

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES
ALERRANDRO DOS SANTOS CARVALHO**

**USO DO EXTRATO DA PLANTA PRIMAVERA COMO
ELICITOR DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE CEVADA
CONTRA *Bipolaris sorokiniana***

**Mogi das Cruzes, SP
2006**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES
ALERRANDRO DOS SANTOS CARVALHO**

**USO DO EXTRATO DA PLANTA PRIMAVERA COMO
ELICITOR DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE CEVADA
CONTRA *Bipolaris sorokiniana***

**Dissertação apresentada à Universidade de
Mogi das Cruzes como parte dos requisitos
para a obtenção do Título de Mestre em
Biotecnologia.**

Área de Concentração: Biológica

Prof^a Orientadora: Dr^a. Erna Elisabeth Bach

**Mogi das Cruzes, SP
2006**

FICHA CATALOGRÁFICA

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Carvalho, Alerrandro dos Santos

Uso do extrato da planta primavera como elicitador de resistência em plantas de cevada contra *Bipolaris sorokiniana* / Alerrandro dos Santos. -- 2006.

85 f.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Mogi das Cruzes, 2006.

Área de concentração: Ciências biológicas

Orientador: Prof^a. Dr^a. Erna Elisabeth Bach

1. Indução de proteção 2. *Bougainvillea spectabilis* Willd 3. Cevada - Doenças 4. *Bipolaris sorokiniana* I. Título II. Bach, Erna Elisabeth

CDD 632.96

ATAS

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

Às catorze horas do dia dois de junho de dois mil e seis, na Universidade de Mogi das Cruzes, realizou-se a defesa de dissertação "Uso do extrato da planta primavera como elicitador de resistência em plantas de cevada contra *Bipolaris sorokiniana*" para obtenção do grau de Mestre pelo(a) candidato(a) **Alerrandro dos Santos Carvalho**. Tendo sido o número de créditos alcançados pelo(a) mesmo(a) no total de 48 (quarenta e oito), a saber: 24 unidades de crédito em disciplinas de pós-graduação e 24 unidades de crédito no preparo da dissertação, o(a) aluno(a) perfaz assim os requisitos para obtenção do grau de Mestre. A Comissão Examinadora estava constituída dos Senhores Professores Doutores Erna Elisabeth Bach e Nilsa Sumie Yamashita Wadt da Universidade de Mogi das Cruzes e Joana D'Arc Felício do Instituto Biológico, sob a presidência do primeiro, como orientador da dissertação. A Sessão Pública da defesa de dissertação foi aberta pelo Senhor Presidente da Comissão que apresentou a candidata. Em seguida o(a) candidato(a) realizou uma apresentação oral da dissertação. Ao final da apresentação da dissertação, seguiram-se as arguições pelos Membros da Comissão Examinadora. A seguir a Comissão, em Sessão Secreta, conforme julgamento discriminado por cada membro, considerou o(a) candidato(a)

Aprovado por unanimidade
(aprovado(a)/reprovado(a)) (unanimidade/maioria)

Mogi das Cruzes, 02 de junho de 2006

Comissão Examinadora

Julgamento

Erna Elisabeth Bach
Prof.^a Dr.^a Erna Elisabeth Bach

aprovado
(aprovado(a)/reprovado(a))

Nilsa Sumie Y. Wadt
Prof.^a Dr.^a Nilsa Sumie Y. Wadt

aprovado
(aprovado(a)/reprovado(a))

Joana D'Arc Felício
Prof.^a Dr.^a Joana D'Arc Felício

aprovado
(aprovado(a)/reprovado(a))

DEDICATÓRIA

À DEUS que me deu a oportunidade e forças para chegar até aqui.

À minha orientadora pela ajuda e ensinamentos transmitidos.

À minha esposa Juliana pelo incentivo e paciência.

Aos meus familiares que sempre me apoiaram.

AGRADECIMENTOS

À Profª. Dra. Erna Elisabeth Bach, pela orientação, dedicação, paciência e amizade.

À UMC pela oportunidade de realização do curso.

Aos meus amigos que muito colaboraram nos experimentos: Andréia Aparecida de Oliveira Silva, Carlos Hermann, Silvio Dantas e Tais Arruda Felipe.

Ao Noemir Antoniazzi – Fundação Agrária de Guarapuava-PR, pelo fornecimento das sementes de cevada.

RESUMO

Extratos brutos de plantas medicinais da flora nativa podem ser utilizados no controle de fitopatógenos, por sua ação fungitóxica direta ou indireta. A doença em cevada conhecida como mancha-foliar provocada pelo fungo *Bipolaris sorokiniana* causa prejuízos aos produtores de cevada cervejeira. O objetivo do presente trabalho foi verificar a possibilidade de indução de resistência local e sistêmica utilizando o extrato das folhas da planta primavera (*Bougainvillea spectabilis* Willd) em plantas de cevada (*Hordeum vulgare* L) da variedade Embrapa 128 contra *Bipolaris sorokiniana*. Para o extrato, 25g das folhas foram trituradas com 500mL de água destilada, permanecendo uma hora em geladeira e, posteriormente, filtrado em gaze e guardado no freezer. A concentração utilizada nos tratamentos foi de 3,4mg de SAB (Soro Albumina Bovina). As plantas de cevada variedade Embrapa 128 (estágio 5 de desenvolvimento) foram separadas em grupos para tratamentos sendo: tratamento 1-grupo de plantas aspergidas com água; tratamento 2-grupo de plantas aspergidas com extrato de folhas; tratamento 3-grupo de plantas inoculadas com patógeno (suspensão de conídios 10^5 conídios/mL); tratamento 4-grupo de plantas aspergidas com extrato de folhas e, depois de 24 horas inoculadas com o patógeno; tratamento 5-idem ao tratamento 4 sendo após 48 horas; tratamento 6-idem ao tratamento 4 sendo após 72 horas; tratamento 7-pinceladas as primeiras folhas com extrato; tratamento 8-pinceladas as segundas folhas com extrato. Grupos (7 e 8) de plantas tratadas foram separadas sendo que após 24, 48 e 72 horas da aplicação, foram inoculadas com as suspensões de conídios. A proteção das plantas de cevada foi avaliada 4 dias após a inoculação do patógeno. Os resultados obtidos demonstraram que as plantas de cevada apresentaram proteção acima de 90% em função do tempo (24, 48 e 72 horas), quando tratadas previamente com o extrato das folhas de primavera. Na proteção sistêmica, as plantas tratadas apresentaram proteção entre 80-100%, tanto da direção da primeira para a segunda e terceira folha, quanto da fase inversa. Entretanto, a proteção na fase ascendente foi maior do que na descendente. A indução de resistência foi correlacionada com as análises bioquímicas onde ocorreu aumento na quantidade de proteínas, enzima beta-glucanase e clorofila; diminuição na quantidade de fenóis e aumento da atividade de esterase. Os resultados sugerem a possibilidade de usar o extrato das folhas da planta primavera como indutor de resistência local e sistêmica perante plantas de cevada (variedade Embrapa 128) contra *Bipolaris sorokiniana*.

Palavras-chave: Indução de proteção, *Bougainvillea spectabilis* Willd, cevada, *Bipolaris sorokiniana*.

ABSTRACT

Raw extracts of medicinal plants from native flora can be used in the control of pathogen of plants, by direct or indirect fungitoxic action. The disease in barley known as foliar spot blotch caused by the fungi *Bipolaris sorokiniana* present great loss to the culture and for brewers industries. The purpose of the present trial was to verify the possibility of local and systemic resistance induction on barley plants (*Hordeum vulgare* L.) variety Embrapa 128, against *Bipolaris sorokiniana*, when using the extract of primrose leaves (*Bougainvillea spectabilis* Willd). For the extract, 25g of the leaves were triturated with 500mL of distilled water, staying one hour in refrigerator and, later, filtrate in gauze and kept in the freezer. The concentration used in the treatments was of 3,4mg of SAB (Serum Albumin Bovin). The barley plants variety Embrapa 128 were separate in groups for treatments being: treatment 1-group of plants sprayed with water; treatment 2-group of plants sprayed with extract of leaves; treatment 3-group of plants sprayed with pathogen (conidia suspension 10^5 conidia/mL); treatment 4-group of plants sprayed with extract of leaves and, after 24 hours inoculated with the pathogen; treatment 5-same to the treatment 4 being after 48horas; treatment 6-same to the treatment 4 being after 72horas; treatment 7-brushstrokes the first leaves with extract; treatment 8-brushstrokes second leaf with extract. Groups (7 and 8) of treated plants were separate and after 24, 48 and 72 hours of the application, were inoculated with the conidia suspension. Protection of the barley plants was evaluated 4 days after the inoculation of the pathogen. The results demonstrated that barley plants presented protection above 90% in function of the time (24, 48 and 72 hours), when previously treated with extract of the leaves. In systemic protection, treated plants presented among 80-100% of protection, so much of the direction of the first for second and third leaf, as of the inverse phase. However, the ascending phase present greater protection than the descending. The resistance induction was correlated with the biochemical analyses where increase the concentration of proteins, enzyme beta-glucanase and chlorophyll; decrease the concentration of phenols and increase the activity of esterase. The results suggest the possibility to use extract of leaves of primrose as local and systemic resistance as inducer in barley plants (variety Embrapa 128) against *Bipolaris sorokiniana*.

Key-words: Induction of protection, *Bougainvillea spectabilis* Willd, barley, *Bipolaris sorokiniana*.

LISTAS DE TABELAS

TABELA 1:	Porcentagem de proteção em folhas de plantas de cevada variedade Embrapa 128, utilizando extrato das folhas da planta primavera em duas diluições, nos diferentes intervalos de tempo.....	45
TABELA 2:	Quantidade de proteína (mg SAB), de enzima beta-1-3-glucanase (μmol de glicose/min) e de fenol (mg ácido clorogênico), presentes nos extratos foliares de plantas de cevada da variedade Embrapa 128, submetidas aos diferentes tratamentos.....	48
TABELA 3:	Número de folhas com lesões e porcentagem de proteção em folhas de cevada (variedade Embrapa 128), utilizando extrato das folhas de primavera como indutor.....	51
TABELA 4:	Quantidade de proteínas (mg SAB), de enzima beta-1-3-glucanase (μmol de glicose/min) e de fenóis (mg ácido clorogênico), presentes nos extratos foliares de plantas de cevada (variedade Embrapa 128) submetidas a tratamentos sistêmicos com indutor extrato de folhas de primavera contra <i>Bipolaris sorokiniana</i>	54
TABELA 5:	Medida de luminosidade através dos celofanes em plantas mantidas em casa-de-vegetação incidida com luz solar ou luz total (fotoperíodo de 14 horas).....	56
TABELA 6:	Porcentagem de proteção e quantidade de clorofila em folhas de plantas de cevada (variedade Embrapa 128) contra o isolado de <i>Bipolaris sorokiniana</i> , utilizando o extrato das folhas de primavera, em vários comprimentos de onda de luz.....	57
TABELA 7:	Porcentagem de proteção nos diferentes tratamentos para a verificação da atuação do fungicida ópera.....	64
TABELA 8:	Quantidade de proteínas (mg SAB), de enzima beta-1-3-glucanase (μmol de glicose/min) e de fenóis (mg ácido clorogênico), presentes nos extratos foliares de plantas de cevada (variedade Embrapa 128), submetidas aos diferentes tratamentos com o fungicida ópera.....	65

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1:	Morfologia da planta de cevada (FORCELINI, 1991).....	16
FIGURA 2:	Morfologia da semente de cevada (FERRI, 1979).....	17
FIGURA 3:	Escala de Feeks-Large (LARGE, 1954).....	18
FIGURA 4:	Folhas de cevada submetidas aos diferentes tratamentos (local).....	46
FIGURA 5:	Concentração de proteína (mg SAB) e atividade da enzima beta-1-3-glucanase (μmol de glicose/min) presentes nos extratos foliares das plantas de cevada da variedade Embrapa 128, submetidas aos tratamentos em relação ao percentual de proteção.....	49
FIGURA 6:	Folhas de cevada submetidas aos diferentes tratamentos (sistêmico).....	52
FIGURA 7:	Sensibilidade do luxímetro (marca Lutron) nos diferentes comprimentos de onda.....	55
FIGURA 8:	Eletroforese dos extratos das plantas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas da planta primavera nos diferentes intervalos de tempo (referente indução de resistência local).....	59
FIGURA 9:	Mobilidade eletroforética e atividade da enzima esterase presente nos extratos das folhas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas de primavera (referente indução de resistência local).....	60
FIGURA 10:	Eletroforese dos extratos das plantas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas da planta primavera nos diferentes intervalos de tempo (referente indução de resistência sistêmica).....	62
FIGURA 11:	Mobilidade eletroforética e atividade da enzima esterase presente nos extratos das folhas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas de primavera (referente indução de resistência sistêmica).....	63

SUMÁRIO

1	Introdução.....	12
2	Revisão bibliográfica.....	13
	2.1 Cultura de cevada.....	13
	2.2 Crescimento da cevada.....	15
	2.3 Doenças da cevada e patogenicidade.....	19
	2.4 <i>Bipolaris sorokiniana</i>	21
	2.5 Mecanismo de penetração do fungo nas plantas.....	22
	2.6 <i>Bougainvillea spectabilis</i> Willd.....	22
	2.7 Indução de resistência.....	24
	2.8 Métodos de indução de resistência.....	29
	2.9 Mecanismo de interação dos indutores de resistência com as plantas.....	32
	2.10 Elicitores comerciais.....	33
3	Materiais e métodos.....	35
	3.1 Patógeno.....	35
	3.2 Extrato indutor de proteção.....	36
	3.3 Preparação das plantas de cevada.....	36
	3.4 Indução de resistência local.....	37
	3.5 Indução de resistência sistêmica.....	38
	3.6 Análises bioquímicas.....	39
	3.7 Análise da clorofila.....	40
	3.8 Estatística.....	41
	3.9 Eletroforese.....	41
	3.10 Efeito do fungicida Ópera.....	42
4	Resultados e Discussão.....	43
	4.1 Patógeno.....	43
	4.2 Extrato das folhas da planta primavera.....	43
	4.3 Indução de proteção local.....	44
	4.4 Análises bioquímicas do tratamento local.....	47
	4.5 Indução de proteção sistêmica.....	50
	4.6 Análises bioquímicas do tratamento sistêmico.....	52

4.7	Clorofila.....	55
4.7.1	Padronização do luxímetro para determinar a quantidade de luz.....	55
4.7.2	Determinação da proteção e da quantidade de clorofila.....	56
4.8	Eletroforese das plantas de cevada.....	58
4.9	Efeito do fungicida Ópera.....	64
5	Conclusão.....	66
6	Referências.....	67

1 INTRODUÇÃO

A cevada produzida no Brasil tem sido utilizada por indústrias cervejeiras para produção de malte (TONON, 1992), sendo que a área cultivada de cevada no Brasil no ano de 2004 foi de aproximadamente 147.000 hectares que corresponderam a mais de 200.000 toneladas (MINELLA, 2004).

Durante o cultivo da cevada, várias doenças causadas por fungos patogênicos atacam as plantas causando perdas e prejuízos aos produtores, podendo ser : *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera teres*, *Blumeria graminis hordei* e *Puccinia hordei* (REIS et al., 1988). Para impedir que estas perdas ocorram, utilizam-se fungicidas no controle dos fitopatógenos, podendo afetar o meio ambiente e a saúde do homem, surgindo assim, a necessidade da utilização de substâncias naturais que possam controlar os fitopatógenos impedindo o desenvolvimento das doenças na cevada sem oferecer riscos ao meio ambiente e ao homem.

A indução de resistência tem sido utilizada como um controle alternativo capaz de estimular as plantas a se defenderem dos patógenos após serem tratadas com agentes bióticos ou abióticos, denominados elicitores ou indutores de resistência (KUC, 1987; 2000; 2001; MANANDHAR et al., 1999).

Assim, o objetivo principal do presente trabalho foi verificar a possibilidade da utilização do extrato das folhas da planta primavera (*Bougainvillea spectabilis* Willd) no controle da doença mancha-foliar causada por *Bipolaris sorokiniana* em plantas de cevada (variedade Embrapa 128).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cultura da cevada

No Brasil, segundo Moura (1987) o início do cultivo da cevada foi desde a época colonial, mas o processo de seleção iniciou-se em 1920 por intermédio de imigrantes europeus, principalmente Tchecoslovacos, que introduziram as primeiras linhagens e cultivares. A partir de 1976 a área de cultivo se expandiu devido a implantação do Plano Nacional de Auto-Suficiência em Cevada e Malte, o qual incluiu a cevada na política de preços mínimos, crédito e financiamento da produção (MOURA, 1987).

No ano de 2003, a área de cevada cultivada no Brasil foi de 136.000 hectares, passando para 147.000 em 2004 (MINELLA, 2004).

No ano de 2004, iniciou-se no Estado de Goiás o cultivo através de sistema irrigado com as cultivares BRS 180 e BRS 195. "A preferência dos produtores, tanto no sequeiro como no irrigado, foi pela cultivar BRS 195 por características superiores como ampla adaptação, resistência a doenças e alta produtividade. Esta cultivar respondeu por 60% da área cultivada no Brasil". As lavouras de sequeiro foram plantadas no Rio Grande do Sul (88 mil hectares) e no Paraná (57 mil hectares) sendo que as cultivares mais plantadas foram BRS 195, MN 698, Embrapa 127, Embrapa 128 e BRS 225 (MINELLA, 2004).

O grão da cevada além da utilização para o malte pode ser usado também como ração. Suas aplicações são múltiplas, como servir para alimentação de animais em pastoreio ou sob a

forma de feno. Os grãos também podem ser usados como matéria prima para farinhas e flocos na alimentação humana (TONON, 1992).

Para a preparação do malte costuma-se utilizar o grão germinado. Perdido o poder germinativo, desaparece o seu valor como matéria-prima do malte. O malte que dá as melhores cervejas é feito com cevada de baixo teor de proteínas (no máximo 11,5%). Assim, o grão sem germinação ou com alto teor de proteína é encaminhado para a produção de rações, perdendo grande parte do valor comercial. O teor de proteína está relacionado não só com a variedade, mas também com a temperatura, teor da matéria orgânica e de nitrogênio no solo. A mesma variedade de cevada cultivada em regiões de climas diferentes produzirá grãos com maior teor de proteína na área de clima mais quente. Em alguns países, como o México, procura-se obter variedades de cevadas mais ricas em proteínas para alimentação humana (MOURA, 1987).

A cevada foi encontrada no Oriente Médio e cultivada na região denominada “ Fertile Crescent “ abrangendo Israel, Jordânia, Síria, Turquia, Iraque e Irã. A forma cultivada originou-se da espécie selvagem *Hordeum spontaneum* que atualmente pertence a espécie *Hordeum vulgare sp.* As sementes foram levadas à Grécia, Etiópia e China e por apresentarem grande adaptabilidade ecológica, a cevada atingiu boa parte do planeta (MINELLA, 2001).

Entre as várias espécies de cevada que existiam em 1900, algumas conseguiam crescer nos limites do Círculo Polar Ártico, onde nenhum outro cereal conseguia sobreviver; outras conseguiam crescer nos climas áridos do deserto do Saara; nos altiplanos do Tibet, até cerca de 4.600m de altitude, e outras, nas planícies tropicais da Índia (TONON, 1992).

Como a cevada sofre ataque de insetos, geadas e doenças (exemplo : mancha foliar), existe uma preocupação pela evolução dessa cultura, pois o aumento da demanda de mercado e competitividade são cada vez mais intensos.

Lakew (1997), estudou a diversidade de cultivares de cevada na Etiópia, produzindo durante cinco anos um total de 600 linhagens. Dentre estas linhagens, foram desenvolvidas algumas resistentes a doenças e ataques de insetos.

Segundo Costa & Bolero (2001), os testes genotípicos de cultivares devem ser feitos ao longo dos anos, a fim de caracterizar de maneira completa o desempenho destes.

O melhoramento da cevada tem como objetivo atender as demandas da indústria cervejeira, onde resistência a doenças e adversidades ambientais são muito enfatizadas nos programas da Embrapa. A variedade BR-2, foi lançada em 1989, sendo o primeiro cultivar com resistência à mancha-em-rede, a mais comum e destrutiva doença no país (MINELLA et al., 1996).

O melhoramento da qualidade do malte, foi relatado por Arias (1995) a partir dos cultivares MN-656 e BR-2, principalmente quanto ao rendimento de extrato e ao poder enzimático.

Além dos cultivares mencionados anteriormente, existem outras importantes variedades de cevada utilizadas no campo da maltaria (Embrapa 128, BRS-195 e Borema).

2.2 Crescimento da cevada

A semente de cevada, emite uma raiz seminal, em seqüência, raízes laterais secundárias. O coleóptilo desenvolve-se rompendo o solo acima da semente, e do seu interior, emerge a primeira folha. Duas a três semanas após a emergência, aparecem no primeiro nó acima da superfície do solo, ramificações denominadas perfilhos. Durante o perfilhamento, as únicas partes visíveis da planta são as folhas e bainhas. As bainhas se assemelham a colmos, sendo denominadas pseudocolmos, já que os colmos verdadeiros ainda estão incipientes no interior das bainhas. Após o perfilhamento, a planta inicia um desenvolvimento muito ativo, com a alongação dos entrenós e

das bainhas que os cobrem. O início do crescimento do colmo é marcado pelo aparecimento do primeiro nó na base da planta.

A partir do desenvolvimento do primórdio floral, que no início da fase de crescimento do colmo está localizado na porção inferior da planta, vão ocorrendo a formação da espiga e o deslocamento desta pelo interior do colmo. Nesta época, surge externamente à última folha bandeira, a espiga se desenvolve mais, distendendo-a, caracterizando o estágio denominado emborrachamento. A emergência da espiga, pela abertura da bainha, caracteriza o espigamento, surgindo primeiro a espiga do perfilho principal, seguida pelas espigas dos demais perfilhos, na ordem em que estes apareceram (Figura 1) (SILVA et al., 1996).

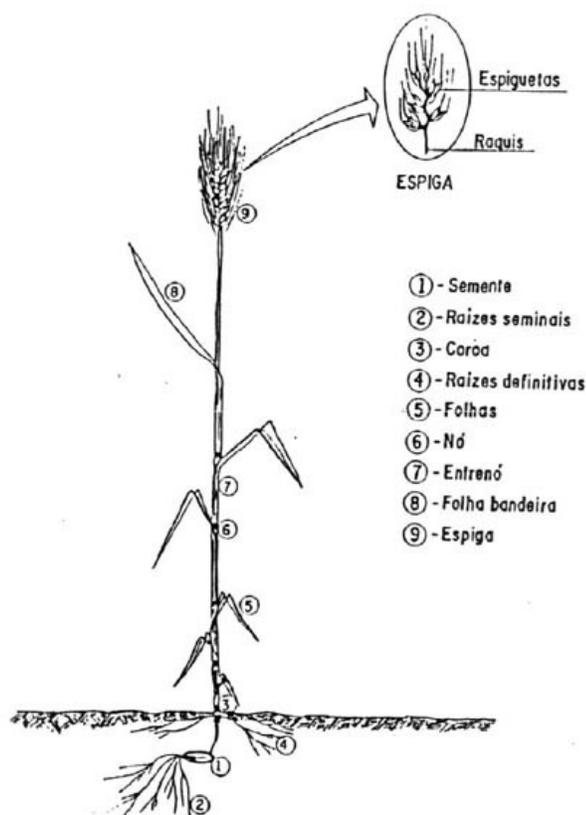


Figura 1: Morfologia da planta de cevada (FORCELINI, 1991).

A semente de cevada possui três partes (Figura 2):

- * Germe, após o plantio, é a parte que irá germinar, rica em proteínas, gorduras e minerais.
- * Casca, dá proteção ao germe e ao endosperma, rica em minerais e vitaminas.
- * Endosperma, parte mais importante da semente, rica em amido, contém 75% das proteínas existentes na semente.

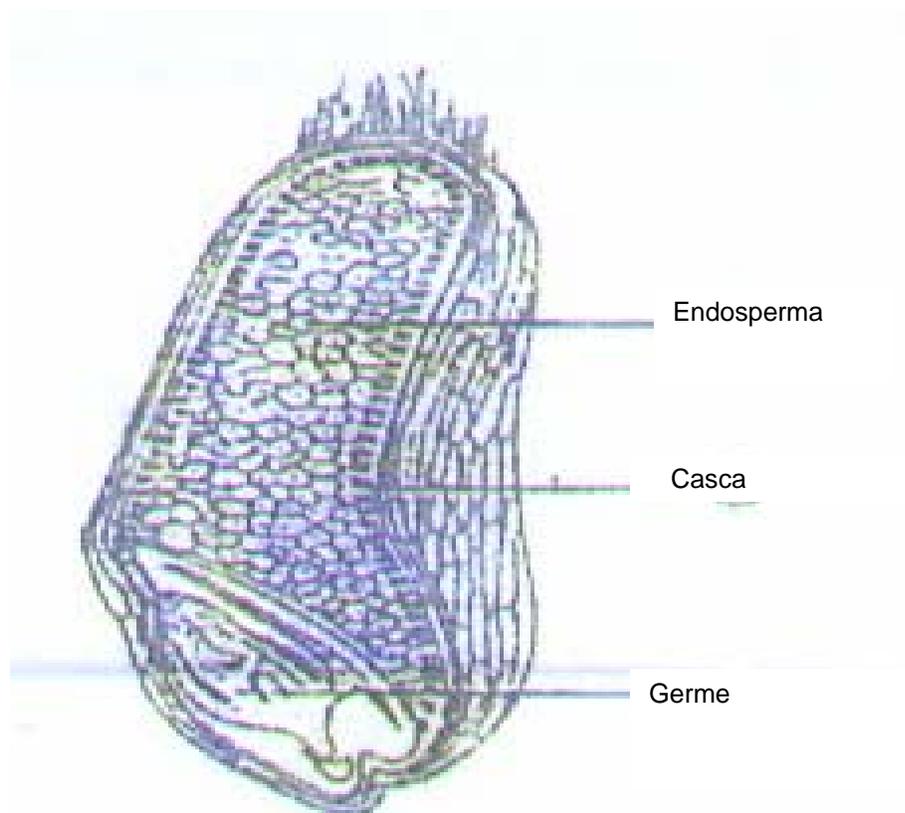
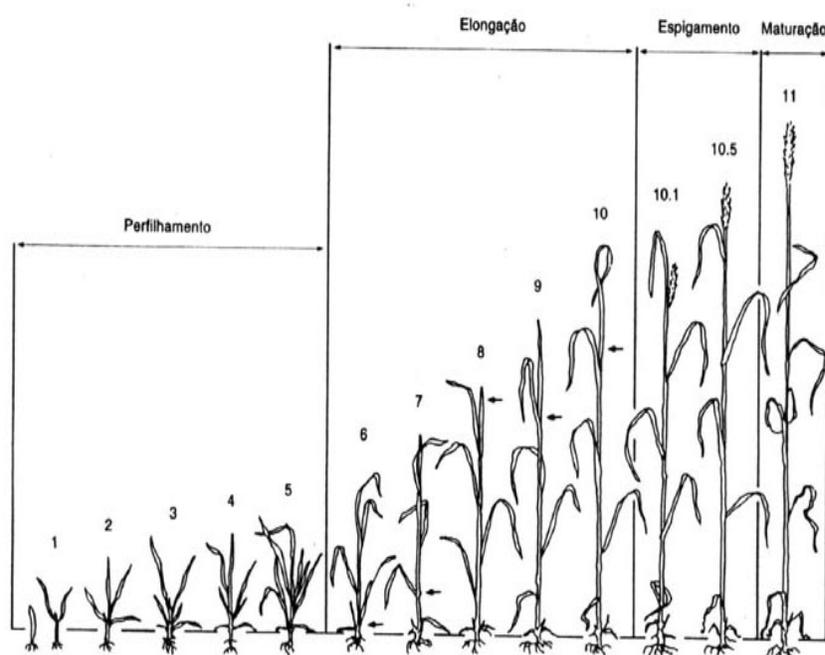


Figura 2: Morfologia da semente de cevada (FERRI, 1979).

Várias fases podem ser identificadas no desenvolvimento da cevada. O conhecimento dessas fases é muito importante para a aplicação, na época adequada, de fertilizantes em cobertura, defensivos, água e indutores de resistência. O desenvolvimento da cevada e do trigo, para fins de estudo, é subdividido em estágios caracterizados pela escala de Feekes, modificada por Large (1954) (Figura 3).



Legenda da Escala Feekes-Large (LARGE, 1954)

Estágios	Descrição de cada estágio
1° ao 5°	Perfilhamento – germinação, nascimento das folhas.
6° ao 10°	Elongação – crescimento da planta e de suas folhas.
10.1° e 10.5°	Espigamento – surgimento das espigas.
11°	Maturação – a planta atinge o estágio máximo de crescimento.

Figura 3: Escala de Feekes-Large (LARGE, 1954).

2.3 Doenças da cevada e patogenicidade

Entre as variáveis geradoras de insucesso na produção de cevada, plenamente controláveis pelo uso da tecnologia, tem merecido destaque os fungos patogênicos, bastante disseminados na natureza, causando danos severos aos cereais. Dependendo do agente causal, cultivar e condições climáticas, as doenças fúngicas podem provocar até 100% de perda, especialmente em trigo e cevada (REIS et al., 1988). Tal situação exige o emprego de medidas apropriadas e econômicas de controle. Um expressivo e variado número de doenças atacam os cereais, porém algumas merecem maior destaque, devido aos sérios prejuízos causados nos últimos anos (MOURA, 1987).

A Helmintosporiose em trigo e cevada causa sérios prejuízos na produção e qualidade dos grãos, isto para o caso de *Helminthosporium sativum* ou *Bipolaris sorokiniana*, podendo ser veiculadas pelas sementes e associadas à podridão comum das raízes ou manchas foliares (REIS et al., 1988). Na cevada, *Drechslera teres* também tem sido a causa de uma doença foliar destrutiva em algumas regiões (MOURA, 1987). Estes patógenos podem sobreviver de uma safra à outra, nas sementes e nos restos de cultura de trigo e cevada, entre outras (NILSEN et al., 1979).

As folhas apresentam manchas que variam conforme a espécie infectante. A mancha marrom, negra ou cinzenta é causada por *Bipolaris sorokiniana*. Enquanto que a mancha amarela é causada pela *Drechslera teres* (PICININI, 1990; MOURA, 1987).

Esses patógenos apresentam duas formas distintas de ataque: a primeira, ao afetar a absorção de nutrientes e água, que constitui a fase da doença em órgãos subterrâneos como raízes, causando podridão; a segunda ao interferir no processo fotossintético, quando a infecção

ocorre nos órgãos verdes como folhas, bainhas, colmos, glumas e sementes em formação, onde os grãos ficam enrugados e chochos, apresentando mancha marrom escura, denominada de “ponta-preta” (PICININI, 1990; SANTOS et al., 1990). Em relação as sementes infectadas por *Bipolaris sorokiniana*, estas apresentam elevada taxa de transmissão que varia de 60 a 90%, sendo desta forma, responsável pelo estabelecimento de inúmeros focos da doença no campo (FORCELINI, 1991).

Freqüentemente, sementes de cevada (*Hordeum vulgare* L.) encontram-se infectadas por fungos patogênicos que limitam a produtividade dessa cultura no Sul do Brasil, especialmente nos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (REIS, 1987).

As condições climáticas no Brasil são favoráveis ao desenvolvimento de doenças causadas por fungos na cultura de cevada, (BRIGGS, 1978; LUZ, 1982; MATHRE, 1985), levando à queda da produtividade e interferência na qualidade do malte produzido (VIEIRA, 1985).

Através da análise de 320 variedades de cevada na Europa, quanto à infecção por *Drechslera teres*, foi observado que a reação à doença era similar em variedades provenientes de diferentes países, porém variava entre as diferentes fases de germinação das sementes (JORGENSEN et al., 2000)

Em 2003a, Bach et al., demonstraram que isolados de *Bipolaris sorokiniana* causadores da doença mancha foliar em trigo, também foram capazes de causar doença mancha foliar em diferentes cultivares de cevada. No mesmo ano de 2003, Carmo et al., trabalharam com diferentes cultivares de cevada e relataram que estas reagiram diferentemente em relação a patogenicidade perante diferentes isolados de *Bipolaris sorokiniana*.

2.4 *Bipolaris sorokiniana*

Patógeno de gramíneas inicialmente descrito como *Helminthosporium*, foi posteriormente classificado como *Bipolaris sorokiniana*. De acordo com a germinação dos conídios, os fungos graminícolas podem ser de três tipos: *Helminthosporium*, *Drechslera* e *Bipolaris* (SHOEMAKER, 1959).

O fungo do gênero *Bipolaris*, caracteriza-se por conídios curtos, fusiformes, elipsoidais, escuros, arredondados no ápice, com cerca 75 µm de comprimento, septos sem listras pretas e condióforos usualmente sem ramificações (MUCHOVEJ et al., 1988). A caracterização do gênero é feita a partir de critérios como: tipo de conídio, germinação, tubo germinativo (ALCORN, 1988).

O fungo *Bipolaris sorokiniana* causa a helmintosporiose da cevada, sobrevive como micélio em sementes infectadas e saprofiticamente nos restos culturais de seus hospedeiros, este fungo está presente nas sementes das plantas de cevada, em função da época de colheita (LIMA et al., 2001).

Para avaliar a dormência de *Bipolaris sorokiniana* no solo, vários autores desenvolveram meios seletivos ou semi-seletivos (KULKARNI et al., 1978; DODMAN & REINKE, 1982; REIS, 1983; FILIPPOVA & KASHEMIROVA, 1990). O desenvolvimento desses meios para a detecção de conídios dormentes de *Bipolaris sorokiniana* no solo tem aberto a possibilidade de seu uso na detecção desse fungo em análises rotineiras de patologia de sementes (REIS et al., 1999).

Turquetti et al., (2001) descreveram que praticamente todas as cultivares brasileiras de cevada são sensíveis ao patógeno *Bipolaris sorokiniana*.

2.5 Mecanismo de penetração do fungo nas plantas

Na interação envolvendo fungo e planta, o fungo irá aderir a folha da cevada, ocorrendo o reconhecimento, tendo depois a penetração e a infecção que proporciona perdas na produção.

O fungo *Bipolaris sorokiniana* produz metabólitos quando interage com trigo ou cevada, onde induz a necrose das folhas. Nestes metabólitos foram identificadas proteínas de baixa massa molecular responsáveis pela produção da lesão (BACH & KIMATI, 1999).

O fungo *Bipolaris sorokiniana* é um organismo necrotrófico, isto é, capaz de matar as células da folha para garantir a sua sobrevivência, produz toxinas na penetração podendo induzir muitos dos sintomas comumente observados nas doenças como clorose, necrose além da produção de fenóis nas folhas infectadas (HAMMOND-KOSACK & JONES, 1996).

2.6 *Bougainvillea spectabilis* Willd

Também conhecida como primavera, três-marias, ceboleiro, santa-rita, espinho-de-santa-rita é um arbusto com caules longos e espinhentos, nativo do leste e nordeste do território brasileiro (LORENZI & SOUZA, 1999).

Conforme Lorenzi (1998), esta planta possui flores envolvidas por três-brácteas vistosas, de cores vermelhas, formadas no outono-primavera, existem hoje uma vasta gama de cultivares com formas bem diferentes da espécie típica. Por ser uma espécie muito híbrida, já se obteve brácteas com dezenas de formas e cores, inclusive bicolors. Foi observado que os coloridos mais vibrantes e intensos desta planta são encontrados em locais de clima quente.

Cultivada a pleno sol como trepadeira para revestir caramanchões e cercas, sempre em solo bem drenável, não tolera geadas fortes.

No caso da primavera, quem primeiro a coletou foi Louis Antoine de Bougainville, almirante francês que navegou pelo mundo entre 1767 e 1769. Este francês, teria se encantado por esta planta que ocorria nas serras do Rio de Janeiro. Coletando assim, alguns exemplares que foram levados a Europa e ofertados ao Rei Luís XIV, a partir daí seu cultivo se espalhou por todo o mundo. Uma amostra destas plantas encontra-se depositada no museu de Paris, sendo a primeira referência formal desta planta de origem brasileira. Bougainville foi homenageado pela descoberta, pois o Rei deu o nome à planta de Bougainvillea ou planta de Bougainville.

De todas as trepadeiras, esta é sem dúvida, uma das mais cultivadas nos jardins tropicais em todo o mundo e também em vasos nos países frios. Em pequenos jardins, muros e arcos recomenda-se plantar apenas uma variedade de cor, o que possibilita maior desenvolvimento. Com podas adequadas pode ser cultivada como uma árvoreta. Através de podas bem conduzidas, é possível “moldar” a Bougainvillea, obtendo praticamente a forma que se quiser da planta, sendo que após a poda é necessária aplicação de adubo para aumentar a floração (JOLY, 1993).

Esta planta floresce abundantemente na primavera e também no começo do outono, por isso é tão conhecida como primavera, outro nome, três-marias também é dado pelo fato desta planta possuir três brácteas que envolvem pequenas flores verdadeiras (JOLY, 1993).

Esta planta prefere solos ricos em matéria orgânica, reproduzem-se normalmente por estacas e raramente por sementes. As podas devem ser efetuadas somente entre julho e agosto. Como as podas podem reduzir as floradas subsequentes, convém remover apenas galhos velhos ou mal formados, procurando equilibrar a planta (JOLY, 1993).

Para o cultivo da primavera em vasos, devem ser observados alguns cuidados essenciais :

- * Preparar o solo para plantio com uma parte de terra comum de jardim, uma parte de terra vegetal e duas partes de areia para facilitar a oxigenação, impedindo que o substrato fique muito compactado.
- * Colocar o vaso em local ensolarado, para florescer; a primavera precisa de pelo menos quatro horas diárias de sol.
- * Regar pela manhã ou à tarde, quando os raios solares não estão intensos.
- * Fazer adubações periódicas, usando adubos orgânicos ricos em fósforo.

2.7 Indução de resistência

Desde o século XIX é dada grande atenção aos métodos alternativos de controle de doenças, sendo que um destes métodos é a indução de proteção também conhecida como: indução de resistência, imunidade adquirida, resistência induzida, ou ainda imunização. A resistência induzida é a resistência que depende de fatores presentes no hospedeiro que se manifestam após o mesmo ter sido tratado com agentes bióticos ou abióticos (químicos ou físicos) (KUC, 1982; SEQUEIRA, 1983; STERMER & HAMMERSCHMIDT, 1987).

Há mais de 100 anos já se conhece o fenômeno de imunização de plantas contra seus patógenos. Entretanto, os primeiros trabalhos em que foi verificada a possibilidade de se alterar a sensibilidade de plantas, tornando-as menos suscetível, datam do início do século passado. Entre esses, podemos salientar o pioneirismo de Ray (1901), no qual o autor relata a “vacinação de plantas” com formas atenuadas de ferrugens e também Bernard (1909) que trabalhou com bulbos tornando-os resistentes à *Rhizoctonia repens* quando suas raízes foram previamente inoculadas com um isolado fraco do mesmo fungo.

Smith (1911) verificou que margaridas Paris, quando inoculadas com *Agrobacterium tumefaciens*, apresentavam tumores em seus tecidos e tornavam-se resistentes a uma posterior reinoculação com o patógeno. Estes dados não foram confirmados na época, porém, Brown (1923), utilizando uma suspensão das mesmas bactérias mortas, conseguiu proteger as plantas contra infecções posteriores.

Segundo Moraes (1991), algumas substâncias químicas ocorrem livres nos espaços intercelulares de certos tecidos vegetais, substâncias estas, produzidas pelas próprias células e associadas às paredes celulares. Essas substâncias são polissacarídeos, glicoproteínas e proteínas que podem ser liberadas para o espaço intercelular na íntegra ou na forma de resíduos terminais. No instante em que o patógeno penetra no hospedeiro, deve ocorrer o reconhecimento dos determinantes específicos presentes nas paredes celulares do patógeno, através das macromoléculas de alta especificidade existentes nas células do hospedeiro.

Quando provocadas por agentes bióticos ou abióticos, as plantas respondem alterando seu metabolismo, aumentando ou diminuindo a concentração de alguns metabólitos ou macromoléculas bioquímicas, ou ainda, produzindo outros, que estejam relacionados com a reação de resistência (FRY, 1986; KUC, 1993, 2001; BENHAMOU, 1996; KOMBRINK & SCHMELZER, 2001).

A diminuição das proteínas encontradas nas plantas infectadas, comparadas ao aumento das proteínas nas plantas cuja resistência induzida ocorreu, foram descritos por Guzzo, 1993; Benhamou, 1996; Bach, 1997; Kombrink & Schmelzerk, 2001; indicando que as proteínas estão relacionadas à patogênese, e que no hospedeiro, os elicitores provocam uma intensa produção de proteínas que protege as plantas contra os patógenos.

A concentração de fenóis diminui nas plantas onde a indução de resistência foi verificada em comparação as plantas saudas. Entretanto, nas plantas infectadas (pulverizadas apenas com o

patógeno), a concentração de fenóis aumenta consideravelmente. Oku (1964) obteve aumento de substâncias fenólicas em plantas de arroz infectadas, em relação as plantas saudas. Bach (1997) também constatou aumento na concentração de fenóis em plantas de trigo infectadas com *Bipolaris sorokiniana*, *Drechslera tritici-repentis* ou *Bipolaris bicolor*. Rodrigues et al. (2002) verificaram aumento na concentração de fenóis, em plantas de cevada infectadas com *Bipolaris sorokiniana*.

Vários autores relacionam as seguintes alterações bioquímicas com a indução de resistência: aumento na quantidade de proteínas e diminuição na quantidade de fenóis (KARL & KRUPINSKI, 1983; REUVENI & BOTHMA, 1985; SRIVASTAVA, 1987; BACH, 1989; RODRIGUES et al., 2002; BACH et al., 2003).

Em plantas de trigo, foi observado que após tratamento com o indutor goma xantana, a concentração de proteínas aumentou em relação as plantas saudas, enquanto que nas plantas infectadas, houve decréscimo (BACH et al., 2003b).

Para a cevada, utilizando como indutor a alicina, observou-se que as plantas submetidas ao tratamento, apresentaram aumento na quantidade de proteínas em relação as plantas infectadas que apresentaram decréscimo na quantidade de proteínas, que devem estar sendo utilizadas pelo fungo (RODRIGUES et al., 2002).

Existem várias substâncias sendo utilizadas atualmente como indutores ou elicitores. Uma destas foi a utilização do ácido DL-beta-amino-n-butírico (BABA) em plantas de couve contra *Plasmopara helianthi*, onde o tratamento induziu resistência (TOSI et al., 1998). Outros exemplos podem ser : ácido aracdônico, ácido jasmônico e ácido salicílico (BOLCH et al., 1984; CREELMAN et al., 1992; RASKIN, 1992).

A resistência induzida nas plantas não se mostra específica, sendo efetiva contra vários tipos de patógenos e em diferentes interações como: trigo - *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera*

teres (BACH, 1997); cevada - *Bipolaris sorokiniana* (CASTRO et al., 2001; 2002; RODRIGUES et al., 2002; SILVA, 2005; FELIPE, 2005); café - *Hemileia vastatrix* (GUZZO et al., 1993); arroz - *Pyricularia oryzae* e *Bipolaris sorokiniana* (MANANDHAR et al., 1999) e pimentão - *Phytophthora capsici* (HWANG et al., 1997).

Em 1933, CHESTER levantou a hipótese de que as plantas teriam um sistema imunológico similar ao dos mamíferos, isto é, existia a produção de um sinal liberado na folha infectada que seria transferido para outras partes da planta onde era induzida a reação de defesa.

BARTNICKI-GARCIA, (1968) menciona a presença das proteínas relacionadas à patogênese (PR), como freqüentemente encontradas na resposta à patógenos. As PR-proteínas mais extensamente estudadas são as quitinases e as beta-1,3-glucanases, capazes de hidrolisar, respectivamente, quitina e beta-1,3-glucanas, encontradas na parede celular dos fungos (FRITIG et al., 1998; KLEMENT et al., 1963 e VAN LOON et al., 1994). A indução de PR-proteínas após infecção viral, bacteriana ou fúngica, bem como após fatores de estresse abiótico, tem sido documentada e estudada, tanto em plantas dicotiledôneas, como em monocotiledôneas (BOLLER, 1985).

Tanto a resistência local quanto a resistência sistêmica, podem induzir ou estimular as vias metabólicas bioquímicas do hospedeiro (CASTRO & BACH, 2004). Van Loon et al. (1998) constataram que poucas horas após a aplicação do indutor em uma planta, foram encontradas PR-proteínas em todas as suas folhas, tanto no ponto onde foi aplicado o indutor (proteção local) quanto em outros pontos que não receberam aplicação direta do indutor (proteção sistêmica). Muitas PR-proteínas apresentam atividade antimicrobiana comprovada ou podem ativar outras respostas de defesa em plantas (KOMBRINK & HAHLBROCK, 1986 e ROULIN & BUCHALA, 1995).

As PR-proteínas tem sido particularmente associadas a resistência sistêmica (PIETERSE et al., 2001a e RYALS et al., 1996), como por exemplo, em fumo (PAN et al., 1991), tomate (BENHAMOU et al., 1994), batata (SCHRÖDER et al., 1992), feijão (DANN et al., 1996), pepino (STROBEL et al., 1996), melão (ROBY et al., 1988 e BUZI et al., 2004), pimenta (HWANG et al., 1997), cafeeiro (GUZZO & MARTINS, 1996) e videira (BUSAM et al., 1997).

Sinais moleculares secundários podem se movimentar sistemicamente e induzir respostas de defesa em locais distantes do sítio da infecção, aumentando a resistência a posteriores infecções (DIXON & LAMB, 1990; METRAUX, 2001; RYALS et al., 1996).

Em relação as alterações bioquímicas, quando ocorre a indução de resistência, verifica-se aumento na quantidade de proteínas, de açúcares e das atividades enzimáticas, também é constatada a diminuição na quantidade de fenóis (KARN & KRUPINSKI, 1983; REUVENI & BOTHMA, 1985; SRIVASTAVA, 1987; BACH, 1989; RODRIGUES et al., 2002; BACH et al., 2003).

Em reação de resistência, trabalhando com capim-elefante infectado com *Exserohilum turcicum*, Bach et al., (1993) observaram aumento na concentração de proteínas e redução na concentração de fenóis.

Bach (1997) demonstrou alterações bioquímicas presentes em plantas de trigo tratadas com indutores quando comparadas com as plantas controle, onde as plantas tratadas com indutores apresentaram significativo aumento na quantidade de proteínas e enzimas beta-1,3-glucanase, já a concentração de fenóis aumentou nas plantas infectadas e diminuiu nas plantas submetidas a tratamento. Azek et al., (2000), também observaram o aumento da quantidade de fenóis em cultura de células de cevada como reação ao fungo *Bipolaris sorokiniana*.

Elicitor é a molécula capaz de induzir uma resposta de defesa (GRAHAM, 1995), podendo ser elicitor biótico ou abiótico. O termo elicitor foi empregado pela primeira vez, por Keen

(1975), para designar substâncias capazes de induzir o acúmulo de fitoalexinas em tecidos vegetais.

Os elicitores bióticos podem ter origem na própria planta hospedeira (elicitores endógenos) ou nos patógenos (elicitores exógenos) (BENHAMOU, 1996; LEITE et al., 1997). Quimicamente, os elicitores fúngicos são: oligopeptídeos, carboidratos, carboidratos complexos ou ergosterol (OKU, 1994). Já, Boller (1995), isolaram glicopeptídeos de fungos, capazes de induzir respostas de defesa em diferentes plantas.

Alguns compostos estão sendo utilizados como elicitores abióticos, tais como: benzotiadiazol (BTH), fosfato dipotássio, cloreto férrico, DL-beta-amino-n-butírico (BABA), acilbenzolar-S-metil sendo que todos apresentaram reação nas plantas (GOTTSTEIN & KUC, 1989; MUCHARROMAH & KUC, 1991; REUVENI et al., 1996; GORLACH et al., 1996; HWANG et al., 1997; REUVENI & REUVENI, 1998, MANANDHAR et al., 1998; ISHII et al., 1999; DONG, 2001).

2.8 Métodos de indução de resistência

A resistência pode ser induzida mediante diferentes métodos, como tem sido demonstrado por inúmeros autores :

* pré-inoculação das plantas com raças avirulentas do patógeno (DEVERALL et al., 1968; ELLISTON et al., 1971, 1976 a, b, c, 1977; KUC et al., 1975).

* inoculação com não – patógenos (DOLAN et al., 1986).

* inoculação com patógeno, termoinativado ou sonicado com ultra-som (HEALE & SHARMAM, 1977).

* pré-tratamento das plantas com metabólicos, filtrados de fungos, bactérias fitopatogênicas ou outras substâncias (EBRAHIM - NESBAT & SCHONEBECK, 1985; GUZZO et al., 1993; KESSMANN et al., 1994; GUEDES & BACH, 1988).

* agentes abióticos como luz ultravioleta, ferimentos, enxertos, entre outros (KUC, 1982).

Todos os autores observaram que a ativação dos mecanismos de resistência de uma planta dependiam de um estímulo externo, que pudesse desreprimir os mecanismos bloqueados para que as células do hospedeiro respondessem como se fossem resistentes. Também verificaram que a proteção induzida podia se manifestar tanto local como sistêmica. Do ponto de vista prático, a resistência induzida sistêmica é mais importante porque a planta toda reage como resistente e não somente o tecido submetido ao tratamento.

A resistência induzida seja local ou sistêmica, segundo Kuc (1987) e Sequeira (1979, 1983) mostra-se:

* dependente do tempo, isto é, a resistência é estabelecida somente após um intervalo mínimo de tempo entre aplicação do indutor e a inoculação com o patógeno, período em que a planta se prepara para combater o patógeno invasor.

A rapidez e a intensidade da resposta de proteção é um fenômeno quantitativo diretamente relacionado ao número de células do hospedeiro que entra em contato com o inóculo inicial. Pascholati et al. (1986) observaram o fenômeno de resistência em plantas de melão quando eram tratadas com o indutor 24 horas antes da inoculação com o patógeno *Mycosphaerella melonis*. Kutsner et al. (1993) observaram que utilizando o vírus da necrose do fumo (TNV) como indutor, eram necessários 4 dias para que folhas de feijão apresentassem proteção contra *Uromyces phaseoli*.

* dependente da temperatura, sendo a resistência sistêmica mais sensível a esse fator.

* dependente da concentração indutor vs. provocador. Pascholati et al. (1986) constataram que, quanto maior a concentração de *M. melonis* (provocador), menor era a proteção em plantas de melão pré-inoculadas com *Helminthosporium carbonum*. Guzzo et al. (1993) verificaram que o aumento na concentração da goma xantana (indutor) elevava até certo nível, a porcentagem de proteção em plantas de café contra *Hemileia vastatrix*. Segolin et al. (1997) trabalhando com goma xantana e algumas variedades de capim elefante, observaram reação de resistência em relação ao patógeno *Exserohilum turcicum*. Bach (1997) observou a indução de resistência em plantas de trigo quando inoculadas com goma xantana. A resistência foi observada para *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*.

* transmitida por enxertia ou por cultura de tecido. Hedrick et al. (1988) e Lawton et al. (1983) induziram proteção em cultura de células de feijão contra *Colletotrichum lindemuthianum* pelo seu tratamento prévio com o elicitador extraído da parede celular do mesmo fungo.

* natural, segura ao homem e ao ambiente, pois utiliza mecanismos de resistência inerentes as plantas.

Embora a resistência induzida seja um fenômeno não permanente e não hereditário, é de extrema importância para proteger as plantas nos períodos críticos favoráveis a ocorrência de doenças. É necessário ainda considerar que o efeito sistêmico da indução de resistência não é específico podendo ser efetivo tanto contra fungos, bactérias ou vírus.

2.9 Mecanismo de interação dos indutores de resistência com as plantas

O mecanismo ocorre na ligação entre um indutor de resistência e um receptor presente na célula vegetal. Normalmente, o receptor é de natureza protéica e pode estar localizado tanto na membrana plasmática como no interior da célula vegetal. Não existem muitos dados a respeito do modo de como é realizada a ligação entre o elicitor e o receptor do vegetal, no entanto, acredita-se que a ligação elicitor-receptor pode ser multivalente, onde um elicitor pode se ligar a mais de um receptor ou a mais de um sítio em um mesmo receptor (BERTOZZI & KIESSLING, 2001).

Fungos inoculados em plantas tratadas com ativadores de resistência apresentaram germinação normal dos esporos com a emissão do tubo germinativo, formação de apressório e da hifa de penetração. No entanto, a penetração não ocorre normalmente. Muitas hifas de penetração são aprisionadas por papilas ou tem seu desenvolvimento retardado por aposições na parede vegetal, em ambos os casos impregnados por compostos fenólicos (MORAES, 1998). Assim, foram observadas restrições no crescimento de patógenos e conseqüentemente, uma diminuição da extensão e severidade dos sintomas de doenças nas plantas previamente tratadas, quando comparadas com plantas não induzidas e infectadas pelos mesmos fitopatógenos (HEIL & BOSTOCK, 2002; RYALS et al., 1996 e STICHER et al., 1997), caracterizando a indução de proteção.

Após o reconhecimento do indutor, a planta passa a manifestar as respostas de defesa. No entanto, para que ocorram estas respostas, é necessário haver a geração de sinais primários, que provavelmente agem em cascata somados a sinais secundários que produzem resistência local ou sistêmica. A natureza do sinalizador primário não é conhecida. É pouco provável que este sinalizador seja uma molécula orgânica, pois para sua síntese ou liberação, seria necessário um

outro sinal. É possível que o sinalizador primário seja um sinal elétrico que poderia, por exemplo, agir liberando uma molécula sinalizadora compartimentalizada (KUC, 1995).

2.10 Elicitores comerciais

Entre os indutores de resistência existentes no mercado mundial: encontram-se o Oryzemat[®], o Bion[®], o Messenger[®], o Oxycom[™] e o Opera[®].

O Oryzemat[®] protege o arroz contra a brusone. Além do arroz, esse produto é usado em algumas culturas hortícolas, mostrando-se efetivo, não só para o controle de fungos e bactérias, mas também para o controle de viroses (KOGANEZAWA et al., 1998).

O Bion[®] age em cascata de sinais, um dos eventos que leva a resistência induzida (HAMMERSCHIMIDT, 1999a; METRAUX, 2001; MOLINA et al., 1998; OOSTENDORP et al., 2001). Trigo tratado com Bion depois pulverizado com *Microdochium nivale* apresentou resistência a este patógeno (HOFGAARD et al., 2004).

O Messenger[®] é uma proteína, produzida por gene hrp, da bactéria fitopatogênica *Erwinia amylovora*. É um produto classificado por EDEN Bioscience como regulador de planta tendo sido o primeiro produto de tecnologia para plantas (EPA, 2000).

O Oxycom[™] é formado pela combinação dos compostos: ácido peracético, ácido acético e H₂O₂. Este produto é capaz de aumentar a atividade de enzimas importantes ligadas à resistência induzida, como a fenilalanina amônia-liase (PAL), chalcona sintase e peroxidases (PO) sendo capaz de proteger plantas contra nematóides e fungos, como exemplo temos um melhor desempenho do feijão em resposta a *Pythium* e *Blumeria*, em condições de campo (KIM et al., 2001).

O fungicida Opera® é um novo fungicida pertencente a família F500 promovido pela Basf. F500 reúne uma grande família de fungicidas recomendados para as mais diversas e importantes culturas com o moderno ingrediente ativo Piraclostrobin ($C_{19}H_{18}ClN_3O_4$) (ácido carbâmico, [2-[[[1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-3-il]oxi]metil]fenil]metoxi-, metil éster). Este fungicida pertence a classe dos fungicidas estrubilurinas (ÓPERA, 2005; F500, 2005).

“Strobilurins” ou estrubilurinas são produtos produzidos por fungos, estes produtos foram descobertos por um grupo de cientistas alemães no ano de 1970, sendo que as estrubilurinas foram inicialmente encontradas em cogumelos (*Strobilurus tenacellus*) existentes em pinus. Este fungo produzia a estrubilurina que protegia o pinus de diferentes doenças. Entretanto a molécula era instável na presença de luz. Assim, isto foi melhorado na indústria em meio sintético passando assim a ser fungicida da Classe II (ÓPERA, 2005).

Inicialmente o Opera® foi usado para o controle das principais doenças da cultura da soja, tem ação sistêmica, pois foi associado a Epoxiconazol que apresenta efeito sistêmico, permitindo que a soja tenha maior produtividade e rentabilidade (ÓPERA, 2005).

O Opera® é uma alternativa disponível no mercado internacional e nacional para o controle de doenças foliares da soja. Atualmente, o mesmo está sendo utilizado em testes de cultivo de cevada (ÓPERA, 2005).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado nas dependências da Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO).

3.1 Patógeno

O patógeno *Bipolaris sorokiniana* foi isolado diretamente de folhas de cevada oriundas do campo da Fundação Agrária, Guarapuava, Paraná. Para isto, as folhas foram colocadas em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada esterilizada, onde foram mantidas por 24 horas sob luz.

Os conídios desenvolvidos, observados através do microscópio estereoscópico, foram transferidos para ágar-água 2% em placas de Petri. Após 10 dias do desenvolvimento da cultura, o fungo foi repicado para placa de Petri contendo meio de cultura BAD (batata-ágar-dextrose), onde ficou mais 10 dias e foi repicado para tubos de ensaio também contendo meio de cultura BAD. Para a medida da esporulação, os conídios foram removidos do substrato com auxílio de 5 mL de água destilada esterilizada contendo 0,05% de Tween 20 (poli-oxietileno sorbitan monolaurato, Sigma Chemical Co.), filtrados em gaze para a eliminação dos restos de meio de cultura e micélio, na seqüência, os conídios foram contados em hematocitômetro (Improved Newbauer 1/400 SQ. 1/10 mm deep ultraplane) até a concentração de 2×10^5 conídios mL⁻¹.

3.2 Extrato indutor de proteção

O extrato das folhas da planta primavera (*Bougainvillea spectabilis* Willd), foi preparado triturando-se 25g das folhas no liquidificador com 500mL de água destilada mantido por uma hora na geladeira e logo após, filtrado em gaze. O extrato foi mantido em freezer a - 4°C até a realização das quantificações de proteínas através do método de Lowry et al. (1951) e quantificações de fenóis através do método de Swain & Hillis (1959) com posterior diluição do extrato nas proporções 1:5 e 1:10, diluições estas, escolhidas aleatoriamente com o interesse de verificar se diferentes concentrações de extrato podem levar a diferentes percentuais de proteção.

3.3 Preparação das plantas de cevada

As sementes de cevada da variedade Embrapa 128 fornecidas pela Fundação Agrária da Cidade de Guarapuava (Estado do Paraná), foram semeadas em vasos contendo terra vegetal adubada com NPK (na formulação 10-10-10), acrescida de solo vermelho (oriundo do Paraná) e micronutrientes marca Ouro Verde. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação à temperatura ambiente, até o estágio 5 da escala de Feekes-Large (LARGE, 1954). Quando submetidas a tratamentos os vasos foram colocados na bancada mantendo-se uma distância entre tratamentos e plantas infectadas.

3.4 Indução de resistência local

As plantas de cevada (variedade Embrapa 128) foram submetidas a 6 diferentes tratamentos, sendo 10 vasos de cevada em cada tratamento:

- a) Sadias: Pulverizadas com 10mL de água.
- b) E-Controle: Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera.
- c) E-24h: Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 24 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.
- d) E-48h: Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 48 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.
- e) E-72h: Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 72 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.
- f) Infectadas: Pulverizadas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

Todos os tratamentos acima foram repetidos por 3 vezes.

As plantas de cevada submetidas aos tratamentos E-24h, E-48h e E-72h foram inicialmente aspergidas com indutor sendo que após 24, 48 e, 72 horas, sob condições de temperatura ambiente e fotoperíodo de 12 horas (luz fluorescente 7,35 W m⁻²), as folhas foram inoculadas por aspersão, com suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana* na concentração de 10⁵ conídios/mL.

Durante as primeiras 24 horas após a inoculação do patógeno, as plantas submetidas aos tratamentos E-24h, E-48h, E-72h e infectadas, foram mantidas em câmara úmida (100% UR), escura e em temperatura ambiente, em seguida, as plantas foram transferidas para casa-de-vegetação e mantidas sob condições de temperatura e luminosidade ambiente. Conforme BACH

(1997) a proteção das plantas foi avaliada 4 dias após a inoculação do patógeno, as folhas de cevada foram coletadas para a contagem do número de folhas com lesões, sendo logo após, guardadas em freezer para que posteriormente fossem feitos os seus respectivos extratos e quantificações de substâncias bioquímicas.

Foi realizado um teste preliminar para verificar a ação do isolado de *Bipolaris sorokiniana* perante planta de cevada sendo denominado teste de patogenicidade.

3.5 Indução de resistência sistêmica

As plantas de cevada (variedade Embrapa 128) foram submetidas a 5 diferentes tratamentos, sendo 10 vasos de cevada em cada tratamento :

- a) Sadias: Pulverizadas com 10mL de água.
- b) E-Controle: Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera.
- c) Sist.1T: Pinceladas as primeiras folhas (F1) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.
- d) Sist.2T: Pinceladas as segundas folhas (F2) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.
- e) Infectadas: Pulverizadas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

Todos os tratamentos acima foram repetidos por 3 vezes.

As plantas de cevada submetidas aos tratamentos Sist.1T e Sist.2T tiveram respectivamente suas primeiras e segundas folhas pinceladas com indutor sendo que após 24, 48 e, 72 horas, sob

condições de temperatura ambiente e fotoperíodo de 12 horas (luz fluorescente $7,35 \text{ W m}^{-2}$), todas as suas folhas foram inoculadas por aspersão, com suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana* na concentração de 10^5 conídios/mL.

Durante as primeiras 24 horas após a inoculação do patógeno, as plantas submetidas aos tratamentos Sist.1T, Sist.2T e infectadas, foram mantidas em câmara úmida (100% UR), escura e em temperatura ambiente, em seguida, as plantas foram transferidas para casa-de-vegetação e mantidas sob condições de temperatura e luminosidade ambiente.

Conforme Bach (1997) a proteção das plantas foi avaliada 4 dias após a inoculação do patógeno, as primeiras e as segundas folhas das plantas de cevada foram coletadas separadamente para a contagem das lesões, sendo logo após guardadas em freezer para que posteriormente fossem feitos os seus respectivos extratos e quantificações de substâncias bioquímicas.

3.6 Análises bioquímicas

Os extratos foram feitos com a utilização de 1g das folhas de cevada submetidas aos diferentes tratamentos, estas folhas foram trituradas em almofariz na presença de 1mL de tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,0 (ambos gelados). Assim, estes extratos foram mantidos em geladeira por uma hora, filtrado em gaze e guardados em freezer para posterior quantificação das substâncias bioquímicas.

A quantificação de proteínas nos extratos foi realizada pelo método de Lowry (LOWRY et al., 1951), com resultados expressos em mg SAB (Soro Albumina Bovina).

A quantificação de fenol foi realizada pelo método Folin-Ciocalteu (SWAIN & HILLIS, 1959), com resultados expressos em mg ácido clorogênico.

A atividade da enzima beta-1-3-glucanase foi medida pelo aumento dos grupos redutores de açúcares usando como substrato laminarina (Sigma) e o teste de açúcares redutores segundo Lever (1972). A glicose foi usada como padrão sendo que uma unidade do grupo redutor foi definida como quantidade de enzima capaz de liberar 1 μ M de glicose em 1 minuto a 37°C (VAN HOOFF et al., 1991).

3.7 Análise da clorofila

O desenvolvimento das plantas de cevada ocorreu em vasos separadamente embrulhados em papéis celofanes nas cores verde, vermelho, azul e amarelo, mantendo-se também vasos em luz total. Cada tratamento foi realizado em 4 vasos, com 3 repetições. Após 14 dias do desenvolvimento, as folhas das plantas de cevada foram pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera, e logo após, estas plantas foram embrulhadas novamente nos respectivos papéis celofanes.

Após 72 horas da aplicação do extrato das folhas da planta primavera, as plantas de cevada foram aspergidas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana* (10^5 conídios/mL), levadas a câmara úmida e escura, onde ficaram 24 horas sendo depois transferidas (com os papéis celofanes) para casa-de-vegetação em temperatura e luminosidade ambiente. A proteção das plantas foi avaliada 4 dias após a inoculação do patógeno, as folhas foram coletadas, guardadas em freezer para que posteriormente fossem feitos os extratos e as quantificações de substâncias bioquímicas.

A quantidade de luz foi medida através do aparelho luxímetro (marca Lutron).

A extração e a determinação do conteúdo de clorofila foi baseada no método descrito por Jeffrey & Humphrey (1975), onde 1g de folha foi triturada em presença de 10mL de acetona com imediata verificação no espectrofotômetro Shimadzu em 652 nm, e o cálculo realizado como $A_{652}/34,5 \times \text{volume/peso}$, resultando na concentração de clorofila expressa como mg/g PF.

3.8 Estatística

Os resultados obtidos nos experimentos foram analisados por teste T (Student's) junto ao Excel 7.0 ou, ANOVA (Origin).

3.9 Eletroforese

As amostras obtidas a partir das folhas de cevada dos diferentes tratamentos foram submetidas a eletroforese em gel de poliacrilamida, na concentração de 7% de AA (acrilamida) e Bis (N-metil bis acrilamida) em placa horizontal. As amostras apresentavam 300 μ g em equivalentes de SAB/mL, segundo método utilizado por Bach (1997). Foi feita coloração para isoenzimas de esterase, segundo Stegmann & Burgermeister (1987). A avaliação foi feita por comparação entre bandas de isoenzimas existentes nas plantas sadias, infectadas e submetidas aos diferentes tratamentos através do uso do programa Analista Molecular da Biorad, acoplado no computador e ao densitômetro situados no Laboratório de Bacteriologia Animal do Instituto Biológico localizado na cidade de São Paulo.

3.10 Efeito do fungicida Ópera

Como efeito controle do indutor de resistência foi utilizado o ópera que é o fungicida mais inovador F500 promovido pela Basf, que consta de uma molécula proveniente de um produto natural transformado pela indústria em fungicida.

Dessa forma, o mesmo foi utilizado na pulverização na concentração de 0,6L/ha/100L de água.

Grupos de plantas de cevada foram submetidos a diferentes tratamentos:

- 1) E + fungo: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o extrato das folhas de primavera, sendo após 72 horas pulverizadas com o fungo.
- 2) E + ópera + fungo: grupo de plantas com 14 dias de germinação, submetidas a pulverização com o extrato das folhas de primavera, após 10 dias, pulverizadas com o fungicida ópera, sendo após 72 horas pulverizadas com o fungo.
- 3) Infectada: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o fungo.
- 4) Ópera + fungo: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o fungicida ópera, sendo após 72 horas pulverizadas com o fungo.

Em relação aos tratamentos, foi verificado o número de folhas de cevada com lesões após uma semana em casa-de-vegetação, também foram preparados os extratos das respectivas folhas e a realização de análises bioquímicas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Patógeno

O isolado de *Bipolaris sorokiniana* oriundo do campo, demonstrou capacidade de formar lesões nas plantas de cevada (variedade Embrapa 128), fechando o postulado de Koch no qual consta o isolamento do patógeno, a sua inoculação no hospedeiro, reprodução dos sintomas e reisolamento no final.

As manchas marrons observadas nas folhas de cevada 4 dias após a inoculação, apresentam característica de *Bipolaris sorokiniana* sendo que estes também foram comprovados por Bach & Kimati (1995); Bach (1997); Silva (2005) e Felipe (2005).

4.2 Extrato das folhas da planta primavera

O extrato das folhas da planta primavera apresentou por grama de folha (peso fresco) o equivalente de 16,9mg SAB (soro albumina bovina ou proteínas) e o equivalente de 0,3mg de ácido clorogênico (fenol). Este extrato foi diluído na proporção de 1:5 apresentando 3,4mg de proteína e 0,06mg de fenol para cada mL de extrato pulverizado e 1:10 representando 1,69mg de proteínas e 0,03mg de fenol.

Assim, as plantas de cevada foram divididas em dois grupos sendo um grupo recebendo extrato das folhas de primavera diluído 1:10 e outro grupo recebendo extrato das folhas de primavera diluído 1:5.

4.3 Indução de proteção local

Nas plantas de cevada pulverizadas com o extrato das folhas da planta primavera na diluição de 1:10 (1,69mg de proteínas e 0,03mg de fenóis), foi possível observar reação de indução de resistência sendo que as pulverizadas com 72 horas de antecedência a aplicação do patógeno (*Bipolaris sorokiniana*) apresentaram uma maior proteção em relação as plantas de cevada pulverizadas com o mesmo extrato com 48 horas e 24 horas de antecedência à aplicação do patógeno (Tabela 1).

Nas plantas de cevada pulverizadas com o extrato das folhas da planta primavera na diluição de 1:5 (3,4mg de proteínas e 0,06mg de fenóis), foi possível observar maior porcentagem de proteção do que na diluição do extrato em 1:10. Na Tabela 1 pode-se observar que o indutor extrato das folhas de primavera na diluição 1:5, foi capaz de induzir resistência apresentando uma porcentagem de proteção acima de 90%. No entanto, essa porcentagem de proteção aumentou em função do tempo (24, 48 e 72 horas), entre a aplicação do indutor e a inoculação com o patógeno chegando a 96,6% de proteção.

Os resultados envolvendo a indução com o intervalo de tempo vieram ao encontro dos resultados obtidos por Guzzo et al. (1993); Bach (1997), Bach et al. (2003) e Castro & Bach (2004).

Tabela 1: Porcentagem de proteção em folhas de plantas de cevada variedade Embrapa 128, utilizando extrato das folhas da planta primavera em duas diluições, nos diferentes intervalos de tempo.

Tratamentos*	Extrato diluído 1:10		Extrato diluído 1:5	
	Nº de folhas com lesões***	% de proteção**	Nº de folhas com lesões***	% de proteção**
Sadia	0	0	0	0
E-Controle	0	0	0	0
E-24h	26	13,33 b	3	90,00 b
E-48h	20	33,33 c	2	93,33 b
E-72h	14	53,33 d	1	96,66 b
Infectada	30	0 a	30	0 a

Extrato diluído 1:10 (1,69mg de proteínas e 0,03mg de fenóis)

Extrato diluído 1:5 (3,4mg de proteínas e 0,06mg de fenóis)

* Tratamentos: Sadia: plantas aspergidas com água; E-Controle: plantas aspergidas com extrato de primavera; E-24h: plantas aspergidas com extrato de primavera 24h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana*; E-48h: plantas aspergidas com extrato de primavera 48h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana*; E-72h: plantas aspergidas com extrato de primavera 72h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana*; Infectada: plantas aspergidas com suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

** % de proteção em plantas de cevada, dentro de 3 repetições, onde médias com letras diferentes, nas colunas, diferem significativamente entre si ao nível de 5% quando comparadas com plantas infectadas.

*** Média de folhas com lesões presentes em 30 folhas.

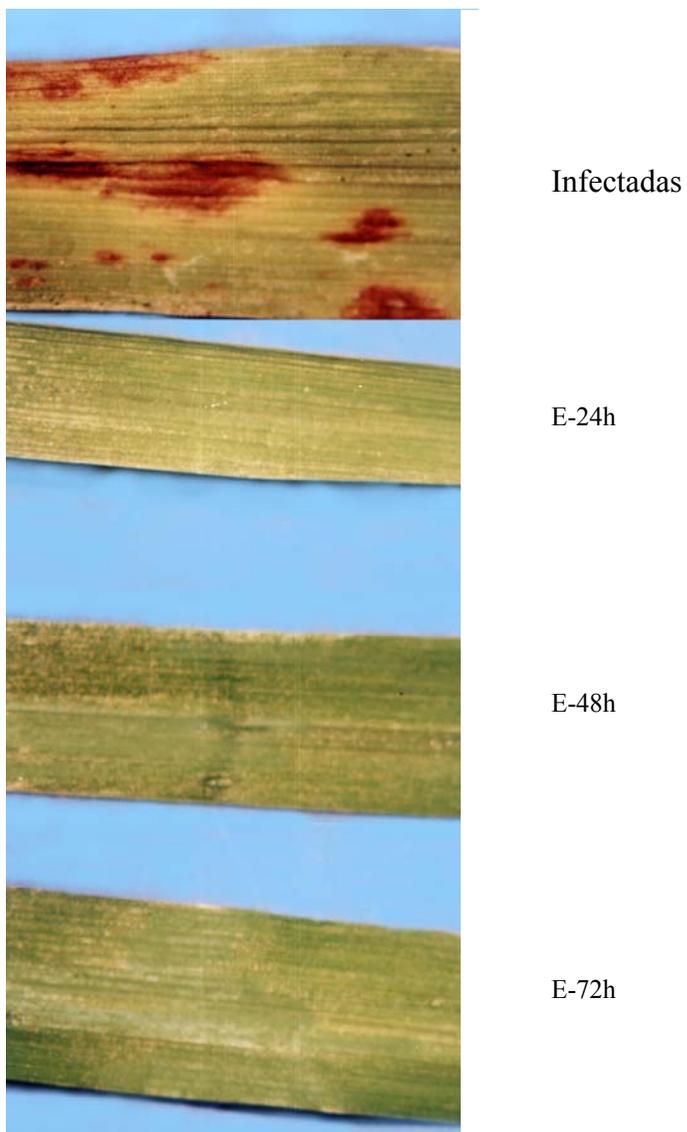


Figura 4: Folhas de cevada submetidas aos diferentes tratamentos (local).
Infectadas: plantas aspergidas com suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; E-24h: plantas aspergidas com extrato de primavera 24h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana*; E-48h: plantas aspergidas com extrato de primavera 48h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana*; E-72h: plantas aspergidas com extrato de primavera 72h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana* (fotos do autor).

4.4 Análises bioquímicas do tratamento local

Segundo Moraes (1991), algumas substâncias químicas ocorrem livres nos espaços intercelulares de certos tecidos vegetais, substâncias estas, produzidas pelas próprias células e associadas as paredes celulares. Essas substâncias são polissacarídeos, glicoproteínas, proteínas, que podem ser liberadas para o espaço intercelular na íntegra ou na forma de resíduos terminais. No instante em que o patógeno penetra no hospedeiro, deve ocorrer o reconhecimento dos determinantes específicos presentes nas paredes celulares do patógeno, através das macromoléculas de alta especificidade existentes nas células do hospedeiro.

Quando as plantas são estimuladas por agentes bióticos ou abióticos, tal como quando aplicados indutores de proteção, as plantas respondem alterando seu metabolismo, aumentando ou diminuindo a concentração de alguns metabólitos ou macromoléculas bioquímicas, ou ainda, produzindo outros, que estejam relacionados com a reação de resistência, como por exemplo: as PR-proteínas, os fenóis, as fitoalexinas, dentre outros (KUC, 2001; BENHAMOU, 1996; KOMBRINK & SCHMELZER, 2001).

Assim, todas as plantas de cevada oriundas dos tratamentos foram submetidas a quantificações de proteínas, fenóis e enzima beta-glucanase. Observou-se através da Tabela 2 e da Figura 5 que as concentrações de proteína e de enzima beta-glucanase aumentaram distintamente nos intervalos de tempo dos diferentes tratamentos, também foi constatada diferença na quantidade de proteínas e enzima beta-glucanase quando compara-se os tratamentos submetidos aos intervalos de tempo com as plantas infectadas, sadias e controles.

Por outro lado, nas plantas que somente foram inoculadas com o patógeno (Infectadas), a diminuição das proteínas e da enzima beta-glucanase foi bastante significativa, fato este,

relacionado com o aparecimento de várias lesões conforme Guzzo et al. (1993); Bach (1997), Bach et al. (2003) e Castro & Bach (2004).

Quanto a concentração de fenóis, esta diminuiu nas plantas onde a indução de resistência foi observada em relação as plantas sadias. Entretanto, nas plantas infectadas (pulverizadas apenas com o patógeno), a concentração de fenóis aumentou consideravelmente, dados estes, de acordo com Oku (1964); Bach (1997) e Rodrigues et al. (2002).

Segundo Bach (1997), algum mecanismo na planta foi ativado a fim de diminuir a concentração de fenóis podendo estar associado com a indução de resistência.

Na Figura 5 também é possível observar variações na quantidade de proteínas e enzima beta-glucanase nas plantas submetidas aos diferentes tratamentos.

Tabela 2: Quantidade de proteína (mg SAB), atividade da enzima beta-1-3-glucanase (μmol de glicose/min) e quantidade de fenol (mg ácido clorogênico), presentes nos extratos foliares de plantas de cevada da variedade Embrapa 128, submetidas aos diferentes tratamentos.

Tratamentos **	Proteínas mg SAB	Desvio padrão	Beta glucanase μmol de glicose/min	Fenóis mg ácido clorogênico	Desvio padrão
E-24h	2,00 b*	0,10	0,92 b	0,15 b	0,05
E-48h	2,15 b	0,08	0,98 b	0,14 b	0,03
E-72h	3,20 b	0,10	1,16 b	0,13 b	0,03
Infectada	0,40 a	0,05	0,20 a	0,45 a	0,02
E-Controle	1,81 b	0,08	0,65 b	0,17 b	0,05
Sadia	1,90 b	0,08	0,75 b	0,18 b	0,05

* Médias +/- erro padrão envolvendo 3 repetições de cada teste. Médias com letras diferentes, nas colunas, diferem significativamente entre si ao nível de 5% quando comparadas com plantas infectadas.

**Tratamentos: Sadia: plantas aspergidas com água; E-Controle: plantas aspergidas com o extrato das folhas de primavera; E-24h: plantas aspergidas com o extrato das folhas de primavera 24h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana*; E-48h: plantas aspergidas o extrato das folhas de primavera 48h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana*; E-72h: plantas aspergidas com o extrato das folhas de primavera 72h antes da inoculação com *Bipolaris sorokiniana*; Infectada: plantas aspergidas com suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

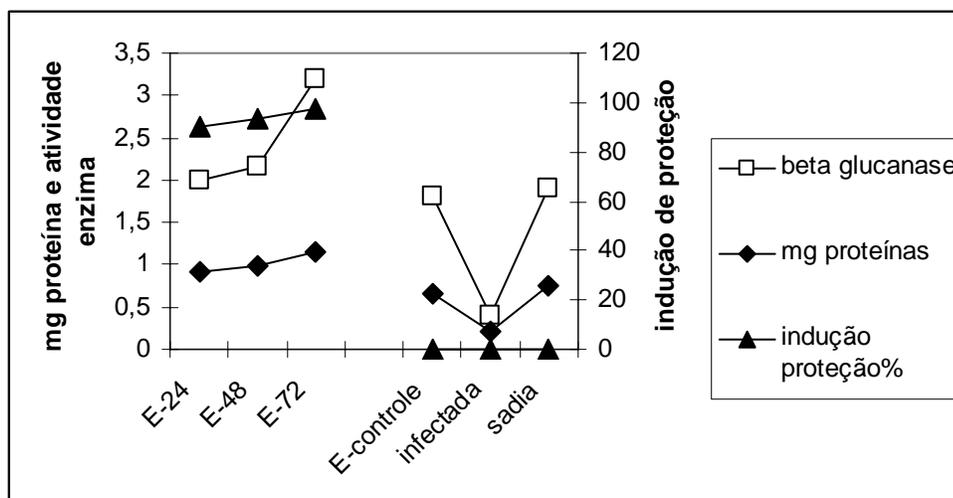


Figura 5: Concentração de proteína (mg SAB) e atividade da enzima beta-1-3-glucanase (μmol de glicose/min) presentes nos extratos foliares das plantas de cevada da variedade Embrapa 128, submetidas aos tratamentos em relação ao percentual de proteção.

As plantas do grupo E-72h apresentaram significativo aumento na quantidade de proteínas e enzima beta-glucanase em relação as plantas sadias, permitindo considerar este extrato como elicitador de resistência, já que conforme Bach et al. (2003); Rodrigues et al. (2002) aumento na quantidade de proteínas e enzima beta-glucanase tem sido característica de plantas que se tornam resistentes a determinados patógenos.

Já as plantas dos grupos E-48h e E-24h também tiveram aumento na quantidade de proteínas e enzima beta-glucanase em relação as plantas sadias, é verdade que estes aumentos foram menores em relação ao aumento de proteínas e enzima beta-glucanase nas plantas do grupo E-72h, mas os resultados destes três tratamentos não foram contraditórios, e a quantidade de proteínas e enzima beta-glucanase foi aumentando à medida que aumentavam-se as horas entre a pulverização com o extrato das folhas da planta primavera e a inoculação com o patógeno (*Bipolaris sorokiniana*), confirmando mais uma vez, a atuação deste extrato como elicitador de proteção.

As plantas dos grupos E-72h, E-48h e E-24h tiveram redução na quantidade de fenóis em relação as plantas saudas, constatação esta, que vai ao encontro dos resultados obtidos por Bach et al. (2003); Rodrigues et al. (2002); Kuc (2001) pois quando ocorre a indução de proteção, a quantidade de fenóis tende à diminuir.

4.5 Indução de proteção sistêmica

Na proteção sistêmica toda a planta torna-se resistente ao patógeno e não apenas o local que entrou diretamente em contato com o elicitador de resistência. Isto auxiliará o agricultor que não precisará pulverizar a planta por completo com o elicitador. Assim, foi avaliado o efeito sistêmico nas fases ascendente e descendente:

* ascendente ou Sist.1T: Pinceladas as primeiras folhas (F1) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*. Posteriormente foram verificados os efeitos protetores na primeira, segunda e terceira folhas da planta de cevada.

* descendente ou Sist.2T: Pinceladas as segundas folhas (F2) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*. Posteriormente foram verificados os efeitos protetores na primeira, segunda e terceira folhas da planta de cevada.

Os resultados apresentados na Tabela 3 e Figura 6 indicam que o indutor extrato das folhas de primavera apresentou proteção sistêmica em todos os intervalos de tempo, proteção também observada na terceira folha, a qual não foi tratada com o elicitor. A fase ascendente foi mais efetiva na proteção da planta do que a fase descendente. O referido efeito também foi observado por Bach et al. (2003), Castro & Bach (2004) em trabalhos com outros elicitores.

Tabela 3: Número de folhas com lesões e porcentagem de proteção em folhas de cevada (variedade Embrapa 128), utilizando extrato das folhas de primavera como indutor.

Tratamentos	F1	F1	F2	F2	F3	F3
	Lesões*	%	Lesões*	%	Lesões*	%
24h Sist.1T	4,80	84,0	2,40	92,0	0	100
24h Sist.2T	4,28	85,7	8,57	71,5	2,14	93,0
48h Sist.1T	2,72	90,9	1,95	93,5	0	100
48h Sist.2T	2,00	93,3	3,00	90,0	0	100
72h Sist.1T	2,20	92,7	2,10	94,0	0	100
72h Sist.2T	1,36	95,5	1,80	93,0	0	100
Infectada	30,00	0	30,00	0	25,00	16,6

* Média de folhas com lesões presentes em 30 folhas.

Sist.1T: Pinceladas as primeiras folhas (F1) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

Sist.2T: Pinceladas as segundas folhas (F2) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

F1: primeira folha da planta de cevada.

F2: segunda folha da planta de cevada.

F3: terceira folha da planta primavera.

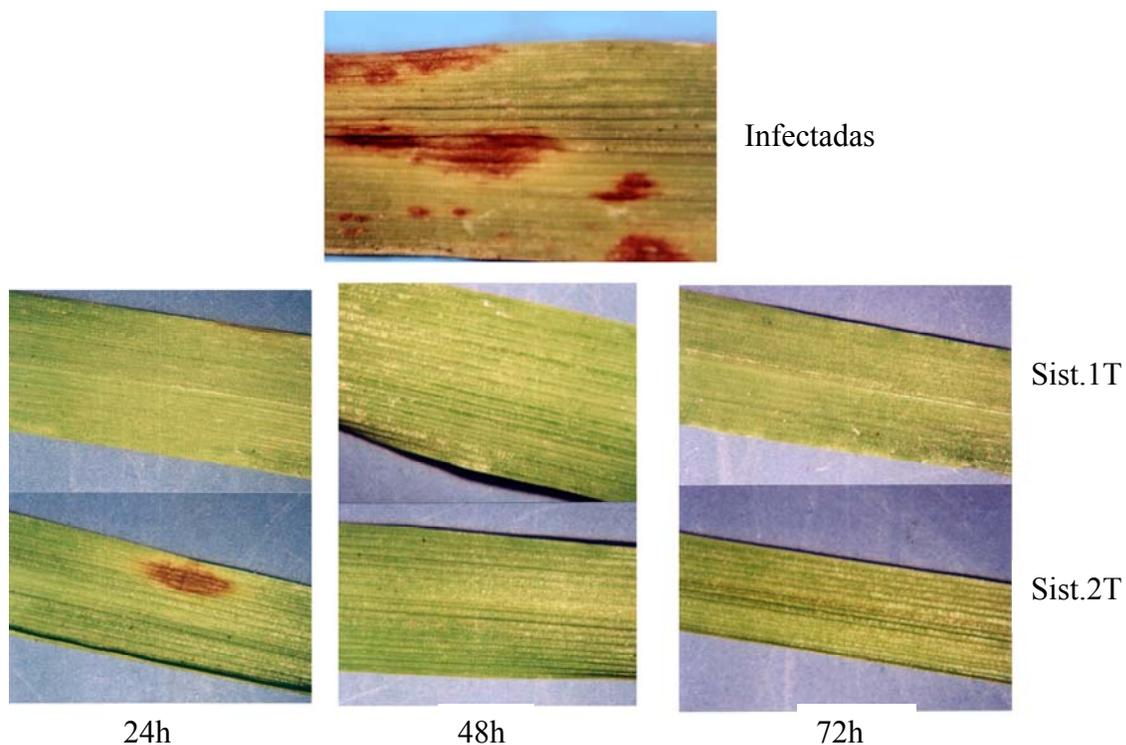


Figura 6: Folhas de cevada submetidas aos diferentes tratamentos (sistêmico). Infectadas: plantas aspergidas com suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; Sist.1T: Pinceladas as primeiras folhas (F1) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; Sist.2T: Pinceladas as segundas folhas (F2) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana* (fotos do autor).

4.6 Análises bioquímicas do tratamento sistêmico

As plantas de cevada submetidas aos tratamentos sistêmicos e que receberam o indutor na primeira folha (F1), apresentaram na própria primeira folha aumento na quantidade de proteínas e de enzima beta-1-3-glucanase em relação as plantas sadias. Foi observado também que o efeito protetor também foi transmitido para a segunda folha, evidenciando assim, o efeito sistêmico ascendente (Tabela 4).

O efeito sistêmico de proteção também foi percebido na concentração de fenóis, pois na primeira folha (F1) e na segunda folha (F2), a quantidade de fenóis diminuiu significativamente em relação as plantas infectadas, com quantidade de fenóis próximas as plantas sadias ou controle (Tabela 4).

A atividade da enzima beta-1,3-glucanase aumentou nas plantas onde a proteção foi induzida em relação as plantas sadias e também em relação aos intervalos de tempo entre a aplicação do indutor e do patógeno. Esses resultados indicam que essas proteínas estão relacionadas a patogênese e que quando os elicitores acionam “um sinal”, o hospedeiro intensifica a produção destas proteínas, prevenindo-se contra outros ataques do patógeno. Desta maneira, esses dados reforçam a teoria das PR-proteínas preconizada por outros autores (HWANG & KIM, 1990; DU & WANG, 1992; ANURATHA et al., 1996; BENHAMOU, 1996; MANANDHAR et al., 1999; KUC, 2001; KOMBRINK & SCHMELZER, 2001) (Tabela 4).

Tabela 4: Quantidade de proteínas (mg SAB), de enzima beta-1-3-glucanase (μmol de glicose/min) e de fenóis (mg ácido clorogênico), presentes nos extratos foliares de plantas de cevada (variedade Embrapa 128) submetidas a tratamentos sistêmicos com indutor extrato de folhas de primavera contra *Bipolaris sorokiniana*.

Tratamentos **	Proteínas mg SAB*	Fenóis mg ac.clorogênico*	Beta-glucanase μmol de glicose/min*
24h Sist.1T	2,10c	0,530b	0,92b
24h Sist.2T	2,00c	0,510b	0,78b
48h Sist.1T	2,40c	0,470b	0,98b
48h Sist.2T	2,30c	0,410b	0,85b
72h Sist.1T	3,25d	0,410b	1,16b
72h Sist.2T	3,10d	0,390b	1,07b
E-Controle	1,94b	0,530b	0,65b
Sadias	1,90b	0,610b	0,76b
Infectadas	0,30a	1,023a	0,20a

* Médias +/- erro padrão envolvendo 3 repetições de cada teste. Médias com letras diferentes, nas colunas, diferem significativamente entre si ao nível de 5% quando comparadas com plantas infectadas.

**Tratamentos: Sist.1T: Pinceladas as primeiras folhas (F1) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; Sist.2T: Pinceladas as segundas folhas (F2) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; E-Controle: Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera; Sadias: Pulverizadas com 10mL de água; Infectadas: Pulverizadas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

Pode-se afirmar que o extrato das folhas da planta primavera é indutor de resistência sistêmica, isto porque toda a planta se tornou resistente ao patógeno e não somente as folhas que foram pinceladas com o elicitor.

Assim como na indução de proteção local, o tratamento com o elicitor extrato das folhas de primavera 72h antes da aplicação do patógeno também se mostrou o mais eficaz na indução de proteção sistêmica em relação ao tratamentos 24h e 48h.

Com base nas quantificações de proteínas, fenóis e enzima beta-glucanase, é possível declarar que a indução de proteção ascendente é mais efetiva do que a indução de proteção descendente.

Com base nos resultados obtidos nos tratamentos sobre a característica de proteção sistêmica do indutor, recomenda-se a realização de testes em “campo”.

4.7 Clorofila

4.7.1 Padronização do luxímetro para determinar a quantidade de luz

O luxímetro apresentou sensibilidades diferentes nos variados comprimentos de onda, observado na Figura 7 analisado com filtros especiais. O mesmo aparelho foi utilizado para medir a quantidade de luz que a planta recebia através dos celofanes de diferentes cores (verde, vermelho, azul e amarelo), observando-se que a quantidade de luz só era maior quando a luz era totalmente incidida, isto é, com todos os comprimentos de luz (Tabela 5).

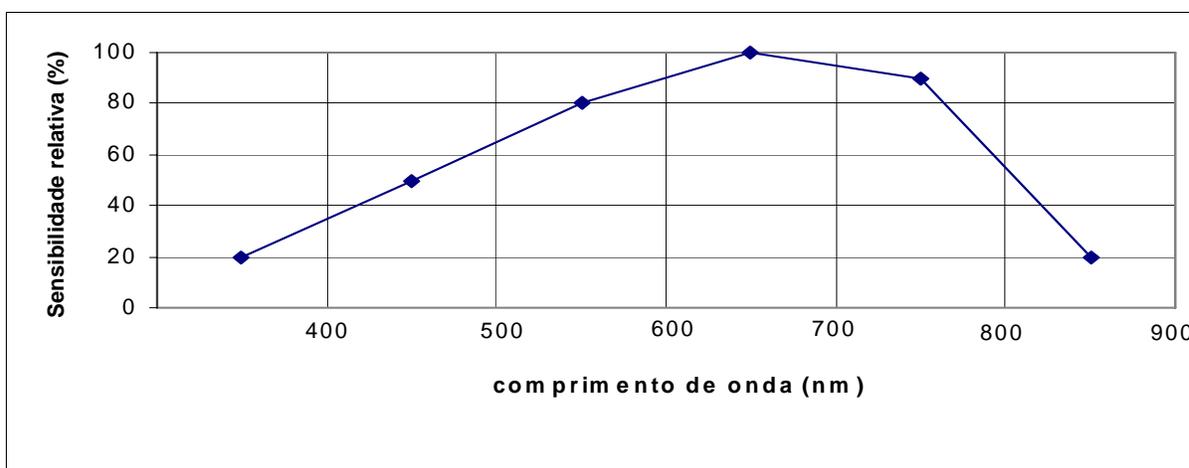


Figura 7: Sensibilidade do luxímetro (marca Lutron) nos diferentes comprimentos de onda.

Tabela 5: Medida de luminosidade através dos celofanes em plantas mantidas em casa-de-vegetação incidida com luz solar ou luz total (fotoperíodo de 14 horas).

Cor dos celofanes/ comprimento de onda	Quantidade de luz através dos celofanes *
Amarelo / 550nm	1718
Vermelho / 730nm	1345
Verde / 500nm	1441
Azul / 430nm	1248
Luz total	8346

* lux/dia = média lux medido durante o período de 15 dias ensolarados (mês de Dezembro 2004 / Janeiro 2005)

4.7.2 Determinação da proteção e da quantidade de clorofila

A indução de resistência promovida pelo extrato das folhas de primavera em plantas de cevada contra *Bipolaris sorokiniana* demonstra ser dependente da luz que incide sobre as plantas (Tabela 6). As cores verde, vermelha, azul e luz total apresentaram altos percentuais de proteção. Já a luz amarela foi importante, mas permitiu apenas 50% de proteção.

As faixas de luz azul e vermelha apresentaram maior percentual de proteção do que as faixas de luz verde e amarela.

Tabela 6: Porcentagem de proteção e quantidade de clorofila em folhas de plantas de cevada (variedade Embrapa 128) contra o isolado de *Bipolaris sorokiniana*, utilizando o extrato das folhas de primavera, em vários comprimentos de onda de luz.

Tratamentos/ cores	% de Proteção	Clorofila total mg/g folha
Primavera verde	100	88,3
Primavera verde patógeno	73,3	55,9
Sadia verde	100	26,3
Infectada verde	0	21
Primavera vermelha	100	64,5
Primavera vermelha patógeno	86,6	63,5
Sadia vermelha	100	98,7
Infectada vermelha	0	51,2
Primavera azul	100	48,5
Primavera azul patógeno	93,3	80,9
Sadia azul	100	74,8
Infectada azul	0	65,3
Primavera amarela	100	39,8
Primavera amarela patógeno	50	48,9
Sadia amarela	100	61,9
Infectada amarela	0	45,5
Primavera luz total	100	81,2
Primavera luz total patógeno	93,3	92,9
Sadia luz total	100	63,4
Infectada luz total	0	18,7

Conforme Castro & Bach (2004) e Bach (1997), a proteção é mediada pela luz com aumento da clorofila.

Todas as faixas de luz são importantes para a ação do indutor nas plantas promovendo a transformação de energia solar em compostos orgânicos que promoveram a proteção das plantas.

Com base nos dados existentes na Tabela 6, é possível vincular a eficácia do indutor com a luminosidade a que as plantas são submetidas, sendo assim, quando ocorrer a aplicação do indutor em “campo” será necessário atentar para o fato de que dias ensolarados e nublados apresentam diferentes comprimentos de luz que podem causar variações no desempenho do elicitador de resistência.

4.8 Eletroforese das plantas de cevada

Esterases representa um grupo diverso de enzimas hidrolases, catalizando a hidrólise de compostos do grupo éster. Elas estão distribuídas em animais, plantas e microrganismos, entretanto, a função delas é muito ampla e muitas vezes desconhecida (OKUDA, 1991). Várias esterases carboxílicas podem estar ligadas a degradação da parede celular dos fungos.

Muitas isoenzimas de esterase foram produzidas em plantas infectadas por patógenos, e que no entanto, não foram encontradas em plantas sadias Hwang et al. (1991). Essas isoenzimas produzidas nas plantas infectadas por patógenos podem estar relacionadas com a produção de compostos antifúngicos (HWANG & KIM, 1990), podendo ser visualizadas pela eletroforese.

Foi feita a eletroforese esterase em gel de poliacrilamida de todos os extratos das plantas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas da planta primavera, onde foi observado o efeito de proteção local e sistêmica.

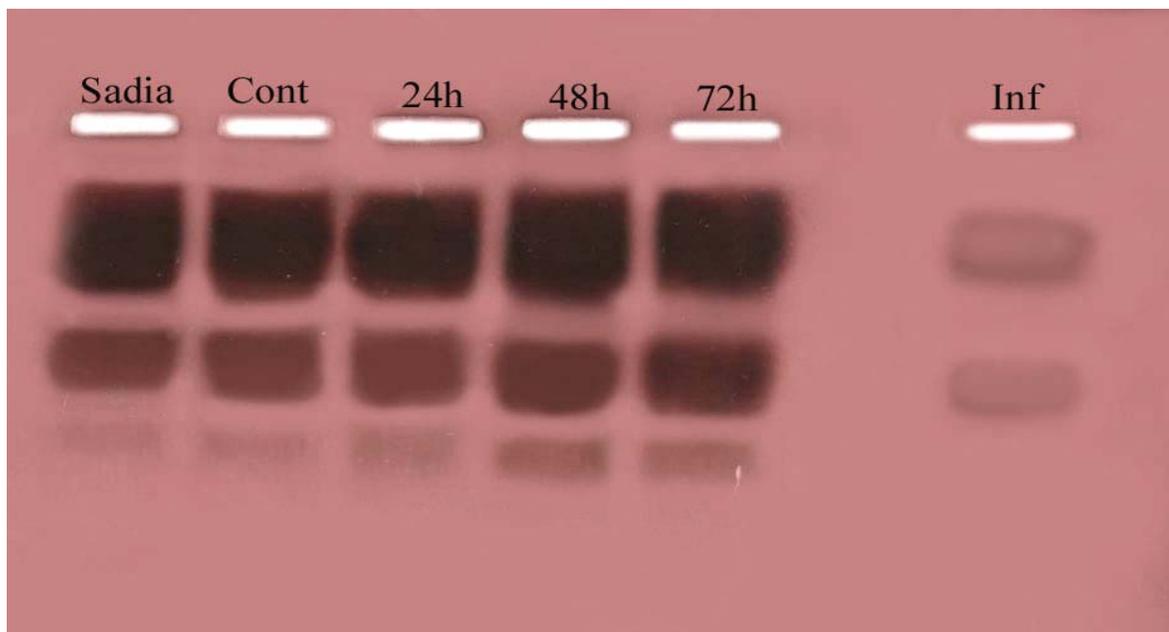


Figura 8: Eletroforese dos extratos das plantas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas da planta primavera nos diferentes intervalos de tempo (referente indução de resistência local).

Sadia(Sadias): Pulverizadas com 10mL de água; Cont(E-Controle): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera; 24h(E-24h): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 24 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; 48h(E-48h): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 48 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; 72h(E-72h): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 72 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; Inf(Infectedas): Pulverizadas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

Todos os extratos das plantas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas da planta primavera foram submetidos a eletroforese esterase em gel de poliacrilamida, onde primeiramente foi observando o efeito de proteção local (Figura 8). Na referida eletroforese observa-se que as plantas infectadas não apresentam banda 3, podendo ser devido ao ataque do fungo.

Com a utilização do programa de computador denominado Analista Molecular (Bio rad) foi possível observar que a atividade das isoenzimas, nas plantas tratadas com o elicitor foi maior no intervalo de 72 horas onde a banda 3 com Rm (2,58-3,03) apresentou a maior atividade que diminuiu nos intervalos de 48 e 24 horas. Observando a planta infectada, a atividade das

isoenzimas foi baixa nas bandas 1 e 2 e praticamente desaparece a banda 3. Isto veio comprovar que as plantas tratadas apresentaram maior atividade esterásica, o que pode estar diretamente envolvida na interação planta-patógeno, degradando a parede celular do fungo. Isto vem ao encontro dos resultados obtidos por Bach (1997) e Castro & Bach (2004).

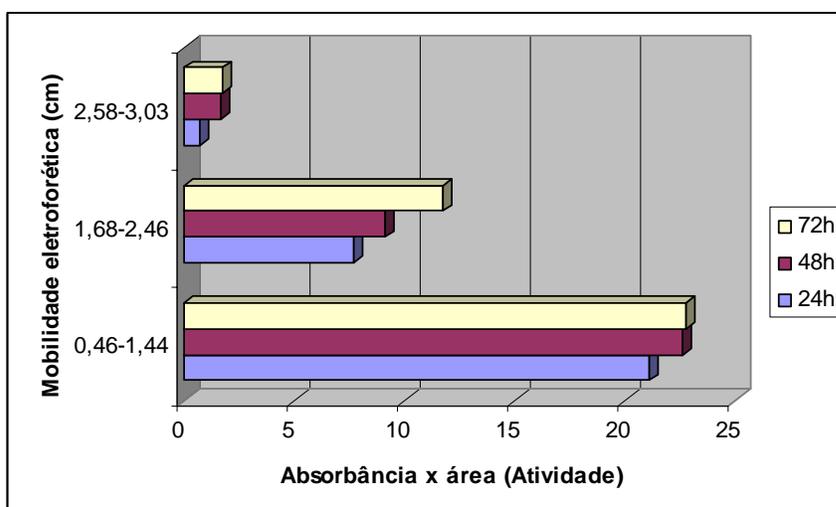
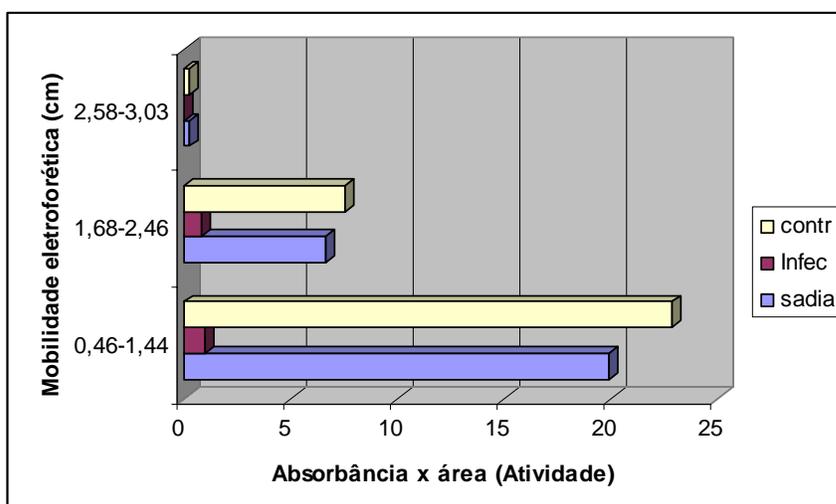


Figura 9: Mobilidade eletroforética e atividade da enzima esterase presente nos extratos das folhas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas de primavera (referente indução de resistência local). Contr(E-Controle): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera; Infec(Infectadas): Pulverizadas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; Sadia(Sadias): Pulverizadas com 10mL de água; 72h(E-72h): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 72 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; 48h(E-48h): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 48 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; 24h(E-24h): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas após 24 horas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

Na eletroforese para verificação da indução de resistência sistêmica (Figura 10 e 11) observou-se que:

As plantas tratadas nos intervalos de tempo de 48 e 72h apresentaram 3 bandas tanto no tratamento da primeira folha (F1) quanto no tratamento da segunda folha (F2). Entretanto, no intervalo de tempo de 24h a banda 3 não foi observada, podendo ser motivo de menor concentração de proteínas presentes no extrato foliar.

As plantas sadias (aspergida somente com água) e controle (aspergida somente com extrato de primavera) também apresentaram 3 bandas.

Em relação à todos os tratamentos, a atividade da banda 3 foi maior nos tratamentos de intervalo de tempo 72h, tanto no tratamento da primeira folha (F1) quanto no tratamento da segunda folha (F2).

Nas plantas infectadas foram somente observadas 2 bandas de isoenzimas, e as mesmas apresentaram baixa atividade.

Os resultados vieram indicar que a planta produz isoenzimas como reação de resistência induzida para impedir o sucesso do patógeno, não causando assim a doença mancha-foliar. Resultados similares foram observados por Bach (1997), Castro & Bach (2004), entre outros.

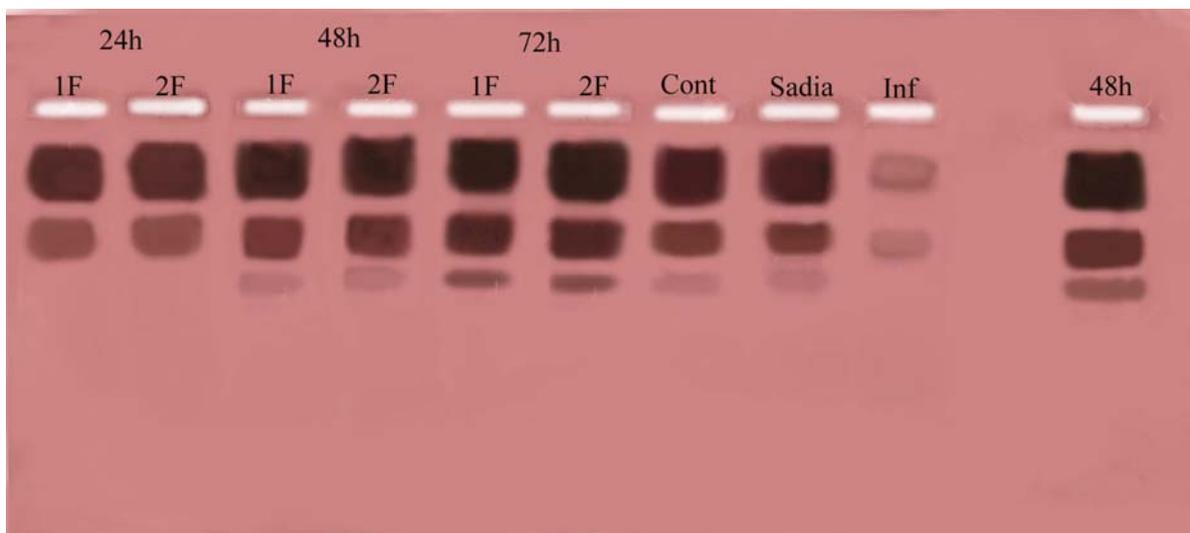


Figura 10: Eletroforese dos extratos das plantas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas da planta primavera nos diferentes intervalos de tempo (referente indução de resistência sistêmica).

1F(Sist.1T): Pinceladas as primeiras folhas (F1) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; 2F(Sist.2T): Pinceladas as segundas folhas (F2) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; Cont(E-Controle): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera; Sadia(Sadias): Pulverizadas com 10mL de água; Inf(Infectadas): Pulverizadas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

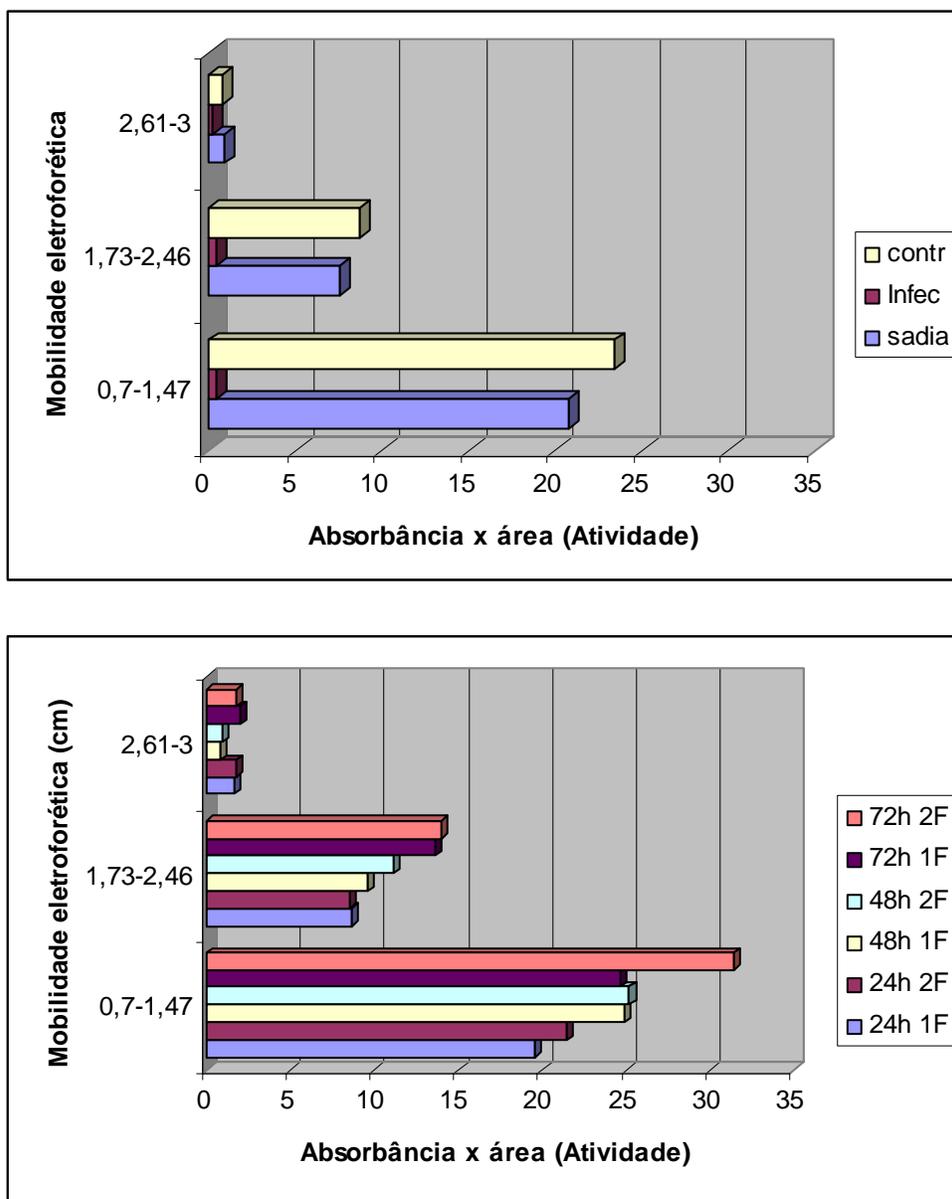


Figura 11: Mobilidade eletroforética e atividade da enzima esterase presente nos extratos das folhas de cevada tratadas e não tratadas com o indutor extrato das folhas de primavera (referente indução de resistência sistêmica). Contr(E-Controle): Pulverizadas com 10mL do extrato das folhas da planta primavera; Infec(Infectadas): Pulverizadas com 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; Sadia(Sadias): Pulverizadas com 10mL de água; 1F(Sist.1T): Pinceladas as primeiras folhas (F1) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*; 2F(Sist.2T): Pinceladas as segundas folhas (F2) com 2ml do extrato das folhas da planta primavera e inoculadas em todas as folhas após 24, 48 e 72 horas 10mL da suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana*.

4.9 Efeito com o fungicida Ópera

A porcentagem de proteção nas plantas de cevada submetidas ao tratamento com o extrato das folhas de primavera(E)+fungo foi de 90%, enquanto que a porcentagem de proteção nas plantas que receberam extrato de primavera (E)+ópera+fungo e ópera+fungo foi de 100%.

Tabela 7: Porcentagem de proteção nos diferentes tratamentos para a verificação da atuação do fungicida ópera

Tratamentos	Nº total de folhas / Nº de folhas com lesões	% de proteção
E+fungo	30/3	90
E+ópera+fungo	30/0	100
Infectada	30/30	0
Ópera+fungo	30/0	100

Tratamentos: E + fungo: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o extrato das folhas de primavera, sendo após 48 horas pulverizadas com o fungo; E + ópera + fungo: grupo de plantas com 14 dias de germinação, submetidas a pulverização com o extrato das folhas de primavera, após 10 dias, pulverizadas com o fungicida ópera, sendo após 72 horas pulverizadas com o fungo; Infectada: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o fungo; Ópera + fungo: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o fungicida ópera, sendo após 72 horas pulverizadas com o fungo.

Observando as análises bioquímicas (Tabela 8) foi possível constatar que plantas tratadas com o extrato das folhas de primavera e/ou ópera apresentaram as mesmas alterações bioquímicas como aumento de enzima beta-glucanase, proteínas e diminuição de fenóis quando comparadas com plantas infectadas. Entretanto, quando o extrato foi associado ao ópera, a beta-glucanase diminuiu, ficando praticamente com a mesma quantidade de uma planta sadia.

Assim, foi possível confirmar que plantas submetidas ao tratamento ópera ou plantas tratadas com extrato de primavera, apresentaram resultados semelhantes podendo serem comparados entre si.

Tabela 8: Quantidade de proteínas (mg SAB), de enzima beta-1-3-glucanase (μmol de glicose/min) e de fenóis (mg ácido clorogênico), presentes nos extratos foliares de plantas de cevada (variedade Embrapa 128), submetidas aos diferentes tratamentos com o fungicida ópera.

Tratamentos **	Proteínas	Beta-glucanase	Fenóis
	mg SAB*	μmol de glicose/min*	mg ácido clorogênico*
E+fungo	2,2b	0,98b	0,14b
E+ópera+fungo	1,9b	0,76b	0,13b
Ópera+fungo	1,1b	1,02b	0,14b
Infectada	0,4a	0,2a	0,48a
Sadia	1,9b	0,75b	0,18b

* Médias com letras diferentes, nas colunas, diferem significativamente entre si ao nível de 5% quando comparadas com plantas infectadas.

** E + fungo: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o extrato das folhas de primavera, sendo após 48 horas pulverizadas com o fungo; E + ópera + fungo: grupo de plantas com 14 dias de germinação, submetidas a pulverização com o extrato das folhas de primavera, após 10 dias, pulverizadas com o fungicida ópera, sendo após 72 horas pulverizadas com o fungo; Infectada: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o fungo; Ópera + fungo: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com o fungicida ópera, sendo após 72 horas pulverizadas com o fungo; Sadia: grupo de plantas com 24 dias de germinação, submetidas a pulverização com água.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram as seguintes conclusões:

- 1) O extrato das folhas da planta primavera atuou como elicitador de resistência em plantas de cevada (variedade Embrapa 128) contra o fungo *Bipolaris sorokiniana*.
- 2) Plantas de cevada tratadas com o extrato das folhas de primavera 72 horas antes da inoculação do patógeno *Bipolaris sorokiniana*, apresentaram maior percentual de proteção em relação as plantas de cevada submetidas ao mesmo tratamento com intervalos de tempo de 48 e 24 horas.
- 3) A resistência induzida na cevada foi local e sistêmica, sendo que na resistência sistêmica, a fase ascendente apresentou maior proteção do que a fase descendente.
- 4) A indução de resistência foi comprovada por análises bioquímicas com o aumento de proteínas, enzima beta-glucanase e diminuição de fenóis. Já nas plantas submetidas a infecção com o fungo, foi constatado aumento na quantidade de fenóis e diminuição na quantidade de proteínas e enzima beta-glucanase. As análises eletroforéticas demonstraram que em plantas infectadas desapareciam a atividade esterásica enquanto nas submetidas a tratamento, a atividade esterásica apresentou-se maior.
- 5) Plantas tratadas com o indutor, nas faixas de luz azul e vermelha apresentaram maior percentual de proteção em relação a plantas tratadas em faixa de luz verde e amarela, sendo que esta última apresentou apenas 50% de proteção.
- 6) O extrato das folhas de primavera demonstrou ser indutor de resistência local e sistêmica, permitindo assim, resposta de defesa semelhante a verificada na utilização do fungicida ópera.
- 7) As perspectivas para trabalhos futuros são realizar testes em campo utilizando o extrato das folhas da planta primavera e análises quanto as propriedades químicas (purificação) e identificação do princípio ativo existente no extrato responsável pelo mecanismo de ação.

6 REFERÊNCIAS

- ALCORN, J. L. The taxonomy of *Helminthosporium species*. **Ann. Rev. Phytopathol.**, Palo Alto, p. 37-56, 1988.
- ANURATHA, C.S.; ZEN, K.C.; COLE, K.C.; MEW, t.; MUTHUKRISHNAN, S. Induction of chitinases and beta-1-3-glucanase in *Rhizoctonia solani*-infected rice plants: Isolation of an infection-related chitinase cDNA clone. **Physiologia Plantarum**, 97: 39-46, 1996.
- ÁRIAS, G. Melhoramiento genético y producción de cebada cervecera em América Del Sur. Roma: **FAO**. 1995.
- AZEK, A. P.; SKRZYPEK, E.; ZUR, I. The change os heat emission and phenolic compound level in *Hordeum vulgare* e *Festuca pratensis* (Huds.) calli treated with *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. **Phytotoxina. J. Agron. Crop Sci.**, Berlin, V. 184, n. 1, p. 17-23, 2000.
- BACH, E. E. Utilização da eletroforese no estudo de alterações enzimáticas na interação planta-patógeno. In: **Encontro sobre aplicações da eletroforese na agropecuária**, 1, Nova Odessa, SP, Instituto da Zootecnia, p.1-4, 1989.
- BACH, E. E.; KIMATI, H.; LEME, A. C.; ALCANTARA, V. B. G.; ALCANTARA, P. B.; VEASEY, E. A. Biochemical changes in *Pennisetum purpureum* leaves infected with *Exserohilum turcicum*. **Summa Phytopathologica.**, Piracicaba, v.19, p.93-95, 1993.
- BACH, E. E. & KIMATI, H. Comparação morfológica e patogênica de *Exserohilum turcicum* isolado de milho, sorgo e capim-massambará. **Summa Phytopathologica**, v. 21, p. 134-139, 1995.
- BACH, E. E. Distinção morfológica e isoenzimática de *Bipolaris* spp. E *Dechslera tritici-repentis* do trigo: aspectos bioquímicos nas interações e indução de resistência, 1987, 132 f. **Tese de Doutorado** – Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 1997.
- BACH, E. E. & KIMATI, H. Purification and characterization of toxins from wheat isolates of *Drechslera tritici-repentis*, *Bipolaris bicolor* and *Bipolaris sorokiniana*. **Journal of Venemous Animals and Toxins**, Botucatu, v. 5, p. 184-199, 1999.
- BACH, E.E.; BARROS, B.C.; KIMATI, H. Induced resistance against *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici-repentis* in wheat leaves by xantham gum and heat-inactivate conidia suspension. **Journal of Phytopathology**, v.151, p.411-418, 2003.
- BACH, E.E.; BARROS, B.C.; KIMATI, H. Induced resistance against *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici-repentis* in wheat leaves by xantham gum and heat-inactivate conidia suspension. **Journal of Phytopathology**, v.151, p.411-418, 2003a.

- BACH, E. E.; RODRIGUES, E.; SILVA, A. O.; ANTONIAZZI, N. Patogenicidade e eletroforese de isolados de *Bipolaris sorokiniana* em trigo e cevada. XXIII REUNIÃO DE PESQUISA EM CEVADA, 2003, PASSO FUNDO. **Anais e Ata Embrapa**.23: 539-555, 2003b
- BARTINICK-GARCIA, S. Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. **Ann. Rev. Microbiol.**, USA, v.22, p.87-108, 1968.
- BENHAMOU, N.; LAFONTAINE, P. J.; NICOLE, M. Induction of systemic resistance of Fusarium crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. **Phytopathology**, v.84, p.1432-1444, 1994.
- BENHAMOU, N. Elicitor-induced plant defence pathways. **Tren. Plant Sci.**, Oxford, v.1, n.7, p.233-240, 1996.
- BERNARD, N. Remarques sur l'immunité chez les plantes. **Bul. Inst. Pasteur**, Paris, v. 7, 369 p., 1909.
- BERTOZZI, C & KIESSLING, L. L. Chemical glycobiology. **Science**. v.291, p.2357-2364, 2001.
- BOLCH, C.B.; DEWIT, J.M.; KUC, J. Elicitation of phytoalexins by arachidonic acid eicosapentaenoic acids: a host survey. **Physiological Plant Pathology**, New York, 25: 199-208, 1984.
- BOLLER, T. Induction of hydrolases as a defense reaction against pathogens. In: KEY, J. L.; KOSUGE, T. S. (Eds.). **Cellular and molecular biology of Plant Stress**. Alan R. Liss, New York, p. 247-262, 1985.
- BOLLER, T. Chemoperception of microbial signals in plant cells. **Annual Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** V. 46, p. 189-214, 1995.
- BRIGGS, D. E. **Fungal diseases**. London: Chapman & Hall, p. 351-364, 1978.
- BROWN, N. A. Experiments with paris daisy and rose to produce resistance to crown gall. **Phytopathology**, st. Paul. V. 13, p.87-99, 1923.
- BUSAM, G.; KASSEMAYER, H. H.; MATERN, U. Differential expression of chitinases in *Vitis vinifera* L. responding to systemic acquired resistance activators or fungal challenge. **Plant Physiology**, v.115, p.1029-1038, 1997.
- BUZI, A.; CHI, G.; DE SILLO, D.; MAGRO, P. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-S-methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid. **Journal of Phytopatology**, v.152, n.1, p.34-42, 24, 2004.

CARMO, I. R.; SILVA, A. O.; RODRIGUES, E.; ANTONIAZZI, N.; BACH, E. E. Patogenicidade de isolados do fungo *Bipolaris sorokiniana* em cultivares de cevada e trigo. **Conscientiae Saúde**. Revista de Departamento de Ciências da Saúde-Uninove, v. 2, p. 11-17, 2003.

CASTRO, O. L.; ANTONIAZZI, N.; FERRARI, V. & BACH, E. E. Uso da goma xantana como indutor de resistência em plantas de cevada (variedades AF 94135 e EMBRAPA 128) contra *Bipolaris sorokiniana*. In: **XXI Reunião anual da pesquisa de cevada**, 2, 2001, Guarapuava. Anais e ata... Guarapuava: EMBRAPA, p.559-567, 2001.

CASTRO, O. L.; ANTONIAZZI, N.; BACH, E. E. Efeito da goma xantana em planta de cevada (variedade Embrapa 129) no controle de *Bipolaris sorokiniana*. In: **Reunião Anual de Pesquisa de cevada**, 3, 2002, Passo Fundo. Anais e Ata... EMBRAPA, P.531-540, 2002.

CASTRO, O. L. & BACH, E. E. Increased production of β -1,3 glucanase and proteins in *Bipolaris sorokiniana* pathosystem treated using commercial xanthan gum. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 165-169, 2004.

CASTRO, T. A. M. G. C. & BACH, E. E. Eletroforese na agricultura. **Zootecnia**, Nova Odessa, v.31, p.73-88, 1993.

CHESTER, K. S. The problem of acquired physiological immunity in plants. **Q. Rev. Biol**, v. 8, p.275-324. 1933.

COSTA, J.M. & BOLERO, G.A. Stability analysis of grain yield in barley (*Hordeum vulgare*) in the US mid-Atlantic region. **Annals Applied Biology**, Wellesbourne, 139: 137-143, 2001.

CREELMAN, R.A.; TIERNEY, M.L.; MULLET, J.E. Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression. **Proceedings National Academia Science**, USA, 89: 4938-4941, 1992.

DANN, E. K.; MEUWLY, P.; METRAUX, J. P.; DEVERALL, B. J. The effect of pathogen inoculation or chemical treatment on activities of chitinases and β -1,3-glucanase and accumulation of salicylic acid in leaves of green bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Physiological and Molecular plant Pathology**, v.49, n.5, p.307-319, 1996.

DEVERAL, B. J.; SMITH, I.; MAKRI, S. Disease resistance in vicia faba and *Phaseolus vulgaris*. Netherlands, **Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 74, p. 137-148, 1968.

DIXON, R. A. & LAMB, C. J. Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol**, v. 41, p. 339-3967, 1990.

DODMAN, R. L & REINKE, J. R. A selective medium for determining the population of viable conidia of *Cochliobolus sativus* in soil. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 33, p. 2987-291. 1982.

DOLAN, T. E.; COHEN, Y.; COFFEY, m. d. Protection of *Persea* species against *Phytophthora cinnamoni* and *P. citricola* by prior inoculation with a citrus isolate of *P. parasitica*. **Phytophology**, St. Paul., v. 76, p. 194-196, 1986.

DONG, X. Genetic dissection os systemic acquired resistance. *Cur. O. Plant Biol.*, Amsterdam, v.4, p.309-314, 2001.

DU, L.C. & WANG, J. Activities and distribution of chitinase and beta-1-3-glucanase in rice induced by *Pyricularia aryzae*. **Acta Phytopathologica Sinica**, 18: 29-36, 1992.

EBRAHIM-NESBAT, F. & SCHOENBECK, F. Further electron microscopial studies induced resiatance of barley agaist *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. **Phytopathology Zeitschrift**, Berlim, v. 113, p. 219-230, 1985.

ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E. B. Induced resistance to anthracnose at a distance from the site the inducing interaction. **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, p.1110-1112, 1971.

ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E. B. Protection of beans against anthracnose by *Colletotrichum* species nonpathogenic on bean. **Phytopathology Zeitschrift**, Berlin, v. 86, p. 117-126, 1976a.

ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E. B. A comparative study of the development of compatible, incompatible and induced interactions between *Colletotrichum* species and *Phaseolus vulgaris*. **Phytopathology Zeitschrift**, Berlin, v. 87, p. 289-303, 1976b.

ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E. B. Effect of heat-treatment on the resistance of *Phaseolus vulgaris* to *Colletotrichum lindemuthianum* and *Colletotrichum lagenarium*. **Phytopathology Zeitschrift**, Berlin, v. 88, p. 43-52, 1976c.

ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E. B. Relation of phitoalexin accumulation to local and systemic protection of beam agaist anthracnose. **Phytopathology Zeitschrift**, Berlin, v. 89, p. 114-130, 1977.

EPA - United States Environmental Protection Agency. Messenger: A Promising Reduced Risk Biopesticide. **PESP** (Pesticide Environmental Stewardship Program) Update. v. 3, n. 1, 2000.

F-500. O Fungicida Premium. **Catálogo Basf**, 2005 ou www.basf.com.br

FELIPE, T.A. Indução de resistência em plantas de cevada utilizando o extrato de manjeriço contra *Bipolaris sorokiniana*. **Dissertação de Mestrado** - UMC - Biotecnologia, 2005, 74p.

FERRI, M.G. **Fisiologia Vegetal** 1. EDUSP, 350p. 1979.

FILIPPOVA, G. G & KASHEMIROVA, L. A. A culture medium for *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. **Mikologiya i Fitopatologiya**, v. 24, p. 333-335, 1990.

- FORCELINI, C. A. Trigo – a importância do tratamento de sementes. **Correio Agropecuário**, São Paulo, v.1, p.2-5, 1991.
- FRITIG, B.; HEITZ, T.; LEGRAND, M. Antimicrobial proteins in induced plant defense, **Current Opinion in Immunology**, v.10, p.16-22, 1998.
- FRY, S. C. Polymer-bound phenols as natural substrates of peroxidases, In: Greppin, H.; Penel, C. & Gaspar, T.; (ed). **Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases**. Universidade de Genève, p. 169-182, 1986.
- GUEDES, M.E.M. & BACH, E.E. Resistência induzida e proteínas totais em folhas de caféiro previamente tratadas com D-manose e seguidamente inoculadas com ferrugem alaranjada. **Broteria Genetica**, Portugal, 9: 93-100, 1988.
- GORLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BELTER, G.; HENGY, G.; BECKOVE, U.; KOGEL, K. H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E. KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance in barley. **Plant Cell**, Washington, v. 8, p. 629-643, 1996.
- GOTTSTEIN, H. D. & KUC, J. The induction of systemic resistance to anthracnose in cucumber by phosphates. **Phytopathology**. Saint Paul, v.79, p.271-245, 1989.
- GRAHAM, T. L. **Celular Biochemistry of phenylpropanoid responses of soybean to infection by *Phytophthora sojae***. New York. Marcel Decker, p.85-117, 1995.
- GUZZO, S. D.; BACH, E. E.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W.B.C. Crude exopolysaccharides (EPS) from *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, *X. campestris* pv. *campestris* and commercial xanthan gum as inducers of protection in coffee plants against *Hemileia vastatrix*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.139, p.119-128, 1993.
- GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, v. 144, n. 9/10, p.449-454, 1996.
- HAMMERSCHMIDT, R. Induced resistance: how do induced plants stop pathogens? **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v.55, p.77-84, 1999a.
- HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **The Plant Cell**, v. 8, p.1773-1791, 1996.
- HEALE, J. B. & SHARMAN, S. Induced resistance to *Botrytis cinerea* in root slices and tissue culture of carrots (*Daucus carota* L.). **Physiological Plant Pathology**, London, v. 10, p. 51-61, 1977.
- HEDRICK, S.A.; BELL, J.N.; BOLLER, T.; LAMB, C.J. Chitinase cDNA cloning and mRNA induction by fungal elicitor, wounding, and infection. **Plant Physiology**, Maryland, 86: 182-186, 1988.

HEIL, M. & BOSTOCK, R. M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defense. **Annals Botany**, v. 89, p. 503-512, 2002.

HOFGAARD, I. S.; ERGON, Å.; WANNER, L. A. and TRONSMO, A. M.. The Effect of Chitosan and Bion on Resistance to Pink Snow Mould in Perennial Ryegrass and Winter Wheat. **Journal of Phytopathology**, v. 153 (2), p. 108-119, 2004.

HWANG, B. K. & KIM, Y. J. Capsidiol production in pepper plants associated with age-related resistance to *Phytophthora capsici*. **Korean Journal of Plant Pathology**, Korean, v. 6, p. 193-200, 1990.

HWANG, B. K.; YOON, J. Y.; IBENTHAL, W. D.; HEITEFUSS, R. Soluble proteins, esterases and superoxide dismutase in stem tissue of pepper plant in relation to age-related resistance to *Phytophthora capsici*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 132, p. 129-138, 1991.

HWANG, B. K.; SUNWOO, J.; KIM, Y. J.; KIM, B. S. Accumulation of β -1,3-glucanase and chitinase isoforms, and salicylic acid in the DL- β -amino-n-butiric acid-induced resistance response of pepper stems to *Phytophthora capsici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, New York, v. 51, n. 5, p. 305-322, 1997.

ISHII, H.; TOMITAY, Y.; HORIO, T.; NARUSAKA, Y.; NAKASAWA, Y.; NISHIMURA, K. & IWAMOTO, S. Induced resistance of Acibenzolar-S-Methyl (CGA 245704) to cucumber and Japanese pear diseases. **Eur. J. Plant. Pathol.**, Berlin, v. 105, n.1, p.77-85, 1999.

JEFFREY, S.W. & HUMPHREY, G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a,b,c in higher plants, algae and natural phytoplankton. **Biochemistry and Physiology Pflanzen**, Berlin, v. 167, p. 191-194, 1975.

JOLY, A.B. **Botânica : Introdução a taxonomia vegetal** : 11ª edição. São Paulo : Editora Nacional, 1993.

JORGENSEN, J. H.; BECH, C.; JENSEN, J. Reaction of European barley varieties to a population of net blotch fungus. **Plant breed.**, New York, v.119, n.1, p.34-43, 2000.

KARN, J. F. & KRUPINSKY, J. M. Chemical composition of interaction wheatgrass affected by foliar diseases and stem smut. **Phytopathology**, Saint Paul, v.73, p.1152-1155, 1983.

KEEN, N. T. Specific elicitors of plant phytoalexin production: determinants of race specificity in pathogens? **Science**, USA, v.187, p.74-75, 1975.

KESSMANN, H.; STAUB, T.; LIGON, J.; OOSTENDORP, M.; RYALS, J. Activation of systemic acquired disease resistance in plants. **European Journal of Plant Pathology**, Netherlands, v. 100, p. 359, 1994.

KIM, C.; BLEE, K. A.; ROBINS, J.; ANDERSON, A. J. Oxycom TM under field and laboratory conditions increases resistance responses in plants. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, n.1, p.129-136, 2001.

KLEMENT, Z.; FARKAS, G. L.; LOVREKOVICH, L. Hypersensitive reactions induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. **Phytopathology**, v. 54, p. 474-7, 1963.

KOGANEZAWA, H.; SATO, T.; SASAYA, T. Effects of probenazole and saccharin in symptom appearance of tobacco mosaic virus in tobacco. **Annals of Phytopathological Society of Japan**. v.64, p.80-84, 1998.

KOMBRINK, E. & HAHLBROCK, K. Responses of cultures parsley cells to elicitors from phytopathogenic fungi. Timing and dose dependency of elicitor induced reactions. **Plant Physiology**, v.81, n.1, p.216-221, 1986.

KOMBRINK, E. & SCHMELZER, E. The hypersensitive response and role in local and systemic disease resistance. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 69-78, 2001.

KUC, J.; SCHOCKLEY, G.; KEARNEY, K. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 7, p. 195-199, 1975.

KUC, J. Induced immunity to plant disease. **BioScience**, v. 32, p. 854-60. 1982.

KUC, J. Plant immunization and its applicability for disease control. In: Chet, k. (ed). Innovative approaches to plant disease control. New York, **John Wiley & Sonns**, p.255-274, 1987.

KUC, J. Non pesticide control of plant disease by immunization. In: Lyr, H. & Potter, c. (ed). Proceeding of the 10th International Symposium on Systemic Fungicides and Antifungal Compounds. **Ullmer Publication**, Stuttgart, p.225-237, 1993.

KUC, J. Systemic induced resistance. In: WALTERS, D. R.; SCHOLE, J. F.; BRYSON, R. J.; PAUL, N. D.; MICROBERTS, N. (Ed) Aspects of applied biology: physiological responses of plants to pathogens. Dundee: **Association of Applied Biologists**, v. 42, p.235-242, 1995.

KUC, J. Development and future direction of induced systemic resistance in plants, *Crop Protection*, **Kentucky**, v.19, p.859-861, 2000.

KUC, J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application, **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 7-12, 2001.

KULKARNI, S.; SIDDARAMAIAH, A. L.; PRASAD, K. S. K. A selective medium for isolation of *Drexlhlera satiyum* (Pam. King & Bakke) Subram. & Jain. From soil. **Current Research**, v. 8, p. 134-135, 1978.

KUTSNER, B.; HELLWALD, K. H.; BUCHENAUER, H. Systemic induction of resistance in *Phaseolus vulgaris* L., to tobacco necrosis virus (TNV) by *Uromyces phaseoli* (Pres). **Journal of Phytopathology**, Berlim, v. 138, p. 9-20, 1993.

LAKIEW, B. Exploiting the diversity if barley landraces in Etiópia. **General Research Crop Evolution**, Berlin, 44: 109-116, 1997.

LARGE, E. C. Growth stages in cereal: Illustration of the Feekes scale. **Plant Pathology**, New York, v. 3, p. 129, 1954.

LAWTON, M.A.; DIXON, R.A.; HAHLBROCK, K.; LAMB, C.J. Rapid induction of the synthesis of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase in elicitor-treated plant cells. **European Journal Biochemistry**, Berlin, 129: 593-601, 1983.

LEITE, B.; RONCATO, L. D. B.; PACHOLATI, S. F.; LAMBIS, M. R. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. **Ver. Anu. Patol. Plan.** V. 5, p. 235-80. 1997.

LEVER, M. A. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. **Analytical Biochemistry**, Academic Press., v. 47, p. 273-279, 1972.

LIMA, M. I. P. M.; PORTELLA, J. A.; ARIAS, G. Resultados iniciais de uso de estudo de determinação de fungos de sementes de cevada em função de épocas de colheita. In: **XXI Reunião anual da pesquisa de cevada**, 2, 2001., Anais e ata...: EMBRAPA, p. 531-536, 2001.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras : Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil** : volume 2. São Paulo : Editora Plantarum, 1998.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil : arbustivas, herbáceas e trepadeiras** : 2ª edição. São Paulo : Editora Plantarum, 1999.

LOWRY, O. H.; ROSENBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; BANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

LUZ, W. C. Diagnose das principais doenças da cevada no Brasil. Passo Fundo: **EMBRAPA-CNPT**, 1982. 24p. (EMBRAPA-CNPT. Circular Técnica,2).

MANANDHAR, H. K.; JORGENSEN, H. J. L.; MATHUR, S. B.; SMEDEGAARD-PETERSEN, V. Resistance to rice blast induced by ferric chloride, dipotassium hydrogen phosphate and salicylic acid. **Crop Prot.**, Kentucky, v.17, p.323-329, 1998.

MANANDHAR, H. K.; MATHUR, S. B.; SMEDEGAARD-PETERSEN, V.; THORDAL-CHRISTENSEN, H. Accumulation of transcripts for pathogenesis-related proteins and peroxidases in rice plants triggered by *Pyricularia oryzae*, *Bipolaris sorokiniana* and *U.v. light*. **Physiol. Mol. Plant Pathol.**, New York, v. 55, p. 289-295, 1999.

MATHRE, D. E. Compendium of barley diseases. 2 ed. St. Paul: American **Phytopathological Society**, 78p, 1985.

METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 13-18, 2001.

- MINELLA, E. SILVA, M. S.; ÁRIAS, G. Potencial de rendimento e características agronômicas dos cultivares de cevada cervejeira recomendada para região Sul do Brasil. **Circular Técnica**. Passo Fundo-RS: Embrapa-Trigo. 1996.
- MINELLA, E. Desafios e potencialidades do melhoramento genético de cevada no Brasil. In: **XXI Reunião Anual da Pesquisa de Cevada**, 2., 2001.; Anais a ata...; Embrapa, p. 31-40, 2001.
- MINELLA, E. Começa a colheita da cevada. Via Trigo (**Informativo do Centro Nacional de Pesquisa em trigo**). Ano 1, n.7 (28 de setembro de 2004), Passo fundo, RS., 2004.
- MOLINA, A.; HUNT, D. M.; RYALS, J. A. Impaired fungicids activity in plants blocked in disease resistance signal transduction. **The Plant Cell**, v.10, n.11, p.1903-1914, 1998.
- MORAES, M. G. Mecanismo da resistência sistêmica adquirida em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 6, p.261-284, 1998.
- MORAES, W. Bioquímica de la resistência: um control alternative de la roya del cafeto. In: Becker-Raternik, S.; Moraes, W. B. C.; Quinajico, M. (Ed.) La Roya Del cafeto conocimiento y control. **DSE-GTZ**, Alemanha, p. 65-187, 1991.
- MOURA, J. A. B. O controle das principais doenças no trigo. **Correio Agrícola**, São Paulo, v.2, p.712-715, 1987.
- MUCHARROMAH, E. & KUC, J. Oxalate and phosphates induce systemic resistance against diseases caused by fungi, bacteria and viruses. **Crop Prot.**, Kentucky, v.10, p. 265-270, 1991.
- MUCHOVEJ, J. J.; MUCHOVEJ, R.M.C.; RIBEIRO-NESIO, M. L. Taxonomia de *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*. **Fitopatol. Bras.**, Brasília, v.13, p. 211-223, 1988.
- NILSEN, K. N.; HODGES, C. F.; MADSEN, J. P. Pathogenesis of *Drechslera sorokiniana* leaf spot on progressively older leaves of *Poa pratensis* as influenced by photoperiod and light quality. **Physiological Plant Pathology**. New York, v. 15, p. 171-176, 1979.
- OKU, H. Host-parasite relation in Helminthosporium leaf spot disease of rice plant from the viewpoint of biochemical nature of the pathogen. In: Z. Kiraly, G. Ubrizsy (Eds). **Host-parasite relations in plant pathology**, New York, p. 183-191, 1964.
- OKU, H. **Plant pathogenesis and disease control**. London, CRC Press, 1994.
- OKUDA, H. Esterases. In: Kuby, S.A. (ed.), **A study of enzymes**. CRC Press, pp.563-577, 1991.
- OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRITRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.19-28, 2001.
- ÓPERA. Padrão de controle. **Catálogo Basf**, 2005 ou www.basf.com.br

PAN, S. Q.; YE, X. S.; KU'Č, J. Association of β -1,3-glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mould in tobacco induced by stem injection with tobacco mosaic virus. **Physiological and Molecular Pathology**, v. 39, p. 25-39, 1991.

PASCHOLATI, S. F.; MORAES, W. B. C.; FIQUEIREDO, M. B.; RODRIGUES, A. R. Induced protection in melon plants against *Mycosphaerella melonis* by prior inoculations with *Helminthosporium carbonum* or heat-inactivated *M. melonis*. **Fitopatologia brasileira**, Brasilia, v. 11, 507-514, 1986.

PICININI, E. C. O controle de uma doença em potencial. **Correio Agrícola**, São Paulo, n.1, p.7-9, 1990.

PIETERSE, C. M. J.; TON, J.; VAN LOON, L. C. Cross-talk between plant defense signaling pathways: boots or burden? **Ag. Biotech**, v. 3, p.1-8, 2001a.

RASKIN, I. Role of salicylic in plants. **Annual Review Plant Physiology Molecular Biology**, USA, 43: 439-463, 1992.

RAY, J. Cultures et formes atténuées des maladies cryptogamiques des végétaux. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de L'Academie des Sciences**, Paris, v. 133, p.307-309, 1901.

REIS, E. M. Selective médium for isolating *Cochliobolus sativus* from soil. **Plant Disease**, v. 67, p. 68-70, 1983.

REIS, E. M. **Patologia de sementes de cereais de inverno**. São Paulo, SP. CNDA. 1987.

REIS, E. M.; FERNANDES, J. M. C.; PICININI, E. C. Estratégia para o controle de doenças do trigo. Passo Fundo: **Embrapa – CNPT**, 50 p., 1988.

REIS, E. M.; REIS, A. C.; CASA, R. T.; BLUM, M. M. C. Comparison of methods to detect leaf and head blighting fungi in small grain seeds. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 364-367, 1999.

REUVENI, M.; AGAPRPV, V.; REUVENI, R. Controlling powdery mildew caused by *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber by foliar sprays of phosphatase and potassium salts. **Crop Prot.**, Kentucky, v. 15, p. 49-53, 1996.

REUVENI, R. & BOTHMA, C. G. The relationship between peroxidase activity and resistance to *Sphaeroteca fuliginea* in melons. **Phytopathol**, Z., Berlin, v.114, p.260-276, 1985.

REUVENI, R. & REUVINI, M. Foliar-fertilizer therapy a concept in integrated pest management. **Crop Prot.**, Kentucky, v. 17, p.111-118, 1998.

- ROBY, D.; TOPPAN, A.; ESQUERRÉ4-TUGAYÉ, M. T. Systemic induction of chitinase activity and resistance in melon plants upon fungal infection or elicitor treatment. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 33, p. 409-417, 1988.
- RODRIGUES, E. L.; MILANEZ, A.; BACH, E. E. Utilização da alicina como indutor de resistência em plantas de cevada (variedade EMBRAPA 128) contra *Bipolaris sorokiniana*. In: **Reunião Anual da Pesquisa de cevada**, 22. 2002, Passo Fundo. Anais e ata... Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002, p. 519-530. 2002.
- ROULIN, S.; BUCHALA, A.J. The induction of β -1,3-glucanase and other enzymes in groundnut leaves infected with *Cercospora arachidicola*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 46, p. 471-489, 1995.
- RYALS, J. A.; NEUENSCHWANDER, U. H.; WILLITS, M. G.; MOLINA, A.; STEINER, H. Y.; HUNT, M. D. Systemic acquired resistance. **Plant Cell**, v. 8, p. 1809-19. 1996.
- SANTOS, H. P.; REIS, E. M. & PEREIRA, L. R. Rotação de culturas. XVII. Efeitos no rendimento de grãos e nas doenças do sistema radicular do trigo de 1980 a 1987. **Pesq. Agrop. Bras.**, Brasília, v. 25, p.1627-1635, 1990.
- SCHRODER, M.; HAHLBROCK, K.; KOMBRINK, E. Temporal and spatial patterns of β -1,3-glucanase and chitinase induction in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. **Plant Journal**, v. 2, p.161-172, 1992.
- SEGOLIN, L.P.; BACH, E.E.; GROSSO, G.C.; ALCANTARA, V.B.G. & ALCANTARA, P.B. Proteção induzida em variedades de capim-elefante suscetível a *Exserohilum turcicum*. **Summa Phytopathologica**, XX Congresso Paulista de Fitopatologia, p.109, 1997.
- SEQUEIRA, I. The acquisition of systemic resistance by prior inoculation. In: Daly, J. M. & Uritani, i. **Recognition and specificity in plant host-parasite interactions**. p. 231-251, 1979.
- SEQUEIRA, L. Mechanisms of induced resistance in plants. **Ann. London**, v. 37, p. 51-79, 1983.
- SHOEMAKER, R. A. Nomenclature of *Drecheslera teres* and *Bipolaris sorokiniana* grass parasites segregated from "*Helminthosporium*". Canadian J. **Botany**, Ottawa, v. 37, p. 879-887, 1959.
- SILVA, A.A.O. Efeito do extrato de gengibre (*Zingiber officinale*) em plantas de cevada Embrapa 128 contra *Bipolaris sorokiniana*. **Dissertação de Mestrado** – UMC - Biotecnologia, 2005, 60p.
- SILVA, M. S. & MINELLA, E. Sterility in brazilian malting barley cultivar and lines. In: SCOLES, G. ROSSNAGEL, B.; FAIBAIRN, C. (eds.). Barely Genetics VII. Saskatoon, **Proceedings 5th International Oat Conference and 7th International Barley Genetics Symposium**, Poster Sessions. Saskatoon-SK, Canada, University of Saskatchewan, University Extension Press. 1996.

SMITH, E. F. Bacteria in relation to plant diseases. Washington, **Carnegie Institution of Washington**, v. 2, 1911.

SRIVASTAVA, S. K. A. Peroxidase and poly-phenol oxidase in *Brassica juncea* plants infected with *Macrophomina phaseolina* (Tassai) Goid. And their implication in disease resistance. **Journal Phytopathol.**, Berlin, v.120, p. 249-254, 1987.

STEGEMANN, H. & BURGERMEISTER, W. Gel-elektrophorese und isoelektrische fokussierung. **BBA**. Braunschwig, 1987.

STERMER, B.A.; HAMMERSCHMIDT, R. Association of heat-shock induced resistance to disease with increased accumulation of insoluble extensin and ethylene synthesis. **Physiology and Molecular Plant Pathology**, New York, 31: 453-461, 1987.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235-270, 1997.

STROBEL, N. E.; JI, C.; GOPALAN, S.; KU'C, J. A.; HE, S. Y. Induction of systemic acquired resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 61 HrpZ_{pss} protein. **The Plant Journal**, v. 9, n. 4, p. 431-440, 1996.

SWAIN, R. & HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. L. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 10, p. 63-68, 1959.

TONON, J. Cevada: As principais doenças fúngicas. **Correio Agrícola**, São Paulo, p.12-15, 1992.

TOSI, L.; LUIGETTI, R.; ZAZZERINI, A. Induced resistance against *Plasmopara helianthi* in sunflower plants by DI-beta-amino-n-butyric acid. **J. Phytopathology**, 146: 295-299, 1998.

TURQUETI, A. A.; NONOHAY, J. S.; MATSUMURA, A. T.; WINGE, H. Testes in vitro de antagonismo entre *Trichoderma* sp. e *Bipolaris sorokiniana* da cevada. In: XXI Reunião anual da pesquisa de cevada, 2, 2001,. Anais e ata...: **EMBRAPA**, p. 457-463, 2001.

VAN HOOFF, A.; LEYMAM, J.; SCHEFER, H. J.; WALTON, J. D. A single beta-1,3-glucanase secreted by the maize pathogen *C. carbonum* acts by an exolytic mechanism. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 39, p. 259-267, 1991.

VAN LOON, L. C.; PIERPOINT, W. S.; BOLLER, T. L.; CONEJERO, V. Recommendations for naming plant patogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.12, n. 3, p. 245-264, 1994.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H.; PIETERSE, C. M. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Ann. Rev. Phytopathology**, v. 36, p. 453-483, 1998.

VIEIRA, J. C. Microflora da semente de cevada (cultivares Antárctica 04 e FM 4004) e influência de sementes manchadas (cv. FM 404) na qualidade do malte. 77 f. **Dissertação de Mestrado** - Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1985.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)