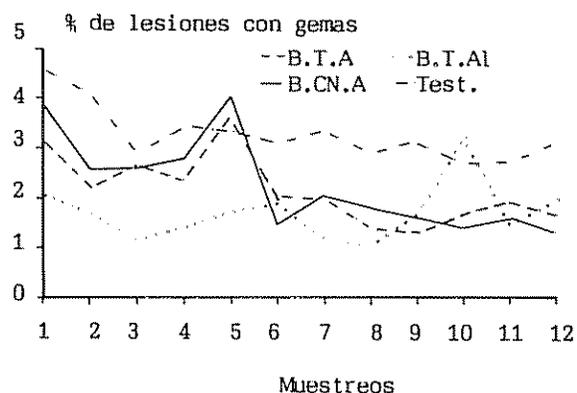


Fig. 3. Efecto de diferentes formulaciones de la bacteria y adherentes sobre el porcentaje de lesiones con gemas de *M. citricolor*.

Sin embargo, el estudio pareciera indicar la posibilidad de que la bacteria no necesita adherente para mantenerse en el filoplano y que una sola aplicación hecha al inicio, sea suficiente para obtener un buen control de la enfermedad.

7 SCHROT, M.N.; LOPEZ, I.E.; HILLDEBRAND, D.C. 1983 Bacteria as biological control of plant disease. In Current perspective in microbial ecology. Ed. by M.S. Klug; L. A. Riddy. Washington American Society of Microbiology p. 349-354

8 SPURR, H.W. 1981. Introduction of microbial antagonists for the control of foliar pathogens. In

Biological control in crop production. Allanheld - Osmun Publishers. New Jersey. p. 323-332.

9. WINDELS, E.; LINDOW, S. 1985 Biological control on the phylloplane. St. Paul, Minnesota, The American Phytopathological Society 169 p.

## Resistência Induzida no Complexo *Coffea arabica* L. *Hemileia vastatrix*

Berk.:et Br. Fenóis e Enzimas<sup>1</sup>

P. Mazzafera\*, A. C. N. Magalhães\*

### ABSTRACT

Resistance to *Hemileia vastatrix* was tested in discs of leaves of the cultivars Catuaí (S<sub>h</sub>5) and F840 C1122-18 (S<sub>h</sub>5 S<sub>h</sub>2) of *Coffea arabica* by the pre-treatment with thermally inactivated uredospores of race II (v5) at 0.1 and 2mg/ml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O concentrations. The discs were inoculated with viable uredospores of race II at 0.25, 0.5 and 1mgml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O concentrations and on different days after the pre-treatment with inactivated uredospores. As expected, induced resistance was only obtained in the susceptible cultivar (Catuaí). Strongest evidence of induced resistance was observed in the combination of 2 mgml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O of inactivated uredospores with 0.5 mgml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O of viable uredospores, applied one day after pre-treatment. Total phenol content was also evaluated; however, no significant differences were observed among treatments. Phenolic extracts were analyzed by cellulose thin-layer chromatography and two new spots were detected, being identified as a flavonol in the susceptible cultivar Catuaí, and as an isoflavone in the resistant cultivar C1122-18. Flavonol might be associated with the induced resistance in leaf discs of Catuaí by the pre-treatment with inactivated uredospores, as suggested by its appearance on the days that induced resistance was most evident. Discs of leaves treated with inactivated uredospores of race II at concentrations of 0 and 2 mgml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O, were also assayed to peroxidase, polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia-lyase. No significant differences were observed between treatments, indicating, and as supported by other data, that the involvement of phenolics in induced resistance to leaf rust in coffee, might be more associated with qualitative than quantitative aspects. The results indicated the need for further studies on other phenolic enzymes.

### RESUMO

Foi testada a indução de resistência em discos de folhas dos cultivares Catuaí (S<sub>h</sub>5) e F840 C1122-18 (S<sub>h</sub>5 S<sub>h</sub>2) de *Coffea arabica* pelo pré-tratamento com esporos da raça II (v5) de ferrugem inativados termicamente, nas concentrações 0.1 e 2 mgml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O. Posteriormente, os discos foram inoculados com esporos viáveis da mesma raça de ferrugem nas concentrações 0.25, 0.5 e 1mgml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O e em diferentes dias após o pré-tratamento. Como esperado, a resistência induzida foi observada somente no cultivar suscetível Catuaí e a maior evidência do fenômeno ocorreu na combinação de 2 mg ml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O de esporos inativos com 0.5 mgml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O de esporos viáveis, inoculados um dia após o pré-tratamento. Também foi avaliado o conteúdo total de fenóis, no entanto, não foram observadas diferenças estatísticas significantes entre tratamentos. Análises cromatográficas dos extratos fenólicos revelaram o aparecimento de um novo composto em Catuaí e um outro em C1122-18, sendo identificados como flavonol e isoflavona, respectivamente. Estes compostos não estavam presentes em cromatogramas do tratamento controle. Em Catuaí, o flavonol foi detectado nos dias em que a resistência induzida era mais evidente, sugerindo uma possível relação com este tipo de resistência. Nas dosagens de atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase, nos discos de folhas pré-tratadas com 0 e 2 mgml<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O de esporos inativos, não foram evidenciadas diferenças nos dois cultivares. Os resultados ressaltam o aspecto qualitativo do envolvimento dos compostos fenólicos na resistência induzida, assim como a necessidade de novos estudos com outras enzimas oxidativas de fenóis, intermediárias na via biossintética desses compostos.

<sup>1</sup> Recebido para publicação em 2 setembro 1988 os autores agradecem ao Instituto Agronômico de Campinas através da Seção de Genética, nas pessoas do Dr Alcides Carvalho e Dr Luiz Carlos Fazuoli, que propiciaram todas as condições para a realização deste trabalho, assim como um grande incentivo

\* UNICAMP, I B., Depto Fisiologia Vegetal, CP6109, Campinas, SP, Brasil, CEP13081

### INTRODUÇÃO

**A**lguns trabalhos relatam a importância dos compostos fenólicos como possíveis participantes na resistência de plantas às doenças. De maneira geral, estes estudos revelam o acúmulo desses compostos em tecidos vegetais em resposta à infecção por patógenos (21, 22).