

INSTITUTO BIOLÓGICO
PÓS-GRADUAÇÃO

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MARACUJAZEIRO
AMARELO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) CONTRA
Xanthomonas axonopodis pv. *passiflorae***

MARCELA CASTILHO BORO

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade Vegetal, Segurança Alimentar e o Ambiente

Orientador: Luís Otávio Saggion Beriam

Co-orientadora: Sylvia Dias Guzzo

São Paulo
2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.



SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO BIOLÓGICO

Pós-Graduação

Av. Cons. Rodrigues Alves 1252
CEP 04014-002 - São Paulo – SP
pg@biologico.sp.gov.br



FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do candidato: Marcela Castilho Boro

**Título: INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MARACUJAZEIRO AMARELO
(*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) CONTRA *Xanthomonas axonopodis*
pv. *passiflorae*.**

Orientador: Luís Otávio Beriam

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade Vegetal, Segurança Alimentar e o Ambiente

Aprovada em:

Banca Examinadora

Assinatura:

Prof. Dr.: Luís Otávio Saggion Beriam

Instituição: Instituto Biológico - IB

Assinatura:

Profa. Dra.: Flávia Rodrigues Alves Patrício

Instituição: Instituto Biológico - IB

Assinatura:

Dra.: Eliane Aparecida Benato Rodrigues da Silva

Instituição: Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL

INSTITUTO BIOLÓGICO
PÓS-GRADUAÇÃO

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MARACUJAZEIRO
AMARELO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) CONTRA
Xanthomonas axonopodis pv. *passiflorae***

MARCELA CASTILHO BORO

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico, da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade Vegetal, Segurança Alimentar e o Ambiente

Orientador: Luís Otávio Saggion Beriam

Co-orientadora: Sylvia Dias Guzzo

São Paulo
2009



SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO BIOLÓGICO

Pós-Graduação

Av. Cons. Rodrigues Alves 1252
CEP 04014-002 - São Paulo – SP
pg@biologico.sp.gov.br



FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do candidato: Marcela Castilho Boro

**Título: INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MARACUJAZEIRO AMARELO
(*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) CONTRA *Xanthomonas axonopodis*
pv. *passiflorae*.**

Orientador: Luís Otávio Beriam

Dissertação apresentada ao Instituto Biológico da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios para obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de Concentração: Sanidade Vegetal, Segurança Alimentar e o Ambiente

Aprovada em:

Banca Examinadora

Assinatura:

Prof. Dr.: Luís Otávio Saggion Beriam

Instituição: Instituto Biológico - IB

Assinatura:

Profa. Dra.: Flávia Rodrigues Alves Patrício

Instituição: Instituto Biológico - IB

Assinatura:

Dra.: Eliane Aparecida Benato Rodrigues da Silva

Instituição: Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Núcleo de Informação e Documentação - Biblioteca
Instituto Biológico
Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo

Boro, Marcela Castilho

Indução de resistência em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)
contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* / Marcela Castilho Boro – São
Paulo, 2009.

Dissertação (Mestrado) Instituto Biológico. Programa de Pós-Graduação.
Área de concentração: Sanidade Vegetal, Segurança Alimentar e o Ambiente.
Linha de pesquisa: Manejo integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e
urbanos.

Orientador: Luís Otávio Saggion Beriam

Co-orientadora: Sylvia Dias Guzzo

Versão do título para o inglês: Induced resistance in plants of passion fruit (*Passiflora
edulis* f. *flavicarpa*) against *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

1. Proteína harpina 2. Acibenzolar-S-metil 3. *Saccharomyces cerevisiae* 4.
Glicoproteínas 5. Indutores de resistência 6. Tratamento de sementes I. Beriam,
Luís Otávio Saggion II. Guzzo, Sylvia Dias III. Instituto Biológico (São Paulo).
Programa de Pós-Graduação IV. Título

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por toda força, coragem, esperança e capacidade de superação que me foram concedidas em vários momentos durante a execução deste trabalho e durante toda minha vida.

Ao Dr. Mario Barreto Figueiredo (in memoriam) pelo exemplo, formação e ensinamentos que me fizeram adentrar na área de fitopatologia.

Aos meus orientadores, Dr. Luís Otávio Saggion Beriam e Dra. Sylvia Dias Guzzo, pela orientação, ensinamento e apoio, para a realização deste trabalho.

Aos meus pais, João e Vera, e aos familiares por todo carinho, incentivo e por sempre acreditarem em minha capacidade.

Ao meu namorado Fábio por todo auxílio, paciência, compreensão e amor.

A minha grande amiga Débora por sempre estar pronta a ajudar.

Ao todos os amigos do laboratório de bioquímica fitopatológica, Silvia, Erica, Diogo, Patrícia, Cleusa e Ricardo, pelo apoio e ajuda.

E as minhas companheiras e amigas de curso Clarice e Cristiane.

Muito obrigada!

BORO, M. C. INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM MARACUJAZEIRO AMARELO (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) CONTRA *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. São Paulo, 2009. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

RESUMO

O maracujá amarelo é uma das espécies de *Passiflora* mais importantes comercialmente, podendo ser consumido tanto *in natura* como para a produção de suco concentrado. Além de problemas de comercialização e de mercado, o maracujazeiro é suscetível a um grande número de pragas e doenças de etiologia fúngica, viral e bacteriana, sendo a principal delas a mancha bacteriana ocasionada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Uma possível medida de controle desta doença pode ser a ativação dos mecanismos de defesa inerentes das plantas, através da aplicação de produtos bióticos ou abióticos. O presente trabalho teve por objetivo estudar as formas de controle da bacteriose do maracujazeiro amarelo através da avaliação do potencial de diversos agentes bióticos como isolados e produtos à base de *Bacillus thuringiensis*, glicoproteínas (GP) extraídas de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* e de *X. campestris* pv. *campestris*, polissacarídeos de *Saccharomyces cerevisiae*, a proteína harpina e o indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM). Os experimentos foram realizados em condições de casa de vegetação no Instituto Biológico, em São Paulo, SP, e os indutores foram aplicados pela aspersão das plantas ou por imersão das sementes. A inoculação de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* foi realizada através de ferimentos nas folhas, 72 h após o tratamento das plantas e, nos ensaios com sementes, quando as plântulas apresentavam quatro folhas verdadeiras. Os resultados indicaram que o ASM conferiu proteção de 67% quando aplicado na concentração de 12,5 µg mL⁻¹ e, na concentração 100 µg mL⁻¹, proporcionou o aumento dos sintomas da bacteriose. A proteína harpina, quando aplicada por aspersão, proporcionou um aumento dos sintomas no maracujazeiro amarelo de até 108%. Os produtos comerciais à base de *B. thuringiensis*, seus isolados, e seus respectivos metabólitos, não proporcionaram proteção ao

maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. As GP extraídas das duas espécies de *Xanthomonas*, na concentração de 97,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$, protegeram em até 72% o maracujazeiro amarelo contra a bacteriose. O extrato da levedura *S. cerevisiae* (200 Eq $\mu\text{g de manose mL}^{-1}$) conferiu proteção de 54% nas folhas. Os tratamentos das sementes com ASM e a harpina, aplicados separadamente, conferiram proteção nas plântulas de até 90% e 71%, respectivamente, contra a bacteriose. Os tratamentos das sementes com ASM e a harpina, aplicados separadamente, aumentaram a germinação destas e proporcionaram um maior crescimento das plântulas. Os resultados permitem concluir que o ASM, as glicoproteínas e o extrato de *S. cerevisiae* podem ser usados como possíveis indutores de resistência em plantas de maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae* e que o ASM e a harpina podem ser utilizados no tratamento das sementes de maracujazeiro amarelo para protegerem as plântulas contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

Palavras-chave: proteína harpina, acibenzolar-S-metil, *Saccharomyces cerevisiae*, glicoproteínas, indutores de resistência, tratamento de sementes.

BORO, M. C. INDUCED RESISTANCE IN PLANTS OF PASSION FRUIT (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) AGAINST *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. São Paulo, 2009. Dissertation (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

ABSTRACT

The yellow passion fruit is one of the most important commercial species of *Passiflora* that can be consumed “in natura” or is employed in the production of concentrate juice. Besides the problems with commercialization and market, the passion fruit is susceptible to several pests and diseases of fungal, viral and bacterial etiology. Among these disease, the most important is the bacterial leaf spot caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. A possible way to control this disease is the natural defense mechanisms activation in the plants, through the application of biotic or abiotic products. This work aimed to study the potential for control of bacterial leaf spot using different biotic agents such as isolates and products based on *Bacillus thuringiensis*, glycoproteins (GP) extracted from *X. axonopodis* pv. *passiflorae* and from *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, polysaccharides of *Saccharomyces cerevisiae*, the harpin protein and the resistance inducer acibenzolar-S-methyl (ASM). The experiments were carried out in a greenhouse at Instituto Biológico, in São Paulo, SP. The inducers were applied by spraying in the plants and by immersion of the seeds. The inoculation with *X. axonopodis* pv. *passiflorae* was carried out through of leaf wounds, 72 h after the treatment of the plant with the inducers and in the trials with seeds, when the seedlings had four true leaves. The results revealed that ASM conferred a protection of 67% at concentration of 12.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and, in concentration of 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, increase in the bacterial symptoms. The harpin protein, when sprayed, provided an increase in plant symptoms by 108%. The products based on *B. thuringiensis*, the *B. thuringiensis* isolate, and their respective metabolites, did not confer any protection to the plant against *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. The GP isolated from the two *Xanthomonas* species, in concentration of 97.93 mg mL^{-1} , protected by 72% the plant against the bacteriosis. The

yeast extract of *S. cerevisiae* provided protection around 54% in the plants, in concentration of 200 µg Eq of mannose mL⁻¹. The seeds treatment with ASM and the harpin protein, applied separately, provided protection of the seedlings by 90% and 71%, respectively, against the bacteriosis. The seeds treatment with ASM and the harpin protein, applied separately, increased the seed germination and provided a greater growth of the seedlings. The results of this study showed that ASM, the glycoproteins and yeast extract of *S. cerevisiae* can be used as possible resistance inducer in yellow passion fruit against *X. axonopodis* pv. *passiflorae* and ASM and the harpin protein can be used in seeds treatment of yellow passion fruit to protect the seedlings against *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

Keywords: harpin protein; acibenzolar-S-methyl, *Saccharomyces cerevisiae*, glycoproteins, plant resistance inducers, seed treatment.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Lesão da mancha bacteriana em maracujazeiro amarelo causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*39
- FIGURA 2 - Efeito do tratamento foliar com harpina na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento). (A) Folhas tratadas com harpina na concentração de 0,003 mg mL⁻¹. (B) Folhas tratadas com água deionizada.....41
- FIGURA 3 - Efeito do tratamento foliar com ASM na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento). (A) Folhas tratadas com ASM na concentração de 100 µg mL⁻¹. (B) Folhas tratadas com água deionizada.....44
- FIGURA 4 - Efeito do tratamento foliar com ASM na indução de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (3º experimento). (A) Folhas tratadas com água deionizada. (B) Folhas tratadas com ASM na concentração de 12,5 µg mL⁻¹. (C) Folhas acima das tratadas com ASM na concentração de 12,5 µg mL⁻¹47
- FIGURA 5 - Efeito do tratamento foliar com o produto à base de *B. thuringiensis*, Dimy Pel®, na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A) Folhas tratadas com Dimy Pel® na concentração de 5 mg mL⁻¹. (B) Folhas tratadas com água deionizada48
- FIGURA 6 - Efeito do tratamento foliar com GPs de *Xanthomonas* spp. na indução de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento). (A) Folhas tratadas com GP de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* na concentração de 97,93 µg de SAB mL⁻¹. (B) Folhas tratadas com GP de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* na concentração de 97,93 µg de SAB mL⁻¹. (C) Folhas tratadas com água deionizada.....53
- FIGURA 7 - Efeito do tratamento foliar com Lev (*Saccharomyces cerevisiae*) na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento). (A) Folhas tratadas com Lev na concentração de 200 Eq µg manose mL⁻¹. (B) Folhas tratadas com água deionizada.....55

- FIGURA 8 - Efeito do tratamento foliar com Lev (*Saccharomyces cerevisiae*) na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento). (A) Folhas tratadas com Lev na concentração de 200 Eq μg manose mL^{-1} . (B) Folhas acima das tratadas com Lev na concentração de 200 Eq μg manose mL^{-1} . (C) Folhas tratadas com água deionizada.....57
- FIGURA 9 - Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo com ASM e harpina na indução de resistência em plântulas de maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A e B) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com ASM. (C e D) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com harpina. (E) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com água deionizada.....59
- FIGURA 10- Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo e, posteriormente, das plântulas com ASM e harpina na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A e B) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com ASM. (C e D) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com harpina. (E) Folhas provenientes de sementes tratadas com água deionizada.....61
- FIGURA 11- Efeito do tratamento das sementes com harpina na germinação e no crescimento de plântulas de maracujazeiro amarelo. (A) Plântulas provenientes de sementes tratadas com água deionizada. (B e C) Plântulas provenientes de sementes tratadas com harpina.....62
- FIGURA 12- Efeito do tratamento das sementes com o ASM na germinação e no crescimento de plântulas de maracujazeiro amarelo. (A) Plântulas provenientes de sementes tratadas com água deionizada. (B e C) Plântulas provenientes de sementes tratadas com o ASM.....63
- FIGURA 13- Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo com ASM e harpina na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A e B) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com ASM. (C e D) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com harpina. (E) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com água deionizada65
- FIGURA 14- Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo e, posteriormente, das plântulas com ASM e harpina na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A e B) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com ASM. (C e D) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com harpina. (E) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com água deionizada.....67
- FIGURA 15- Efeito do ASM, nas concentrações de 50, 100 e 200 μg mL^{-1} , no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*69

FIGURA 16- Efeito da harpina, nas concentrações de 0,003 e 0,0075 mg mL⁻¹, no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*70

FIGURA 17- Efeito do extrato de levedura puro (*Saccharomyces cerevisiae*), nas concentrações de 200, 400 e 800 Eq. µg de manose mL⁻¹, no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* 71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Efeito do tratamento foliar com harpina (Messenger®) na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (1º experimento)	40
TABELA 2 - Efeito do tratamento foliar com harpina (Messenger®) na indução local e sistêmica de resistência em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (2º experimento)	42
TABELA 3 - Efeito do tratamento foliar com ASM (Bion®) na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (1º experimento)	43
TABELA 4 - Efeito do tratamento foliar com ASM (Bion®) na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (2º experimento)	45
TABELA 5 - Efeito do tratamento foliar com ASM (Bion®) na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (3º experimento)	46
TABELA 6 - Efeito do tratamento foliar com os produtos Dimy Pel® e Dipel PM® à base de <i>Bacillus thuringiensis</i> , na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	48
TABELA 7 - Efeito do tratamento foliar com <i>Bacillus thuringiensis</i> , isolados dos produtos Dimy Pel® e Dipel PM®, na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	49
TABELA 8 - Efeito do tratamento foliar com os metabólitos produzidos pelos <i>Bacillus thuringiensis</i> , isolados dos produtos Dimy Pel® e Dipel PM®, na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	50
TABELA 9 - Efeito do tratamento foliar com glicoproteínas (GPs) extraídas de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (Xa 2267) e GPs extraídas de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xa 2150) na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (1º experimento)	51

TABELA 10- Efeito do tratamento foliar com Glicoproteínas (GPs) extraídas de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (Xa 2267) e GPs extraídas de <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> (Xa 2150) na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (2º experimento).....	52
TABELA 11- Efeito do tratamento foliar com a levedura (Lev) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (1º experimento).....	54
TABELA 12- Efeito do tratamento foliar com a levedura (Lev) <i>Saccharomyces cerevisiae</i> na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (2º experimento).....	56
TABELA 13- Efeito do tratamento de sementes com o ASM e a proteína harpina, na indução de resistência em plântulas de maracujazeiro amarelo a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (1º experimento).....	58
TABELA 14- Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo e, posteriormente, das plântulas com o ASM e a proteína harpina, na indução de resistência a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (1º experimento).....	60
TABELA 15- Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo, com o ASM e a proteína harpina, na indução de resistência a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (2º experimento)	64
TABELA 16- Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo e, posteriormente, das plântulas com o ASM e a proteína harpina, na indução de resistência a <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (2º experimento).....	66
TABELA 17- Efeito direto (<i>in vitro</i>) do acibenzolar-S-metil (ASM) sobre o desenvolvimento de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (Xa).....	68
TABELA 18- Efeito direto (<i>in vitro</i>) da proteína harpina sobre o desenvolvimento de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (Xa).....	70
TABELA 19- Efeito direto (<i>in vitro</i>) do Lev (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) sobre o desenvolvimento de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> (Xa)	71

ABREVIATÖES

AS - ácido salicílico
ASM - Acibenzolar –S-metil (ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7 carbotióico)
BABA - ácido β -aminobutírico
DNA - Ácido Dexorribonucleico
Eq - equivalente
Hrp - ‘Hipersensitive response and pathogenicity’
INA - ácido-dicloroisonicotínico
ISR - “Induced Systemic Resistance”
NA - Nutriente Agar
SAR - “Systemic Acquired Resistance”
UFC - Unidade Formadora de Colônias
BTH - benzotiadiazole
i.a. – ingrediente ativo
TCV – “Turnip crinkle virus”
MPC - Mancha Preta dos Citros
BD - Batata Dextrose
EP – Erro padrão
CV – coeficiente de variação
Lev - extrato de levedura bruto
DIC - delineamento inteiramente casualizado
%P – porcentagem de proteção
PAFL - porcentagem de área foliar lesionada
GPs - glicoproteínas
SAB - soro albumina bovina

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1. Considerações gerais sobre <i>Passiflora</i> sp.....	17
3.2. Mancha bacteriana causada por <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	18
3.3. Indução de resistência em plantas.....	20
3.4. Indutores de resistência.	22
3.4.1. Acibenzolar-S-metil (ASM).	23
3.4.2. Proteína harpina.	25
3.4.3. <i>Bacillus thuringiensis</i>	27
3.4.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	28
3.4.5. Macromoléculas de natureza glicoprotéica.	29
4. MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1. Material vegetal	31
4.2. Linhagem bacteriana.....	31
4.3. Testes de patogenicidade	31
4.4. Obtenção dos indutores de resistência.....	31
4.4.1. Acibenzolar-S-metil (ASM)	31
4.4.2. Proteína harpina	32
4.4.3. Produtos a base de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Dipel PM® e Dimy Pel®).....	32
4.4.4. Isolados de <i>Bacillus thuringiensis</i>	32
4.4.5. Metabólitos obtidos de isolados de <i>Bacillus thuringiensis</i>	33
4.4.6. Glicoproteínas extraídas de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> e <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	33
4.4.7. Extrato de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	34
4.5. Ensaio de indução de resistência local	35
4.6. Ensaio de indução de resistência sistêmica.....	35
4.7. Ensaio de indução de resistência em sementes e plântulas	36
4.8. Efeito direto dos indutores de resistência no crescimento de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	36
4.9. Avaliação dos ensaios.....	37
4.9.1. Testes de patogenicidade	37
4.9.2. Indução de resistência local.....	37
4.9.3. Indução de resistência sistêmica.....	38

4.9.4. Indução de resistência em sementes e plântulas.....	38
4.9.5. Efeito direto dos indutores de resistência no crescimento de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	38
4.10. Análise estatística.....	38
5. RESULTADOS	39
5.1. Testes de patogenicidade	39
5.2. Indução de resistência local e sistêmica.....	39
5.3. Indução de resistência em sementes e plântulas.....	58
5.4. Efeito direto dos indutores de resistência no crescimento de <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	68
6. DISCUSSÃO	72
7. CONCLUSÕES	76
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	77

1. INTRODUÇÃO

O maracujazeiro pertence à família Passifloraceae e apresenta três espécies comercialmente importantes: *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujazeiro amarelo ou azedo), *P. edulis* Sims (maracujazeiro roxo) e *P. alata* Dryand. (maracujazeiro doce). Os frutos podem ser consumidos tanto *in natura* ou utilizados para a produção de suco concentrado. O cultivo dessa planta foi estimulado pelas indústrias de suco concentrado como alternativa aos pequenos produtores em substituição das lavouras cafeeira e cacauieira, nos Estados de São Paulo e da Bahia, respectivamente, permitindo ao produtor dispor de um capital de giro durante todo o ano (FERRARI, 2006).

Além dos problemas de comercialização e de mercado, o maracujazeiro (amarelo, roxo e doce) é suscetível a um grande número de pragas e doenças de etiologia fúngica, viral e bacteriana.

Dentre essas doenças, a bacteriose do maracujazeiro, ocasionada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Pereira) Dye é uma das principais doenças dessa cultura, acarretando a diminuição do seu período de exploração comercial. A bacteriose está presente em todas as regiões onde se cultiva esta Passifloraceae, infectando todas as espécies de maracujazeiro exploradas comercialmente.

As medidas de controle dessa bacteriose são de caráter genérico e sempre adotadas de forma preventiva. Sem dúvida, a melhor alternativa de controle seria a procura de variedades resistentes ou que apresentassem tolerância a *X. axonopodis* pv. *passiflorae* ou ainda o controle através da utilização de sementes sadias, visto que essa bacteriose é veiculada pela semente, o que contribui para a distribuição da bactéria em todas as áreas onde o maracujazeiro é cultivado (BERIAM; MALAVOLTA, 2006).

Existe ainda a perspectiva de controle da doença pela ativação dos mecanismos de defesa inerentes das plantas, através da aplicação prévia de produtos bióticos ou abióticos, que atuam como indutores de resistência (MARTINS, 1991; MORAES, 1992).

Essa forma de resistência ativada em plantas suscetíveis é conhecida como resistência sistêmica adquirida ("Systemic Acquired Resistance", SAR) ou indução de resistência sistêmica ("Induced Systemic Resistance", ISR) (HAMMERSCHMIDT; MÉTRAUX; VAN LOON, 2001; STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997). A SAR tem sido demonstrada em várias interações hospedeiro-patógeno, conferindo uma proteção sistêmica de longa duração e amplo espectro, sendo efetiva contra doenças causadas por diferentes agentes bióticos, tais como vírus, bactérias, fungos e nematóides (OKA; COHEN, 2001; RYALS et al., 1996). A SAR resulta na restrição do crescimento de fitopatógenos e conseqüentemente, na supressão ou diminuição dos sintomas de doenças, devido à

ativação dos mecanismos de resistência das plantas, associada à expressão coordenada de um conjunto de genes de defesa (MÉTRAUX, 2001; RYALS et al., 1996).

Existem relatos na literatura que evidenciam o potencial de formulações comerciais de *Bacillus thuringiensis* Berliner ou do isolado bacteriano no controle de fitopatógenos (GUZZO; MARTINS, 1996; MELO, 1998; ROVERATTI; TEIXEIRA; MORAES, 1989).

Muitos trabalhos evidenciam o potencial da levedura *Saccharomyces cerevisiae* na ativação de mecanismos de resistência e proteção de plantas contra fitopatógenos (LABANCA, 2002; LYON; REGLISKY; NEWTON, 1995; MARTINS et al., 1986; PASCHOLATI, 1998; PICCININ, 1995; ROVERATTI; TEIXEIRA; MORAES, 1989; SILVA; PASCHOLATI, 1992).

Algumas glicoproteínas também têm sido estudadas como indutores de resistência, porém, a maioria dos trabalhos relata o efeito de glicoproteínas de natureza fúngica atuando como indutoras de resistência. Glicoproteínas de natureza bacteriana não têm sido muito estudadas (ROMEIRO; GARCIA, 2007).

O composto sintético éster S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotióico (acibenzolar-S-metil, ASM) tem sido citado como um agente ativador dos mecanismos de defesa de plantas, conferindo proteção sistêmica contra diferentes patógenos em várias culturas, como por exemplo, fumo, trigo, feijoeiro e cacauero (FRIEDRICH et al., 1996; GÖRLACH et al., 1996; IRITI; FAORO, 2003; RESENDE et al., 2002). O ASM vem sendo comercializado como um ativador de plantas pela empresa Syngenta com o nome comercial de Bion® e já é utilizado no Brasil em escala comercial na cultura do tomate.

Harpinas são proteínas de origem bacteriana que ocorrem naturalmente e estão presentes em várias espécies de bactérias fitopatogênicas, sendo que, a primeira proteína harpina foi isolada de *Erwinia amylovora*. Constatou-se que a proteína harpina, produzida por essa bactéria fitopatogênica, induz resistência sistêmica em plantas contra várias doenças causadas por fungos, bactérias e vírus, bem como contra alguns insetos herbívoros (CAPDEVILLE et al., 2003; PENG et al., 2003; WEI et al., 1992). Além desses aspectos, foi constatado que a harpina acelera o desenvolvimento vegetal (aumento da biomassa radicular e foliar, antecipação da maturação e aumento do número de frutos) e afeta processos fisiológicos básicos importantes para o crescimento vegetal, incluindo o aumento de atividade fotossintética e absorção de nutrientes. Devido ao potencial no controle de doenças de plantas, a harpina de *E. amylovora* tem sido comercializada em outros países com o nome de Messenger®, pela EDEN Bioscience.

2. OBJETIVOS

Este projeto de pesquisa teve como principais objetivos:

1. Avaliar o potencial de diferentes agentes bióticos (polissacarídeos de *Saccharomyces cerevisiae*, isolados e produtos a base de *Bacillus thuringiensis*, glicoproteínas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e *X. campestris* pv. *campestris* e proteína harpina) e do agente abiótico (acibenzolar-S-metil – ASM), na indução dos mecanismos de resistência do maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.
2. Avaliar o efeito direto dos diferentes agentes bióticos e do agente abiótico sobre o crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.
3. Avaliar a possibilidade dos diferentes agentes bióticos e do agente abiótico em induzir resistência sistêmica em maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.
4. Avaliar a possibilidade de indução de resistência em maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae* através da aplicação dos diferentes agentes bióticos e do agente abiótico em sementes e plântulas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Considerações gerais sobre *Passiflora* sp.

As espécies de maracujazeiro pertencem à família *Passifloraceae*, que é composta por 19 gêneros. Grande parte das espécies, cerca de 400, pertence ao gênero *Passiflora*. No Brasil, ocorrem aproximadamente 130 espécies desta família e o país pode ser considerado um dos seus centros de diversidade (BERNACCI et al., 2005).

Passiflora edulis é nativa do Brasil, apresenta vários nomes populares (maracujá amarelo, maracujá azedo, maracujá preto e maracujá roxo) e grande variabilidade, sendo que diferentes cores da casca do fruto são facilmente observadas. Entretanto, em 1932, Otto Degener sugeriu que o maracujá amarelo originou-se através de melhoramento genético, na Austrália, denominando-o como *P. edulis* forma *flavicarpa* (BERNACCI et al., 2008).

Atualmente, no Brasil, as espécies mais cultivadas de *Passiflora* são *P. edulis* Sims (maracujá roxo), *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg. (maracujá amarelo) e seus híbridos. Sua

importância está no valor decorativo das flores, qualidade gustativa dos frutos, bem como na utilização alimentar e farmacológica do suco, casca e sementes (PIO-RIBEIRO; MARIANO, 1997). O Brasil é o maior produtor mundial e apresenta uma produção de 491 mil toneladas em uma área de aproximadamente 36.500 ha (Agrianual, 2006). As principais regiões produtoras encontram-se nos estados de Alagoas, Bahia, Minas Gerais, Pará, Pernambuco, São Paulo e Sergipe, nas quais vários problemas fitossanitários têm sido observados, em diferentes proporções, relacionados às condições favoráveis de temperatura e umidade, constituindo-se um problema limitante à produção. Essas doenças, de modo geral, são causadas por fungos, bactérias, vírus e fitoplasmas, que atacam a parte aérea, provocando queda na produção e ocasionando lesão nos frutos.

O maracujá amarelo representa 97% da área plantada e do volume comercializado em todo o País, com 60% da produção destinada ao consumo *in natura*, e o restante, às indústrias de processamento, sendo o suco o principal produto (FRACARO, 2004).

No estado de São Paulo, a cultura do maracujá tem sido uma alternativa bastante atraente para pequenos produtores, a maioria no contexto de agricultura familiar. O Estado, que, em 1997, apresentava uma área cultivada de 4.000 ha, teve uma redução para 2.600 ha em 2004 (AGRIANUAL, 2006) devida aos problemas fitossanitários que a cultura enfrenta.

Embora a produção brasileira seja bastante significativa em relação aos outros países produtores de maracujá, o volume produzido é insuficiente para atender a demanda interna. O incremento da produção constitui-se, portanto, numa excelente opção, especialmente na região Sudeste, onde o maracujazeiro amarelo se encontra em plena expansão (ATAÍDE et al., 2007).

3.2. Mancha bacteriana causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

A bacteriose do maracujazeiro foi descrita pela primeira vez no Brasil por Pereira (1969), ocorrendo em pomares da região araraquarense desde 1967, como *Xanthomonas passiflorae*. Em 1980, com uma nova classificação proposta, essa bactéria passou a ser denominada *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. Em 1995, foi feita uma reclassificação do gênero *Xanthomonas*, não incluindo o patovar *passiflorae* de *X.campestris*, sugerindo a denominação de *Xanthomonas* sp. pv. *passiflorae*. Recentemente, foi proposta a mudança de espécie desta bactéria, baseados em estudos de homologia de DNA, passando de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (GONÇALVES; ROSATO, 2000).

A mancha bacteriana no maracujazeiro, causada por *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, é, na atualidade, um dos principais problemas fitossanitários desta cultura, acarretando a diminuição do seu período de exploração comercial.

A bacteriose está presente em todas as regiões onde se cultiva esta Passifloraceae, infectando as espécies de maracujazeiro exploradas comercialmente, principalmente o maracujazeiro amarelo e o maracujazeiro doce. Além do maracujazeiro amarelo e do doce, recentemente foi descrita a ocorrência deste patógeno em duas outras espécies: *Passiflora amethystina* e *P. serrato digitata* (BERIAM; MALAVOLTA, 2006).

A mancha bacteriana do maracujazeiro pode ser facilmente reconhecida, pois apresenta sintomas típicos, distintos de outras doenças da cultura. Em estádios iniciais de infecção nas folhas é comum ser observado encharcamento do tecido, ao redor das manchas que se formam, sendo comum o início do desenvolvimento das lesões a partir dos bordos foliares. As lesões avançam rapidamente em direção ao centro, progredindo para uma queima severa, na maioria das vezes com halo amarelado em torno do tecido necrosado. Com o desenvolvimento da doença ocorre seca das folhas e, posteriormente, desfolha, reduzindo consideravelmente a produtividade. Ao atingir os feixes vasculares a bactéria causa infecção sistêmica, podendo ocasionar morte de ramos e, ocasionalmente, até da própria planta (VIANA; COSTA, 2003). Em frutos infectados, se desenvolvem manchas pardas, quando há condições favoráveis ao desenvolvimento da doença, depreciando o aspecto do produto e, em raros casos, causando seu apodrecimento (MALAVOLTA; BERIAM; RODRIGUES NETO, 2001).

Estes sintomas típicos, manifestados principalmente nas partes tenras ou suculentas dos tecidos, ocasionam a inutilização dos frutos para consumo, queda das folhas e ramos, levando à morte da planta (RUGGIERO, 1987). Oliveira (1982) enfatiza que a ocorrência de doenças é a principal dificuldade para o cultivo do maracujazeiro e, dentre elas, se destaca a bacteriose. Não raro a bacteriose destrói, em questão de semanas, pomares inteiros. Os estados maiores produtores são Bahia, Sergipe, Minas Gerais, Paraná e São Paulo, e, em todos eles, a enfermidade incide com diferentes graus de severidade. Uma doença assim destrutiva tem sua importância maximizada se considerarmos que o Brasil é o maior exportador mundial do suco e do concentrado, sendo também o maior produtor (ROMEIRO, 2000).

Na epidemiologia da bacteriose do maracujazeiro, o primeiro ponto a ser considerado é a transmissão da bactéria pela semente (inóculo primário). Plântulas infectadas expressam sintomas da bacteriose quando há condições de alta umidade e de temperaturas elevadas. Nestes casos, dificilmente a cultura sobrevive ao primeiro ano após o plantio.

A bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae* pode sobreviver durante vários meses em restos culturais, havendo a possibilidade de permanecer em plantas de maracujazeiros silvestres. Quando ocorre a forma sistêmica da infecção, as práticas culturais como

polinização, poda, desbaste, capinas e as próprias pulverizações com fungicidas, herbicidas e adubos foliares, têm papel importante na disseminação da bactéria, principalmente quando se considera a arquitetura da planta (espaldadeira ou parreira). A junção das folhagens de duas ou mais plantas facilita a disseminação da bactéria planta a planta.

Nos períodos chuvosos, com temperaturas elevadas, o patógeno dissemina-se rapidamente, comprometendo toda a cultura em curto espaço de tempo. Durante o inverno, juntamente com períodos de estiagem, a disseminação da bactéria no campo, quando ocorre, é lenta (BERIAM; MALAVOLTA, 2006).

A principal medida de controle da mancha bacteriana é a exclusão, evitando-se a introdução do patógeno na área de cultivo. O tratamento das sementes com água aquecida a 50 °C por 15 minutos é reportado como eficiente para erradicação da bactéria. A eliminação de plântulas com sintomas da doença, assim que detectadas em viveiro, apresenta papel importante no controle. A poda e eliminação de órgãos vegetais infectados contribuem para redução da densidade de inóculo, devendo-se fazer esta operação em dias em que não haja condições de ocorrer molhamento das plantas. Neste caso, é aconselhável que se faça desinfestação de ferramentas de poda com hipoclorito de sódio (água sanitária) ou amônia quaternária durante a operação (FISCHER; KIMATI; REZENDE, 2005).

Existem produtos cúpricos e antibióticos registrados no controle da mancha bacteriana para a cultura do maracujá, formulados com sulfato de cobre + oxitetraciclina; oxitetraciclina + sulfato de estreptomicina e casugamicina (MAPA-AGROFIT, 2008). Fungicidas a base de cobre são uma opção no controle da mancha bacteriana, no entanto, estudos indicam que podem ser encontrados isolados resistentes a fungicidas cúpricos (FRANCO; TAKATSU, 2004). É importante ressaltar que se deve utilizar com critério a alternativa de controle químico da doença, não sendo o principal, mas sim um dos componentes para o manejo integrado.

3.3. Indução de resistência em plantas

A agricultura atual busca um modelo de sustentabilidade no qual se deve usar o mínimo de pesticidas possível para combater pragas e doenças. Para estar de acordo com esta tendência, é preciso encontrar medidas alternativas de manejo fitossanitário compatíveis com a qualidade ambiental visada no manejo sustentável. Dentre as opções de manejo, cita-se o uso de substâncias capazes de atuarem como indutores de resistência às doenças de plantas.

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existente nas plantas, ocorrendo naturalmente como resultado de uma infecção limitada do patógeno, particularmente quando a planta desenvolve uma reação de hipersensibilidade

(VAN LOON; BAKKER; PIETERSE, 1998), ou também em resposta ao tratamento com agentes bióticos (microrganismos ou substâncias de origem microbiana) e abióticos (substâncias de origem química) (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005; DANN et al., 1996) sendo conhecida como resistência sistêmica adquirida ("Systemic Acquired Resistance", SAR) ou indução de resistência sistêmica ("Induced Systemic Resistance", ISR) (GUZZO et al., 2004; HAMMERSCHMIDT; MÉTRAUX; VAN LOON, 2001; STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997).

Os mecanismos de defesa envolvidos incluem a resposta de hipersensibilidade; alterações estruturais no tecido vegetal, como calose, lignificações e formação de papilas; acúmulo de substâncias tóxicas ao patógeno, como espécies ativas de oxigênio (EAOs), fitoalexinas, ou proteínas relacionadas à patogênese (PR- Proteínas); fenilpropanóides; produtos do metabolismo secundário, como fenilalanina amônia-liase (PAL) e peroxidases (RESENDE et al., 2007; CAVALCANTI; BRUNELLI; STANGARLIN, 2005; LEE; LEON; RASKIN, 1995; DURRANT; DONG, 2004; STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997).

A SAR tem sido demonstrada em várias interações planta-patógeno, conferindo uma proteção sistêmica de longa duração e amplo espectro, sendo efetiva contra doenças causadas por diferentes agentes bióticos, tais como vírus, bactérias, fungos e nematóides (DE NARDI et al., 2006; GORLACH et al., 1996; MISHINA; ZEIER, 2007; RYALS et al., 1996).

Relatos demonstram que plantas suscetíveis previamente tratadas com raças avirulentas de um patógeno, patógenos incompatíveis, microorganismos não patogênicos, como por exemplo, leveduras, elicitores provenientes de patógenos, metabólitos de microorganismos ou agentes abióticos também se apresentaram protegidas local e/ou sistemicamente, contra diversos fitopatógenos (KUĆ, 1995; MARTINS et al., 1985; OOSTENDORP et al., 2001; PASCHOLATI, 1998; STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997).

O efeito protetor observado nas plantas se mostra persistente e dependente das condições de luz, temperatura, das concentrações do indutor e do inóculo utilizadas e do intervalo de tempo entre o tratamento com o indutor de resistência e a inoculação com o patógeno (KUĆ, 1995; MADAMANCHI; KUĆ, 1991).

A indução de resistência já foi demonstrada, até o presente momento, em inúmeras espécies de plantas, distribuídas entre diversas famílias botânicas, tanto em dicotiledôneas como em monocotiledôneas (LUCAS, 1999).

Porém, o tratamento de plantas com indutores de resistência pode provocar efeito contrário, ou seja, ocasionar a supressão da resistência, fenômeno este chamado de suscetibilidade induzida, quando o indutor torna a planta mais suscetível ao patógeno ao

invés de ativar seus mecanismos de resistência (OUCHI, 1983). Este fenômeno foi observado por Kuhn et al. (2006) no patossistema mandioca x *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, através do tratamento com extrato de cúrcuma (*Curcuma longa* L.), também conhecido como açafrão.

Os primeiros relatos de indução de resistência foram descritos por Beauverie (1901) e Ray (1901), no qual obtiveram indução de resistência em begônias pelo uso de isolados atenuados de *Botrytis cinerea* e relacionaram a indução com as condições ambientais de cultivo. Entretanto, o grande acontecimento ocorreu com a descoberta da indução de resistência pelo professor Joseph Kuć da Universidade de Lexington, Kentucky, EUA, quando em 1975 descreveu a ativação das defesas próprias de plantas de pepino após uma pré-infecção por um patógeno (CASTRO et al., 2007).

No Brasil, os primeiros estudos foram desenvolvidos em 1970, no Instituto Biológico, pela Dra. Walkyria B. C. Moraes em plantas de café contra *Hemileia vastatrix*, com o uso de uredosporos inativados de *H. vastatrix* (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005; MORAES et al, 1976).

3.4. Indutores de resistência

Os agentes de origem biótica e abiótica, capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de resistência nas plantas são chamados de elicitadores (SMITH, 1996). Estes agentes podem apresentar natureza química variada, demonstrando a não existência de característica estrutural única na determinação da atividade elicitora (STANGARLIN et al., 1999).

Existem vários relatos na literatura de diversas substâncias de origem biológica que agem como indutores de resistência (KUĆ, 2001), como frações de parede celular de plantas, de fungos (DOKE; RAMIREZ; TOMIYAMA, 1987) e de bactérias; lipopolissacarídeos de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PIETERSE et al., 2001; VAN LOON; BEKKER; PIETERSE, 1998); fluído intercelular de plantas; extratos vegetais (FOUGHT; KUĆ, 1996) e de microrganismos não patogênicos, como *S. cerevisiae* (PASCHOLATI, 1998) e substâncias provenientes de fitopatógenos, como *Phytophthora* spp., *Pyricularia oryzae* e *Erwinia amylovora* (KELLER et al., 1996; SCHAFFRATH; SCHEINPFLUG; REISENER, 1995; WEI et al., 1992; YU, 1995).

Quanto aos agentes abióticos foi demonstrado que diferentes compostos inorgânicos ou orgânicos não relacionados estruturalmente induzem resistência em plantas ao ataque por insetos herbívoros e contra doenças causadas por nematóides, bactérias, fungos e vírus (BOSTOCK et al., 2001; HAMMERSCHMIDT; MÉTRAUX; VAN LOON 2001; KESSMANN et al., 1994; OOSTENDORP et al., 2001). Entre os compostos inorgânicos podem ser

mencionados, o ácido β -aminobutírico (BABA), o ácido salicílico (AS) e seus análogos funcionais, como o ácido-dicloroisonicotínico (INA) e o ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotióico (acibenzolar-S-metil - ASM) (GUZZO et al., 2001; PEREIRA, 2006).

Os indutores de resistência não apresentam, normalmente, ação antimicrobiana direta (GUZZO et al., 2001; DURRANT; DONG, 2004), mas atuam como moléculas sinalizadoras de respostas de defesa da planta. Ao serem reconhecidas pelas células vegetais induzem a expressão de genes que codificam a síntese de compostos de resistência (RYALS et al., 1996; SCHENK et al., 2000; MÉTRAUX, 2001; DANTAS et al., 2004), impedindo ou dificultando o estabelecimento e/ou desenvolvimento do patógeno e, conseqüentemente, reduzindo os sintomas da doença.

3.4.1. Acibenzolar-S-metil (ASM)

Após a identificação na década de 90 de um composto derivado do benzotiadiazole (BTH), o éster S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotióico (acibenzolar – ASM), atuando como indutor de resistência em diversas plantas (RYALS et al., 1996) e em sementes (LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001), observou-se um considerável avanço nos estudos sobre o fenômeno da indução de resistência. Desde então, vários produtos estão surgindo, alguns deles de origem natural e natureza biótica, explorando de modo geral, a capacidade de ativação de diversos mecanismos de defesa nas plantas (CASTRO et al., 2007).

O ASM é talvez o mais potente ativador sintético da resistência sistêmica adquirida descoberto atualmente (KESSMANN et al., 1994). Este composto elicit a o acúmulo dos mesmos genes ativados pelo ácido salicílico (AS). Porém, apesar do AS ser um indutor de resistência eficiente, pode apresentar problemas com estabilidade e fitotoxicidade (REGLINSKI; LYON; NEWTON, 1994), enquanto o ASM, que não apresenta atividade antimicrobiana direta, aumenta a resistência das plantas às doenças, não causando estes efeitos indesejáveis (CASTRO et al., 2007).

O ASM é comercializado na Europa como Bion® (Syngenta Ltda, Suíça) e nos EUA como Actigard® (Syngenta, Carolina do Norte). O ASM pode ser enquadrado na definição de um indutor de resistência, pois fornece proteção a um amplo espectro de patógenos e não apresenta atividade antimicrobiana direta (KESSMANN et al., 1994).

A aplicação foliar de ASM a 50 mg L⁻¹, no pré-florescimento de melões, provocou a diminuição substancial da incidência de doenças de pós-colheita (HUANG et al., 2000). A aplicação pré-colheita de ASM em morangos, nas concentrações de 0,25 a 2 mg mL⁻¹, atrasou o desenvolvimento de *Botrytis cinerea* nos frutos (TERRY; JOYCE, 2000). Cia (2005) constatou que a aplicação pré-colheita de ASM, em mistura com azoxistrobina, foi

eficiente na redução da antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, em mamão na pós-colheita.

Quando aplicado em *Arabidopsis thaliana*, 72 horas antes da inoculação com patógenos, o ASM promoveu redução nos sintomas das doenças causadas pelo fungo *Phytophthora parasitica*, pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e pelo *Turnip crinkle vírus* (TCV) (LAWTON et al., 1996). Plântulas de tomate pré-tratadas com o ASM mostraram uma redução na severidade do cancro bacteriano causado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (BAYSAL; SOYLU; SOYLU, 2003). Guzzo et al. (2001) e Guzzo et al. (2004) constataram a indução de resistência local e sistêmica a *H. vastatrix* em tecidos foliares de cafeeiro cv. Mundo Novo, pela aplicação de ASM a 200 µg mL⁻¹.

Inbar et al. (1998) mostraram que o ASM induziu resistência simultânea, em tomateiro, contra diferentes fitopatógenos e contra a larva minadora *Liriomyza* spp., reduzindo significativamente a incidência da mancha bacteriana, da pinta preta e da mancha de *Cladosporium* causadas, respectivamente, por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Alternaria solani* e *Cladosporium fuvum* e a densidade das larvas de *Liriomyza* spp.

Plântulas de uma cultivar suscetível de *Vigna unguiculata*, obtidas a partir de sementes tratadas com ASM, mostraram-se protegidas contra a antracnose causada por *Colletotrichum destructivum* (LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001).

Ishida et al. (2008) verificaram significativa redução nos sintomas da mancha angular em algodoeiros tratados com ASM. Tally et al. (1999) observaram que em plantas de tomate a resistência foi ativada pelo ASM contra *Phytophthora infestans*, mas nenhum efeito protetor significativo foi verificado em batata em relação ao mesmo patógeno. Os autores concluíram baseados, também, em estudos efetuados com outras culturas, que o espectro de resistência ativado por ASM é específico e determinado para cada espécie vegetal. Cardoso Filho (2003) também verificou que o ASM não foi capaz de induzir resistência a mancha preta dos citros (MPC) em mudas de limão 'Siciliano' e em frutos de laranja 'Pêra-Rio'. No patossistema feijoeiro / *Curtobacterium flaccumfaciens*, Soares e Maringoni (2002) não verificaram proteção tanto no tratamento de sementes, quanto com aplicação foliar de ASM. Soares; Maringoni e Lima (2004) verificaram a ineficiência do ASM na indução de resistência à Murcha de *Curtobacterium* em feijoeiro e também um menor desenvolvimento das plantas tratadas.

O ASM já é utilizado no Brasil em escala comercial na cultura do tomate no controle de *X. campestris* pv. *vesicatoria*, promovendo, além de menor severidade da doença, incrementos na produção e na qualidade dos frutos. Cavalcanti e Resende (2004), além da eficácia do ASM como indutor de resistência em plântulas de cacaueiro contra a murcha de *Verticillium*, com redução de até 55,4% na severidade da doença, comprovaram um acréscimo na ordem de 10,5% no peso fresco e 35,7% na altura das plantas, em

comparação com aquelas somente inoculadas com o fungo. Estes resultados contrastam com relatos na literatura (GODARD et al., 1999; IRITI; FAORO, 2003; KUHN, 2007) que correlacionam negativamente a indução elicitada por ASM com o rendimento das culturas em função do custo energético da planta alocado para a ativação dos mecanismos de defesa.

Kuhn (2007) determinou a ocorrência da indução de resistência em feijoeiro contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* com base na redução do crestamento bacteriano comum, e contra *Sclerotinia sclerotiorum* após o tratamento com ASM e *Bacillus cereus*. No mesmo trabalho, foi verificada a redução da massa seca e do crescimento, com diminuição da produtividade do feijoeiro tratado com ASM, principalmente para os tratamentos que receberam maior número de aplicações. A redução do crescimento também foi observada por Godard et al. (1999), que induziram a resistência em couve-flor contra míldio (*Peronospora* sp.), aplicando ASM em diferentes concentrações em uma única vez, porém, o crescimento foi reduzido em todas as doses. Iriti e Faoro (2003) induziram resistência em feijoeiro com ASM em uma única aplicação de 140 mg L⁻¹, detectando sensível diminuição da produtividade, porém sem diferenças na taxa de crescimento. Buschmann; Fan e Souerborn (2005) reportaram redução da biomassa de girassol tratado com ASM.

O efeito na produtividade por ASM é dependente da dose utilizada, sendo que em couve-flor, 75 mg L⁻¹ foi suficiente para reduzir a severidade de míldio em 80%, porém reduziu o crescimento das plantas em 25% (GODARD et al., 1999). Portanto, pode haver um prejuízo no desenvolvimento das plantas e/ou produtividade em função da dose utilizada e da quantidade de aplicações dos elicitores. Di Piero; Kuhn e Pascholati (2005) já chamaram a atenção para estes fatos, sugerindo que o número de aplicações e as dosagens precisam ser otimizados.

3.4.2. Proteína harpina

Harpinas são proteínas de natureza bacteriana naturalmente produzidas por algumas espécies de bactérias fitopatogênicas (JONES, 2001). A primeira harpina foi isolada a partir da cultura de um isolado avirulento de *E. amylovora* (WEI et al., 1992). Ao longo da pesquisa, descobriu-se que esta proteína induz resistência e promove crescimento em plantas.

A harpina, isolada de *E. amylovora*, apresenta na sua composição 403 aminoácidos e massa molecular de 44 kD. É termoestável (100 °C por 10 min), rica em glicina, solúvel em água, mas não possui atividade enzimática conhecida, tendo sido sua sequência de aminoácidos depositada no GenBank (nº de acesso AAC31644) (WEI et al., 1992).

Foi constatado que a proteína harpina rica em glicina, produzida pela bactéria patogênica *E. amylovora*, induz resistência sistêmica em plantas contra várias doenças causadas por fungos, bactérias e vírus e também contra alguns insetos herbívoros (CAPDEVILLE et al., 2003, PENG et al., 2003; WEI et al., 1992). As harpinas induzem a resposta de hipersensibilidade em plantas, sendo codificadas por um grupo de genes denominados “hypersensitive response and pathogenicity” (*hrp*) (reação de hipersensibilidade e patogenicidade) (TERRY; JOYCE, 2004).

Conhecidas suas propriedades biológicas e de indução de resistência, teve início, ainda no início da década de 90, o desenvolvimento de um produto comercial denominado Messenger® (disponível nos EUA) tendo como princípio ativo a harpina, que ativa as defesas naturais da planta e promove o seu crescimento (EDEN Bioscience Corporation, 2008).

Trabalhos subseqüentes para o desenvolvimento do produto mostraram que as harpinas agem como eliciadoras por ativar múltiplas rotas de sinalização que culminam na ativação de genes de resistência. A promoção de crescimento também é ativada, com o aumento da biomassa, do sistema radicular, floração precoce, maturação mais rápida dos frutos e aumento de produtividade (EDEN Bioscience Corporation, 2008). French et al. (2006) e French (2007) observaram que sementes de algodão tratadas com harpina, além de proteger a cultura contra os nematóides *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis*, proporcionaram um incremento na produção e aumento da biomassa da cultura.

O produto Messenger® já foi testado em mais de 40 culturas e mostrou-se efetivo para algodão, trigo, pepino, citros, morango, fumo, tomate e pimentão (ROMEIRO; GARCIA, 2007).

Capdeville et al. (2002), verificaram redução dos sintomas de bolor azul, causado por *Penicillium expansum*, em frutos de macieira tratados com harpina nas concentrações de 10 a 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e em três intervalos de tempo entre o tratamento e a inoculação do patógeno (24, 48 e 96 h). Entretanto, o melhor resultado foi observado no tratamento com a concentração de 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$ realizado 96 h antes da inoculação. Em um segundo experimento, quando foram testados tempos e doses maiores, a harpina mostrou melhores resultados nas maiores concentrações, de 80 e 160 mg L^{-1} , e nos intervalos de tempo de 48 e 96 h, sendo que no intervalo de tempo de 144 h a proteção diminuiu significativamente, não diferenciando das testemunhas (CAPDEVILLE et al., 2003).

Yang et al. (2005) verificaram que a proteína harpina, quando aplicada na concentração de 90 mg mL^{-1} em cultivares de melão Hami e inoculadas com *Trichothecium roseum*, foi capaz de reduzir o diâmetro das lesões nos frutos inoculados, não demonstrando fitotoxicidade nos frutos e efeito fungicida *in vitro*. Pêssegos tratados em pós-colheita com dois produtos comerciais contendo proteína harpina na concentração de 80 mg

L⁻¹ do ingrediente ativo (i.a.) reduziram o desenvolvimento de *Monilinia fructicola* nos frutos (DANNER et al., 2008).

A técnica de microscopia de varredura foi utilizada por Capdeville et al. (2008) para avaliar alterações celulares induzidas pela harpina em tecidos de frutos de macieira, que pudessem ter sido ativadas como resposta de defesa a *P. expansum*. Foi observado na testemunha que o fungo iniciou a colonização no intervalo de 48 h após a inoculação e que um pico de colonização ocorreu dentro de 72 h. Porém, nos frutos tratados com harpina, a germinação de esporos e a colonização dos tecidos não foram evidentes até 96 h. Na testemunha foi possível observar que o crescimento micelial ocorreu dentro das paredes celulares em 72 h e que uma intensa colonização dos tecidos foi observada dentro de 96 h após a inoculação. Por outro lado, nos frutos tratados com harpina, a germinação dos esporos e a colonização nos ferimentos ocorreram somente 144 h após a inoculação com *P. expansum*. Através de microscopia de transmissão, foi possível observar diversas aposições e depósitos na parede celular e acúmulo de tanino nos vacúolos em resposta ao tratamento com harpina, bloqueando o avanço do patógeno nos frutos. Estas observações sugerem que a harpina pode desencadear ou intensificar respostas celulares de resistência em maçãs.

3.4.3. *Bacillus thuringiensis*

B. thuringiensis Berliner (1911) é uma bactéria anaeróbica facultativa, gram-positiva, em forma de bastonete, capaz de formar endósporos e de produzir inclusões cristalinas protéicas durante o processo de esporulação. Estas inclusões cristalinas, compostas por diferentes proteínas com propriedades inseticidas, são responsáveis pela atividade tóxica desta espécie, especialmente para as ordens Coleoptera, Diptera e Lepidoptera (GLARE; O' CALLAGHAM, 2000). Podem, também, ser tóxicas a nematóides (CAMPOS et al., 2003). Devido a essa característica, *B. thuringiensis* tem sido utilizado em larga escala como bioinseticida.

No Brasil, *B. thuringiensis* têm sido utilizado em pesquisas com indução de resistência devido às facilidades encontradas na aquisição de formulações comerciais (PICCININ, 2000). Alguns trabalhos mostram o uso de preparações comerciais de *B. thuringiensis* no controle de fitopatógenos (BATISTA Jr. et al., 2002; LA VEGA et al., 2006).

La Vega et al. (2006) evidenciaram o potencial de *B. thuringiensis* como agente de controle biológico para fungos fitopatogênicos. Quitinases produzidas por *B. thuringiensis* mostraram atividade lítica contra as paredes celulares de seis fitopatógenos, inibiram o crescimento micelial de *Fusarium* sp. e de *Sclerotium rolfsii*, além de produzir um aumento significativo na taxa de germinação de sementes infestadas. Batista Jr. et al. (2002) também

constataram que dois isolados de *B. thuringiensis*, um deles produtor da toxina bioinseticida Cry1 Ab, apresentaram efeito fungistático sobre os fungos fitopatogênicos *Fusarium solani* f.sp. *phaseoli*, *F. solani* f.sp. *glycines*, *F. oxysporum* e *Colletotrichum* sp.

O uso de *B. thuringiensis*, ou de produtos comerciais à base destes, na indução de resistência em plantas contra patógenos também foi demonstrado (GUZZO; MARTINS, 1996; JESUS; GUZZO; HARAKAVA, 2008; ROVERATTI; TEIXEIRA; MORAES, 1989; CIA, 2005).

Cafeeiros suscetíveis a *H. vastatrix*, agente causal da ferrugem alaranjada, previamente tratados com Thuricide® (*B. thuringiensis*), mostraram-se protegidos contra uma posterior infecção pelo patógeno (ROVERATTI; TEIXEIRA; MORAES, 1989). O produto mostrou-se eficiente em induzir resistência sistêmica nas plantas, reduzindo o tamanho das lesões. Posteriormente, Guzzo e Martins (1996) demonstraram que *B. thuringiensis* protegeu plantas de café contra *H. vastatrix* na concentração de 50 mg mL⁻¹ e induziu a síntese de β -1,3-glucanases e quitinases. Jesus; Guzzo e Harakava (2008) observaram redução dos sintomas (66,3%) em cafeeiros tratados com *B. thuringiensis*, isolados do produto comercial Dipel PM®. Cia (2005) constatou que a aplicação de *B. thuringiensis* na concentração de 7,5 mg mL⁻¹, efetuada 24 h antes da inoculação com *C. gloeosporioides*, reduziu a severidade e a incidência de antracnose em mamões, de forma dependente do intervalo de tempo entre o tratamento e a inoculação. O fato da bactéria não ter atuado diretamente sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios do patógeno, evidencia que a proteção observada nos frutos pode estar relacionada à indução de resistência pós-colheita.

3.4.4. *Saccharomyces cerevisiae*

S. cerevisiae é um fungo ascomiceto que pode formar ascos sem a produção de ascocarpos e o crescimento da colônia se dá por brotação das células, não havendo produção de micélio (AGRIOS, 2004). Seu habitat natural é a superfície de frutas, porém tem sido utilizada pelo homem na produção de bebidas alcoólicas, etanol e na panificação. Já está evidenciado na literatura que *S. cerevisiae* é capaz de induzir respostas de defesa nas plantas (FIALHO, 2004; LOPEZ, 1991; MARTINS et al., 1986; PICCININ, 1995; REGLINSKI; LYON; NEWTON, 1994; RONCATTO; PASCHOLATI, 1998; ROVERATTI; TEIXEIRA; MORAES, 1989; SILVA; PASCHOLATI, 1992; STANGARLIN; PASCHOLATI, 1994; WULFF; PASCHOLATI, 1998; CIA, 2005).

Martins et al. (1986) relataram que a aplicação do filtrado de cultura de *S. cerevisiae* em folhas de café, 72 h antes da inoculação com *H. vastatrix*, induziu resistência ao patógeno. Silva e Pascholati (1992) constataram que o filtrado de cultivo da levedura inibiu a

germinação de esporos e a formação de apressórios por *Colletotrichum graminicola* e protegeu plantas de milho contra o patógeno. Reglinski; Lyon e Newton (1994) observaram que extratos de *S. cerevisiae* resultaram na redução de cerca de 90% da infecção por *Erysiphe graminis* em cevada. Fialho (2004) constatou que *S. cerevisiae* inibiu em 73% o crescimento micelial de *Guignardia citricarpa*. Demonstrou-se também o efeito de suspensões de células dessa levedura (linhagem de panificação), bem como do filtrado dessas suspensões na proteção de plantas de sorgo contra *C. graminicola* e *Exserohilum turcicum* (LOPEZ, 1991; PICCININ, 1995) e milho contra *E. turcicum* (STANGARLIN; PASCHOLATI, 1994), sendo que, a resposta protetora foi dependente da concentração da levedura utilizada, bem como do intervalo de tempo entre a aplicação do produto e a inoculação do patógeno. Piccinin (1995) demonstrou o efeito de suspensões de células dessa levedura (linhagem de panificação) na proteção de plantas de maracujá contra *X. campestris* pv. *passiflora* e plantas de eucalipto contra *B. cinerea*.

O potencial de *S. cerevisiae* foi verificado no controle pós-colheita de antracnose em mamão quando esta levedura foi aplicada na concentração de 20 mg mL⁻¹, 24 h antes da inoculação com *C. gloeosporioides* (CIA, 2005). Gomes et al. (2007) verificaram em videira, em condições de campo, que o produto Agromos®, à base de manano-oligossacarídeo fosforilado, proveniente da parede celular de *S. cerevisiae*, foi eficiente na proteção contra oídio e míldio causados por *Uncinula necator* e *Plasmopora viticola*, respectivamente. O produto aplicado em intervalos de sete dias foi mais eficiente para o controle de oídio, enquanto que a melhor proteção ao míldio foi conferida com a aplicação em intervalos de 15 dias.

3.4.5. Macromoléculas de natureza glicoprotéica

A explosão oxidativa é uma das respostas mais rápidas de defesa da planta após o reconhecimento do patógeno. Contudo, os elicitores mais efetivos para causar este fenômeno são macromoléculas derivadas do patógeno que se ligam a receptores na superfície da célula vegetal (ALLAN; FLUHR, 1997). Os primeiros relatos da produção de espécies reativas de oxigênio nas interações incompatíveis nos patossistemas batata X *Phytophthora infestans* e fumo X vírus do mosaico do fumo (TMV) foram descritos em 1983 por Doke e 1988 por Doke e Ohashi.

Várias classes de compostos estruturalmente distintos, como oligossacarídeos, moléculas lipofílicas, glicoproteínas e peptídeos agem como sinais químicos que são percebidos pelas plantas e induzem elementos envolvidos na resposta de defesa (CAVALCANTI; RESENDE; OLIVEIRA, 2007).

As glicoproteínas são compostos de proteínas simples combinadas com algum grupo de carboidrato e estão sempre presentes em componentes das bactérias (GEOCITIES, 2008).

Algumas glicoproteínas têm sido estudadas como indutores de resistência, porém, a maioria dos trabalhos relata o efeito de glicoproteínas de natureza fúngica atuando como indutoras de resistência. Glicoproteínas de natureza bacteriana não têm sido muito estudadas (ROMEIRO; GARCIA, 2007).

Na literatura são encontrados alguns trabalhos evidenciando o potencial destas macromoléculas como indutores de resistência em algumas interações planta-patógeno.

Jabs et al. (1997) verificaram que um elicitor de natureza glicoprotéica isolado de *Phytophthora sojae* induz respostas de defesa através da formação de espécies reativas de oxigênio. A ação ativadora de defesa de frações protéicas de um extrato aquoso proveniente de massa seca de *Lentinula edodes* foi comprovada em plantas de pepino inoculadas com *Colletotrichum lagenarium*. As frações protéicas parcialmente purificadas reduziram a severidade da antracnose e induziram um aumento de peroxidase nos tecidos vegetais (DIPIERO; WULFF; PASCHOLATI, 2006).

Cavalcanti, Resende e Oliveira (2007) também concluíram que o extrato protéico obtido de lobeira (*Solanum lycocarpum*) infectada com *Crinipellis pernicioso* reduziu em tomateiro o progresso da mancha foliar bacteriana, causada por *X. campestris* pv. *vesicatoria*, sendo capaz de induzir respostas de defesa como, a ativação de peroxidase nos tecidos vegetais.

Videiras foram protegidas em 75% contra *B. cinerea* através da aplicação de elicitinas, compostos de natureza protéica, extraídas de *Phytophthora oligandrum* (MOHAMED; LHERMINIER; FARMER, 2007).

Romeiro e Kimura (1997) demonstraram que macromoléculas de natureza glicoprotéica isoladas de células fracionadas de *X. campestris* pv. *vesicatoria*, dissolvidas em água destilada na proporção de 1 mg mL⁻¹, e aplicadas em plantas de pimentão 72 h antes da inoculação com o mesmo patógeno, induziram resistência. Além deste trabalho, na literatura existem outros ressaltando o papel de proteínas e glicoproteínas nos mecanismos de resistência das plantas (MORAES, 1998; PASCHOLATI; LEITE, 1995).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal

Sementes de maracujazeiro amarelo foram colocadas para germinar em uma mistura de solo, areia e esterco de curral, na proporção de 1:1:1, em sementeiras. Quando as plântulas apresentaram o primeiro par de folhas verdadeiras, foram transferidas para sacos de plantio (cerca de 2 L), contendo a mesma mistura.

Este procedimento foi desenvolvido em condições de casa-de-vegetação.

4.2. Linhagem bacteriana

Foi utilizada a linhagem IBSBF 1343 de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* (linhagem tipo), pertencente à Coleção de Cultura de Fitobactérias do Instituto Biológico, isolada de plantas de *Passiflora edulis* originárias da região de Araraquara, estado de São Paulo.

A linhagem está mantida sob liofilização e foi recuperada em meio Nutriente Ágar (NA) e mantida em suspensão aquosa estéril à temperatura ambiente, durante a condução dos experimentos.

4.3. Testes de patogenicidade

Os testes de patogenicidade foram conduzidos em condições de casa-de-vegetação em plantas de maracujazeiro amarelo.

Foram preparadas suspensões bacterianas de *X. axonopodis* pv. *passiflora* em água destilada estéril, com concentração aproximada de 3×10^8 Unidades Formadoras de Colônia (UFC) mL⁻¹, que correspondem a uma absorbância no comprimento de onda de 600 nm igual a 0,283 ($A_{600nm} = 0,283$).

Para verificação da patogenicidade, as plantas foram inoculadas através de infiltração nas folhas.

4.4. Obtenção dos indutores de resistência

4.4.1. Acibenzolar-S-metil (ASM)

Suspensões aquosas preparadas a partir do produto Bion® (éster S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotiólico), um derivado do benzotiadiazole (acibenzolar-S-metil,

ASM), contendo 50% do i.a., foram utilizadas nos testes biológicos para avaliação da indução de resistência.

Para os ensaios de indução de resistência, foram avaliadas as concentrações de 12,5; 25; 50; 100 e 200 μg do i.a. mL^{-1} . As suspensões aquosas foram submetidas à agitação durante 10 min à temperatura ambiente antes da aplicação nas plantas.

Para o ensaio *in vitro*, onde se verificou a possibilidade da ação direta do ASM sobre o patógeno, foram utilizadas concentrações de 50, 100 e 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, previamente preparadas, filtradas em membrana Sartorius de 0,8 μm (pré-filtro), 0,45 μm e 0,2 μm e, posteriormente, incorporadas ao meio de cultura NA.

4.4.2. Proteína harpina

Suspensões aquosas contendo proteína harpina, preparadas a partir do produto Messenger® (3% de proteína harpina), foram utilizadas nos testes biológicos para avaliação da indução de resistência. Foram avaliadas as concentrações de 0,003; 0,0075; 0,015 e 0,03 mg i.a. mL^{-1} . As suspensões aquosas foram submetidas à agitação durante 10 min à temperatura ambiente antes da aplicação nas plantas.

Para o ensaio *in vitro*, onde se verificou a possibilidade da ação direta da proteína harpina sobre o patógeno, foram utilizadas concentrações de 0,03 e 0,06 mg mL^{-1} . Suspensões destas concentrações foram preparadas, filtradas em membrana Sartorius de 0,8 μm (pré-filtro), 0,45 μm e 0,2 μm e, posteriormente, incorporadas no meio de cultura NA.

4.4.3. Produtos a base de *Bacillus thuringiensis* (Dipel PM® e Dimy Pel®)

Os produtos a base de *B. thuringiensis*, Dipel PM® (Arysta Lifescience) e Dimy Pel® (Serv-San) foram utilizados, para os ensaios de indução de resistência, nas concentrações de 5 e 10 mg mL^{-1} . As suspensões aquosas foram submetidas à agitação durante 10 min à temperatura ambiente antes da aplicação nas plantas.

4.4.4. Isolados de *Bacillus thuringiensis*

Isolados de *B. thuringiensis* obtidos dos produtos comerciais Dipel PM® (Bt-Dipel) e Dimy Pel® (Bt-Dimy) foram utilizados nas concentrações de $4,5 \times 10^8$ UFC mL^{-1} e 6×10^8 UFC mL^{-1} .

Os isolados foram plaqueados em meio NA e mantidos a 30 °C até seu crescimento (aproximadamente 48 horas). Após o crescimento, foram preparadas as suspensões

aquosas contendo os isolados de *B. thuringiensis* nas concentrações de $4,5$ e 6×10^8 UFC mL⁻¹, segundo a escala de McFarland, para que fossem aplicadas nas plantas.

4.4.5. Metabólitos obtidos de isolados de *Bacillus thuringiensis*

Os isolados foram plaqueados em meio NA e permaneceram a 30 °C até seu crescimento. Após o crescimento, transferiu-se uma colônia dos isolados para cada 10 mL de meio de cultura Batata Dextrose (BD) em tubos 'Falcon' previamente esterilizados. Os tubos foram vedados e mantidos sob agitação por 72 horas, tempo necessário para o crescimento da bactéria e produção de metabólitos.

Após 72 horas, os tubos foram centrifugados por 30 min. (6.000 g) a 4 °C. Os sobrenadantes foram filtrados em membrana Sartorius de 0,8 µm (pré-filtro), 0,45 µm e 0,2 µm e utilizados (metabólito filtrado puro) para aspersão das plantas.

Como testemunha foi utilizado meio BD puro, preparado através do mesmo procedimento, e uma testemunha aspergida somente com água deionizada.

4.4.6. Glicoproteínas extraídas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e *X. campestris* pv. *campestris*.

A extração das glicoproteínas (GPs) foi feita segundo a técnica descrita por Digat e Cambra (1976). Para tal, a cultura de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* (IBSBF 2267) foi plaqueada em meio NA permanecendo por 48 horas a 28 °C. Após o crescimento, 2 g de células foram misturadas a 20 mL de água destilada, agitadas por 3 h em temperatura ambiente e centrifugadas (15.000 g) por 15 min. O sobrenadante foi filtrado duas vezes e precipitado em igual volume de (NH₄)₂SO₄ saturado, mantido por 16 h em geladeira (8 °C) e, depois, novamente centrifugado (20.000 g) por 30 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi dissolvido, no volume original, com água destilada estéril. Procedeu-se a diálise contra água por 48 h. O mesmo procedimento foi realizado para a extração de GPs de uma linhagem de *X. campestris* pv. *campestris* (IBSBF 2150).

Após a diálise, as frações retidas nas membranas foram submetidas à determinação da concentração protéica através do método de Bradford (BRADFORD, 1976). Para tanto, as amostras de GPs foram diluídas 20 vezes em água deionizada e nestas diluições foi adicionado 1000 µL do reagente, preparado através da agitação de 10 mg de Coomassie Blue G-250, 10 mL de ácido fosfórico 89%, 5 mL de etanol e 85 mL de água destilada. As soluções foram submetidas à agitação, deixadas 20 min. em temperatura ambiente e, em

seguida, a absorbância foi determinada no comprimento de onda de 595 nm, em espectrofotômetro Pharmacia Biotech Ultrospec 2000 UV/ VIS.

Através da curva padrão preparada com soro albumina bovina (SAB) comercial, com concentrações variando de 10 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, foram determinadas as concentrações protéicas das amostras de GPs, as quais foram expressas em equivalente μg de SAB por mL de filtrado (Eq μg de SAB mL^{-1}).

As GPs, no primeiro ensaio, foram utilizadas nas concentrações puras de 128,75 Eq μg de SAB mL^{-1} (IBSBF 2267) e 239,27 μg de SAB mL^{-1} (IBSBF 2150) e, no segundo ensaio, padronizou-se a concentração das duas GPs para 97,93 Eq μg de SAB mL^{-1} .

4.4.7. Extrato de *Saccharomyces cerevisiae*

A extração da substância eliciadora presente no extrato comercial da levedura *S. cerevisiae* foi feita segundo a técnica descrita por Hahn e Albersheim (1978). Para tal, 25 mg do extrato de levedura foram dissolvidos, sob agitação, em 125 mL de água deionizada esterilizada e, em seguida, procedeu-se a precipitação dos polissacarídeos em 500 mL de etanol 80%, acrescentado aos poucos na suspensão sob agitação e em gelo. A suspensão foi mantida por quatro dias a 6 °C para a sedimentação do precipitado formado. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e o sedimento gomoso foi ressuspendido em 125 mL de água deionizada esterilizada. A suspensão obtida foi reprecipitada em etanol 80% e, como anteriormente descrito, o sobrenadante foi descartado e o sedimento novamente ressuspendido em 100 mL de água deionizada esterilizada.

A suspensão foi, então, dialisada pelo período de cinco dias em câmara fria a 6 °C contra água destilada trocada duas vezes ao dia e sob agitação. Foram utilizados como membrana de diálise tubos de membrana Spectrapor com capacidade de exclusão de moléculas com peso molecular de 10.000 daltons.

No final do processo, foi retirado o extrato líquido do interior da membrana de diálise, e o precipitado formado foi removido, por filtração, passando primeiro por uma membrana preparativa de 0,8 μm e, em seguida, por membranas de 0,45 e 0,2 μm . A solução não dialisável, retida no interior da membrana de diálise, do extrato bruto de levedura foi mantida a -20 °C.

Após a filtração, a concentração de carboidratos foi determinada através do método de antrona conforme Dische (1962). Em tubos de ensaio foram adicionados 500 μL de solução de extrato bruto diluídos previamente, 1 mL de antrona 2% em ácido sulfúrico concentrado. A mistura foi agitada rapidamente, e em seguida, aquecida em água fervente a 100 °C por 16 min. Após o resfriamento, foi determinada a absorbância no comprimento de onda de 625 nm, em espectrofotômetro Pharmacia Biotech Ultrospec 2000 UV/VIS. Através

da curva padrão preparada com manose comercial PA (Merck) com concentrações variando de 25 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, foi determinada a concentração de carboidratos no extrato de levedura, a qual foi expressa em equivalentes μg de manose por mL (Eq μg de manose mL^{-1}).

O filtrado bruto do extrato de levedura foi diluído com água deionizada esterilizada para as concentrações de 200, 400 e 800 Eq μg de manose mL^{-1} para utilização nos ensaios de indução de resistência.

4.5. Ensaios de indução de resistência local

Os experimentos foram realizados em condições de casa de vegetação, utilizando-se grupos de 5 a 10 plantas por tratamento. Os indutores de resistência, preparados conforme descrito anteriormente (item 4.4), foram aspergidos nas folhas de plantas de maracujazeiro amarelo. As plantas testemunhas foram aspergidas com água deionizada.

Após 72 h (PICCININ, 2000; GUZZO et al., 2001; MÉTRAUX, 2001), as plantas testemunhas e tratadas com os indutores foram inoculadas através de ferimento e aspersão, até o ponto de escorrimento, com a suspensão de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* na concentração de 3×10^8 UFC mL^{-1} ($A_{600\text{nm}} = 0,283$), mantidas em temperatura ambiente, condições de alta umidade e fotoperíodo de 12 horas por uma semana e, posteriormente, em casa-de-vegetação até o aparecimento de sintomas.

Em todos os ensaios utilizou-se testemunha negativa da doença, com plantas de maracujazeiro amarelo feridas sem a inoculação do patógeno.

4.6. Ensaios de indução de resistência sistêmica

Os experimentos para avaliação dos efeitos sistêmicos dos indutores foram realizados com as concentrações mais eficientes dos indutores determinadas nos ensaios anteriores de indução de resistência local (item 4.5). Foram utilizados grupos de cinco plantas por tratamento.

Os indutores de resistência, preparados conforme descrito anteriormente (item 4.4), foram aspergidos, até o ponto de escorrimento, nas quatro primeiras folhas basais das plantas de maracujazeiro amarelo. As plantas testemunhas foram aspergidas com água deionizada.

Após 72 h, as quatro folhas tratadas com o indutor e as duas folhas superiores, não tratadas (acima das tratadas), foram feridas e inoculadas por aspersão, até o ponto de escorrimento, com a suspensão de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* na concentração de 3×10^8 UFC mL^{-1} ($A_{600\text{nm}} = 0,283$).

As plantas foram mantidas em temperatura ambiente, condições de alta umidade e fotoperíodo de 12 horas por uma semana e, posteriormente, em casa-de-vegetação até o aparecimento de sintomas.

Em todos os ensaios utilizou-se testemunha negativa da doença, com plantas de maracujazeiro amarelo feridas sem a inoculação do patógeno.

4.7. Ensaios de indução de resistência em sementes e plântulas

As sementes de maracujazeiro amarelo foram tratadas com ASM, nas concentrações 12,5 e 25 $\mu\text{g de mL}^{-1}$, e proteína harpina, nas concentrações de 0,003 e 0,0075 mg mL^{-1} . Foram preparados 50 mL das soluções dos produtos em água deionizada esterilizada, onde as sementes mantidas por 24 horas. Após as 24 horas, o líquido foi dispensado e as sementes foram utilizadas para o plantio. Utilizaram-se cinco vasos para cada tratamento, sendo que em cada recipiente foram depositadas cinco sementes. Dois vasos de cada tratamento foram aspergidos novamente com os indutores quando as plântulas possuíam um par de folhas verdadeiras.

Quando as plântulas estavam com dois pares de folhas verdadeiras foram inoculadas, através de ferimento e aspersão, com *X. axonopodis* pv. *passiflorae* na concentração de 3×10^8 UFC mL^{-1} ($A_{600\text{nm}} = 0,283$).

As plântulas foram mantidas em temperatura ambiente, condições de alta umidade e fotoperíodo de 12 horas por uma semana e, posteriormente, em condições de casa de vegetação até o aparecimento de sintomas.

4.8. Efeito direto dos indutores de resistência no crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

As suspensões de ASM, harpina e *S. cerevisiae*, preparadas como descritas anteriormente (item 4.4.1, 4.4.2 e 4.4.3), foram filtradas em membrana Sartorius de 0,8 μm (pré-filtro), 0,45 μm e 0,2 μm e, posteriormente, incorporadas em meio NA. Utilizou-se das suspensões uma concentração necessária para que o meio NA ficasse com as concentrações finais desejadas, isto é, iguais ou maiores àquelas empregadas nos ensaios de indução de resistência.

Posteriormente, suspensões bacterianas de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* na concentração de 3×10^3 UFC mL^{-1} foram plaqueadas em meio NA incorporado com as diferentes concentrações dos indutores (citadas nos itens 4.4.1, 4.4.2 e 4.4.7), utilizando-se três placas por tratamento. Como testemunha foram plaqueadas suspensões bacterianas em meio NA.

As placas foram incubadas a 27 °C sob fotoperíodo de 12 horas. Após três dias as placas foram avaliadas através da contagem das UFC.

4.9. Avaliação dos ensaios

4.9.1. Testes de patogenicidade

A avaliação dos testes de patogenicidade foi feita através da verificação do aparecimento, ou não, dos sintomas característicos da bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, aproximadamente, 10 dias após a inoculação.

4.9.2. Indução de resistência local

A avaliação dos sintomas foi realizada, aproximadamente, 10 dias após a inoculação, observando-se quatro folhas tratadas e inoculadas, de cada planta, comparando-as com as plantas testemunhas.

A proteção foi calculada como redução da severidade da doença e expressa como porcentagem do controle de acordo com Moraes et al. (1976), obtida através da equação:

$$\%P = \frac{(SI \text{ em } M - SI \text{ em } M - IR) \times 100}{(SI \text{ em } M)}$$

Onde,

SI= severidade de infecção.

M= folhas de maracujazeiro de plantas testemunhas.

M - IR= folhas de maracujazeiro tratadas com indutor de resistência.

Determinou-se a severidade da doença, expressa como porcentagem de área foliar lesionada (PAFL), através do Programa Quant V.1.0 - Softwear para Quantificação de Doenças de Plantas - Universidade Federal de Viçosa - UFV (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2003).

O programa Quant é um software para análise de imagens, caracterizado por uma seleção de procedimentos básicos e avançados para aplicações em ciência. O programa foi desenvolvido para quantificar severidade de doenças de plantas, a partir de imagens digitais obtidas por meio de "scanner" ou máquinas fotográficas digitais.

As dezenas ou centenas de milhares de cores da imagem digital original são reduzidas a três ou quatro cores apenas, cada uma representando, por exemplo: fundo da imagem, tecido sadio, clorótico e necrótico. Quant fornece a área foliar sadia e doente

(clorótica, necrótica e esporulada), a severidade, bem como o número, tamanho, forma e posição das lesões na folha (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2003).

4.9.3. Indução de resistência sistêmica

A avaliação dos sintomas para verificação da indução de resistência sistêmica foi realizada, aproximadamente, 10 dias após a inoculação. Para tal, observou-se em cada planta as quatro folhas tratadas e inoculadas e as duas folhas acima das tratadas (folhas não tratadas e inoculadas), comparando-as com as respectivas folhas das plantas testemunhas.

A proteção e a severidade da doença foram determinadas da mesma forma que no item anterior (item 4.9.2.).

4.9.4. Indução de resistência em sementes e plântulas

A avaliação dos sintomas foi realizada, aproximadamente, 10 dias após a inoculação, observando-se todas as folhas tratadas e inoculadas, de cada planta, comparando-as com as plantas testemunhas inoculadas.

A proteção e a severidade da doença foram determinadas da mesma forma que nos itens anteriores (itens 4.9.2. e 4.9.3.).

4.9.5. Efeito direto dos indutores de resistência no crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

O efeito direto dos indutores sobre a bactéria foi avaliado através da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por placas, contendo os produtos incorporados ao meio de cultura NA, e por placas testemunhas, contendo meio NA.

4.10. Análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) e para análise estatística os dados obtidos foram submetidos à análise de variância ANOVA e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Quando necessário, os dados foram transformados em arco seno ($X+0,5$).

5. RESULTADOS

5.1. Testes de patogenicidade

A bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, mostrou-se viável e patogênica, com o aparecimento dos sintomas típicos no período de uma semana (Figura 1).



FIGURA 1. Lesão da mancha bacteriana em maracujazeiro amarelo causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

5.2. Indução de resistência local e sistêmica

O efeito do tratamento local em folhas de maracujazeiro amarelo com a proteína harpina, no primeiro experimento, avaliado pela severidade da doença, pode ser observado na Tabela 1 e na Figura 2, onde se verifica que todas as concentrações de harpina proporcionaram aumento dos sintomas no maracujazeiro amarelo.

TABELA 1. Efeito do tratamento foliar com harpina (Messenger®) na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Harpina (0,003 mg mL ⁻¹)	50,16 ± 4,81 a	0	103,65*
Harpina (0,0075 mg mL ⁻¹)	46,82 ± 3,96 a	0	90,09*
Harpina (0,015 mg mL ⁻¹)	51,38 ± 3,69 a	0	108,61*
Harpina (0,03 mg mL ⁻¹)	46,45 ± 3,44 a	0	88,59*
Testemunha	24,63 ± 3,19 b	----	----
CV (%)	52,77		

^z Proteína harpina nas concentrações de 0,003; 0,0075; 0,015 e 0,03 mg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinada em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

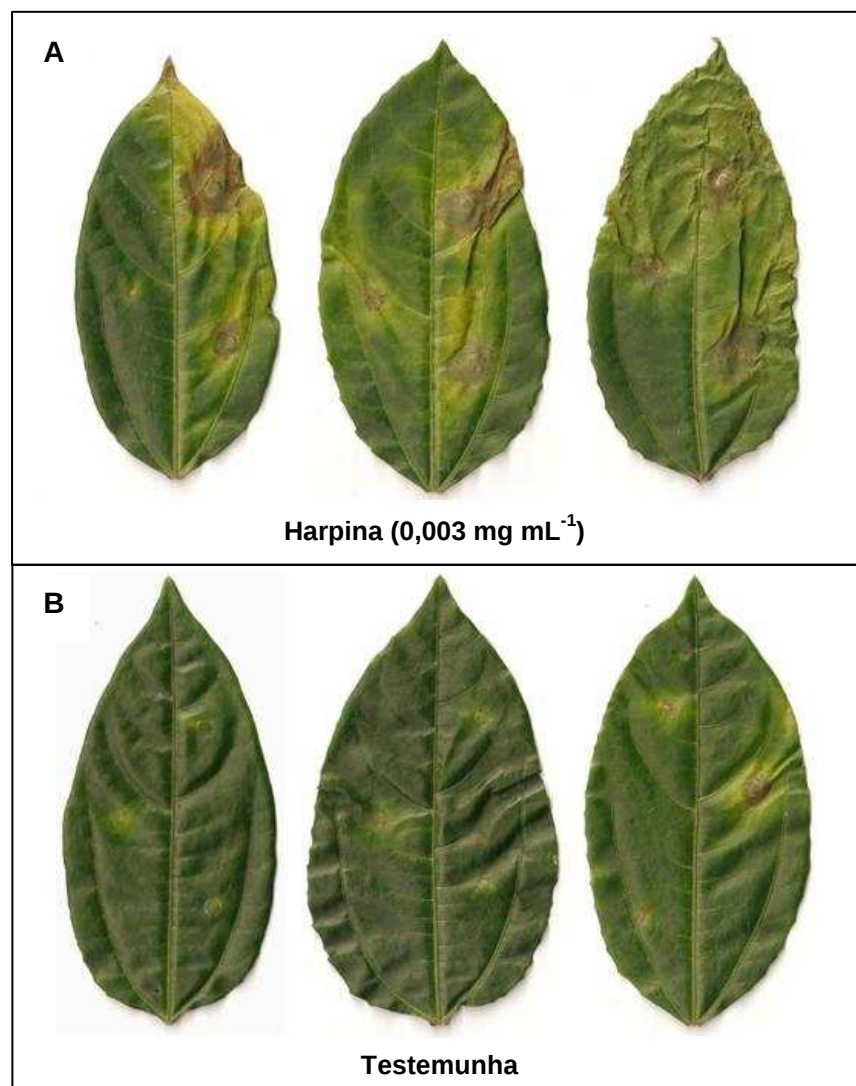


FIGURA 2. Efeito do tratamento foliar com harpina na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento). (A) Folhas tratadas com harpina na concentração de 0,003 mg mL⁻¹. (B) Folhas tratadas com água deionizada.

No 2º experimento, onde se verificou possibilidade de proteção sistêmica, os resultados mostraram que não houve efeito significativo da harpina na proteção de folhas de maracujazeiro amarelo previamente tratadas quando comparadas às folhas correspondentes nas plantas testemunhas, em nenhuma das concentrações do produto. Também não houve diferença na severidade da doença entre as folhas inoculadas e localizadas acima das tratadas com as diferentes concentrações de harpina e as folhas correspondentes nas plantas testemunhas, porém, esta diferença foi observada após a transformação dos dados em arco seno ($X + 0,5$), indicando o aumento dos sintomas nas plantas tratadas com a harpina na concentração de 0,015 mg mL⁻¹ (Tabela 2).

TABELA 2. Efeito do tratamento foliar com harpina (Messenger®) na indução local e sistêmica de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Folhas tratadas (0,003 mg mL ⁻¹)	14,08 ± 3,98 a	0	8,22
Folhas tratadas (0,0075 mg mL ⁻¹)	20,26 ± 3,56 a	0	55,73
Folhas tratadas (0,015 mg mL ⁻¹)	13,29 ± 3,92 a	0	2,15
Testemunha	13,01 ± 2,27 a	----	----
CV (%)	59,09		
Folhas acima das tratadas (0,003 mg mL ⁻¹)	16,43 ± 3,11 ab	0	25,43
Folhas acima das tratadas (0,0075 mg mL ⁻¹)	26,47 ± 8,02 ab	0	61,89
Folhas acima das tratadas (0,015 mg mL ⁻¹)	32,17 ± 7,26 a	0	80,92*
Testemunha	10,97 ± 2,52 b	----	----
CV (%)	46,85		

^z Proteína harpina nas concentrações de 0,003; 0,0075; 0,015 e 0,03 mg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05). Dados originais, porém para efeito de estatística foram transformados para arco seno (X + 0,5).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

O efeito de proteção local em folhas de maracujazeiro amarelo pelo ASM no controle da bacteriose, avaliados pela severidade da doença, pode ser observado nas Tabelas 3 e 4.

No 1º experimento (Tabela 3 e Figura 3), verificou-se diferença significativa entre as plantas tratadas com o ASM na concentração de 100 µg mL⁻¹ e as plantas testemunhas, havendo aumento significativo dos sintomas nas plantas tratadas.

TABELA 3. Efeito do tratamento foliar com ASM (Bion®) na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
ASM (12,5 µg mL ⁻¹)	14,64 ± 2,39 c	31,01	0
ASM (25 µg mL ⁻¹)	16,36 ± 5,12 bc	22,91	0
ASM (50 µg mL ⁻¹)	34,82 ± 6,3 ab	0	64,09
ASM (100 µg mL ⁻¹)	50,49 ± 4,22 a	0	137,94*
ASM (200 µg mL ⁻¹)	30,15 ± 4,46 bc	0	42,08
Testemunha	21,22 ± 4,37 bc	----	----
CV (%)	37,60		

^z ASM aplicado nas concentrações de 12,5; 25; 50; 100 e 200 µg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

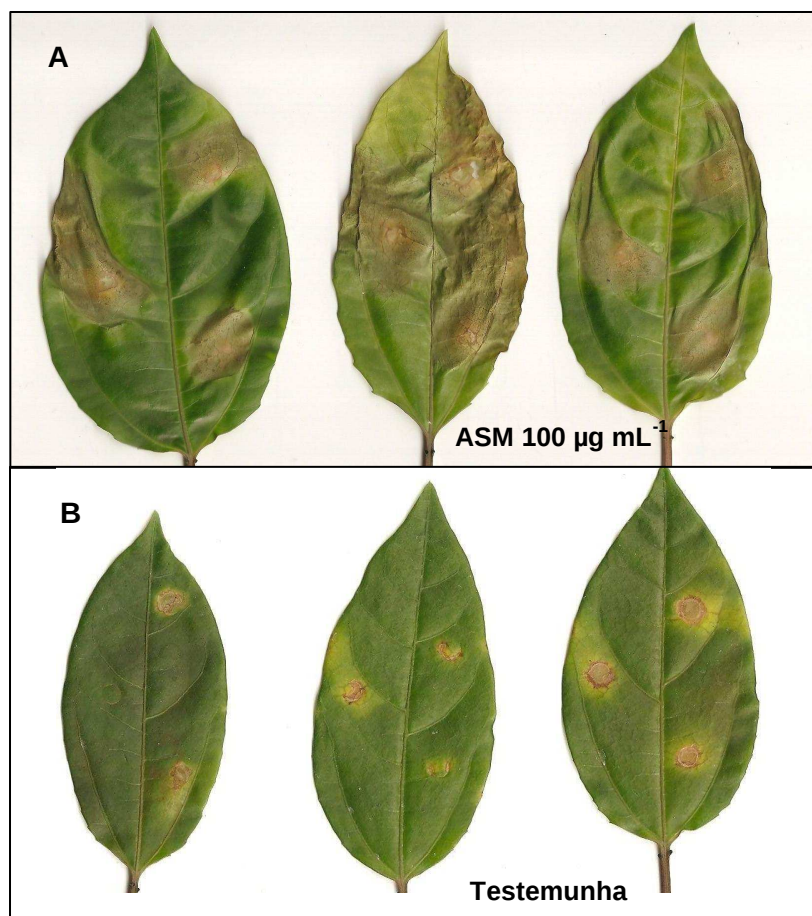


FIGURA 3. Efeito do tratamento foliar com ASM na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento). (A) Folhas tratadas com ASM na concentração de 100 µg mL⁻¹. (B) Folhas tratadas com água deionizada.

De forma semelhante ao constatado no 1º experimento, o 2º experimento (Tabela 4) indicou que o ASM, nas concentrações de 12,5 e 25 µg de ASM mL⁻¹, não foi eficiente proteger localmente o maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

TABELA 4. Efeito do tratamento foliar com ASM (Bion®) na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
ASM (12,5 µg mL ⁻¹)	2,25 ± 1,73 b	21,05	0
ASM (25 µg mL ⁻¹)	2,07 ± 2,44 b	27,37	0
ASM (50 µg mL ⁻¹)	7,49 ± 0,37 a	0	162,81
ASM (100 µg mL ⁻¹)	5,98 ± 0,51 ab	0	109,82
Testemunha	2,85 ± 0,57 ab	----	----
CV (%)	48,95		

^z ASM aplicado nas concentrações de 12,5; 25; 50 e 100 µg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

Os resultados do 3º experimento com ASM, onde se avaliou a possibilidade de proteção local e sistêmica de plantas de maracujazeiro amarelo, avaliada pela severidade da doença, podem ser observados na Tabela 5 e Figura 4.

Nas folhas tratadas com o ASM na concentração de 12,5 µg mL⁻¹, verificou-se diminuição significativa da severidade da mancha bacteriana em relação às folhas correspondentes nas plantas testemunhas, indicando a possibilidade de indução de resistência local.

Também foi verificada uma diminuição significativa dos sintomas entre as folhas acima das tratadas com o ASM na concentração 12,5 µg mL⁻¹ e as folhas correspondentes das plantas testemunhas, indicando a possibilidade de indução de resistência sistêmica nas plantas tratadas com o ASM.

TABELA 5. Efeito do tratamento foliar com ASM (Bion®) na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (3º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Folhas tratadas (12,5 µg mL ⁻¹)	8,03 ± 1,68 b	67,36*	0
Folhas tratadas (25 µg mL ⁻¹)	15,25 ± 4,58 ab	38,01	0
Testemunha	24,60 ± 6,41 a	----	----
CV (%)	63,34		
Folhas acima das tratadas (12,5 µg mL ⁻¹)	7,97 ± 2,58 b	70,24*	0
Folhas acima das tratadas (25 µg mL ⁻¹)	15,09 ± 5,54 ab	43,65	0
Testemunha	26,78 ± 6,99 a	----	----
CV (%)	53,93		

^z ASM aplicado nas concentrações de 12,5 e 25 µg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

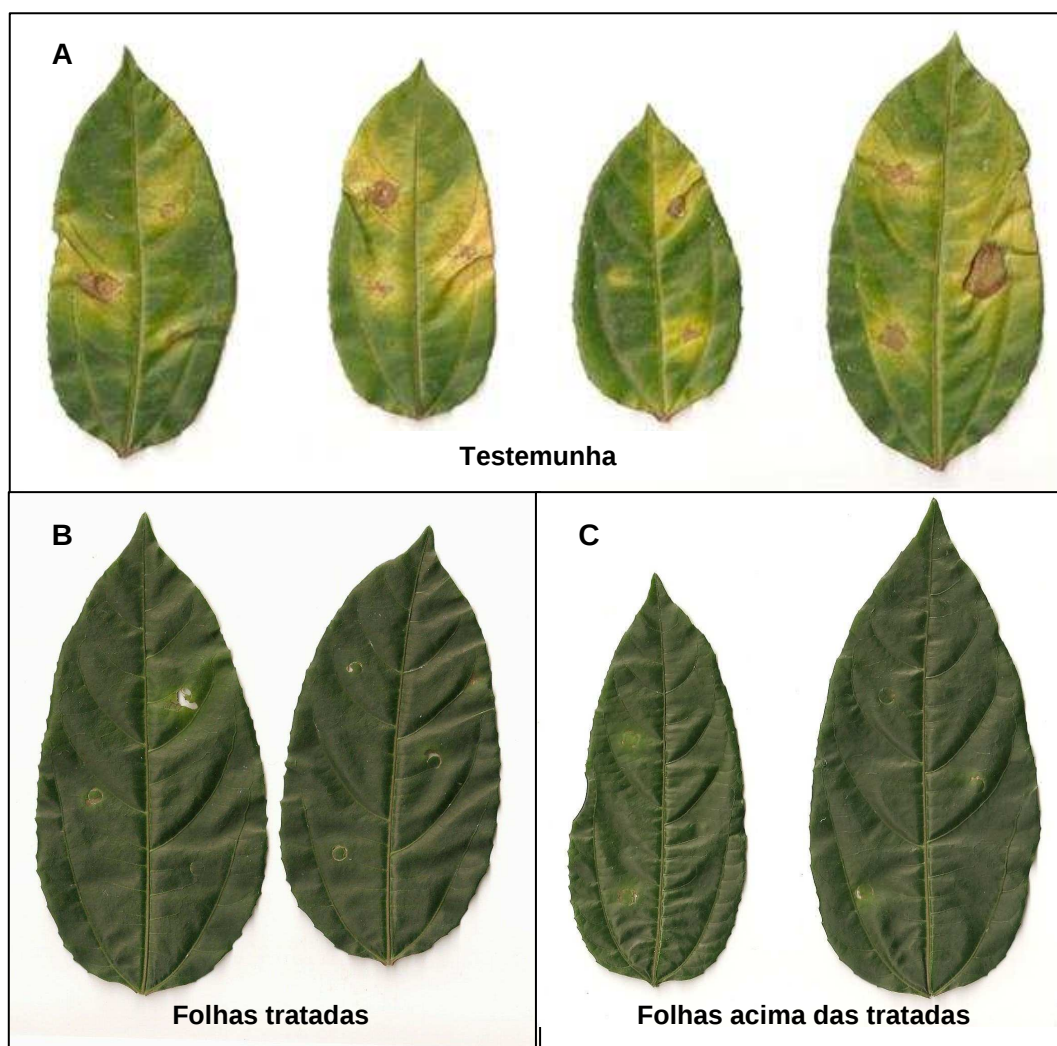


FIGURA 4. Efeito do tratamento foliar com ASM na indução de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (3º experimento). (A) Folhas tratadas com água deionizada. (B) Folhas tratadas com ASM na concentração de $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$. (C) Folhas acima das tratadas com ASM na concentração de $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$.

O efeito dos produtos Dimy Pel® e Dipel PM® na proteção local de plantas de maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, avaliados pela severidade da doença, pode ser observado na Tabela 6 e Figura 5. Os resultados mostram aumento significativo dos sintomas da doença entre as plantas tratadas com Dimy Pel® a 5 mg mL^{-1} e as plantas testemunhas, sendo que as demais concentrações de Dimy Pel® e Dipel PM® avaliadas não influenciaram significativamente a severidade da doença.

TABELA 6. Efeito do tratamento foliar com os produtos Dimy Pel® e Dipel PM® à base de *Bacillus thuringiensis*, na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Dimy Pel® 5 mg mL ⁻¹	23,46 ± 5,68 a	0	169,04*
Dimy Pel® 10 mg mL ⁻¹	19,27 ± 3,22 ab	0	120,99
Dipel PM® 5 mg mL ⁻¹	16,05 ± 2,89 ab	0	84,06
Dipel PM® 10 mg mL ⁻¹	14,60 ± 3,62 ab	0	67,43
Testemunha	8,72 ± 1,59 b	----	----
CV (%)	48,71		

^z Produtos Dipel PM® e Dimy Pel® aplicados nas concentrações de 5 e 10 mg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

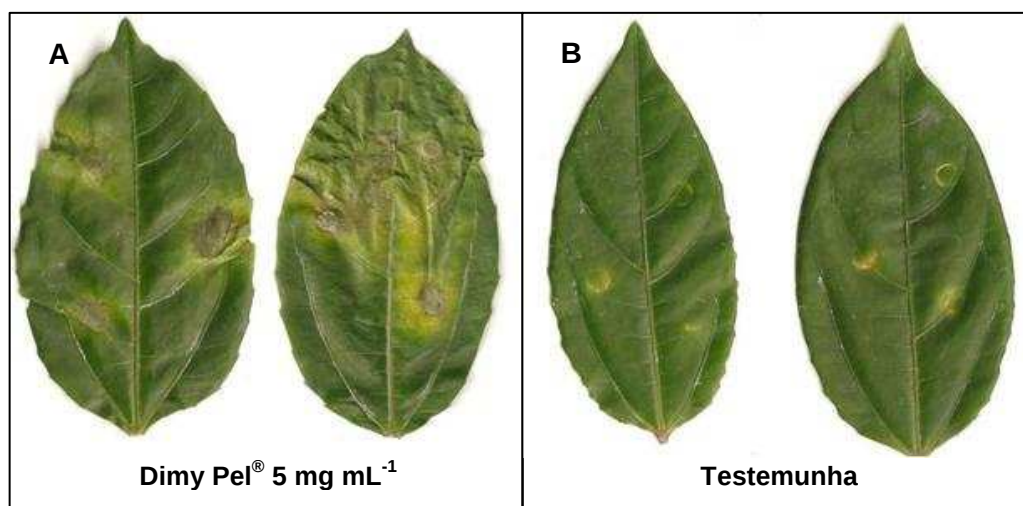


FIGURA 5. Efeito do tratamento foliar com o produto à base de *B. thuringiensis*, Dimy Pel®, na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A) Folhas tratadas com Dimy Pel® na concentração de 5 mg mL⁻¹. (B) Folhas tratadas com água deionizada.

Os isolados de *B. thuringiensis*, provenientes dos produtos Dimy Pel® e Dipel PM®, e os respectivos metabólitos produzidos em meio de cultura líquido (BD), não reduziram significativamente a severidade da bacteriose em maracujazeiro amarelo, conforme revelam os resultados apresentados nas Tabelas 7 e 8.

TABELA 7. Efeito do tratamento foliar com *Bacillus thuringiensis*, isolados dos produtos Dimy Pel® e Dipel PM®, na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Bt-Dimy 4,5x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	6,46 ± 1,67 a	53,49	0
Bt-Dimy 6x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	8,96 ± 1,43 a	35,49	0
Bt-Dipel 4,5x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	10,34 ± 1,26 a	25,56	0
Bt-Dipel 6x10 ⁸ UFC mL ⁻¹	15,64 ± 4,41 a	0	12,6
Testemunha	13,89 ± 4,17 a	----	----
CV (%)	47,85		

^z Bt isolado do produto Dimy Pel® e Bt isolado do produto Dipel PM®, aplicados nas concentrações aproximadas de 4,5x10⁸ e 6x10⁸ UFC mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

TABELA 8. Efeito do tratamento foliar com os metabólitos produzidos pelos *Bacillus thuringiensis*, isolados dos produtos Dimy Pel® e Dipel PM®, na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Metabólito Bt-Dimy	19,40 ± 5,79 a	0	102,51
Metabólito Bt-Dipel	13,54 ± 3,83 a	0	41,34
Testemunha	9,58 ± 1,80 a	----	----
CV (%)	56,67		

^z Metabólitos puros dos *B. thuringiensis* isolados dos produtos Dimy Pel® e Dipel PM®.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

Os resultados, avaliados pela severidade da doença, obtidos no 1º experimento onde se verificou a possibilidade de indução de resistência local e sistêmica de maracujazeiro amarelo através do tratamento prévio com glicoproteínas extraídas de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* (Xa 2267) e de *X. campestris* pv. *campestris* (Xa 2150), estão apresentados na Tabela 9. Verificou-se que, tanto as folhas tratadas, como as folhas acima destas (não tratadas) não apresentaram diferença em relação às folhas correspondentes das plantas testemunhas.

TABELA 9. Efeito do tratamento foliar com glicoproteínas (GPs) extraídas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Xa 2267) e GPs extraídas de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xa 2150) na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Folhas tratadas (Xa 2150)	35,87 ± 7,98 a	12,77	0
Folhas tratadas (Xa 2267)	22,45 ± 1,55 a	45,4	0
Testemunha	41,12 ± 8,58 a	----	----
CV (%)	58,25		
Folhas acima das tratadas (Xa 2150)	25,60 ± 7,08 a	35,3	0
Folhas acima das tratadas (Xa 2267)	36,81 ± 16,64 a	6,97	0
Testemunha	39,57 ± 9,45 a	----	----
CV (%)	69,3		

^z GP de Xa 2150, na concentração de 239,27 µg mL⁻¹, e de Xa 2267, na concentração de 128,75 µg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

No 2º experimento com as GPs, quando foram utilizadas concentrações menores, os resultados, avaliados pela severidade da doença, mostraram redução significativa dos sintomas da bacteriose nas folhas tratadas (Tabela 10 e Figura 6), indicando a possibilidade de indução de resistência local do maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

TABELA 10. Efeito do tratamento foliar com glicoproteínas (GPs) extraídas de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Xa 2267) e GPs extraídas de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xa 2150) na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M $\pm$ EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Folhas tratadas (Xa 2150)	6,39 $\pm$ 1,05 a	72,51*	0
Folhas tratadas (Xa 2267)	10,94 $\pm$ 1,29 a	53,01*	0
Testemunha	23,28 $\pm$ 2,93 b	----	----
CV (%)	30,96		
Folhas acima das tratadas (Xa 2150)	14,24 $\pm$ 6,32 a	0	24,91
Folhas acima das tratadas (Xa 2267)	9,11 $\pm$ 2,41 a	20,09	0
Testemunha	11,40 $\pm$ 2,5 a	----	----
CV (%)	53,94		

^z GP de Xa 2150 e de Xa 2267, na concentração de 97,93 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

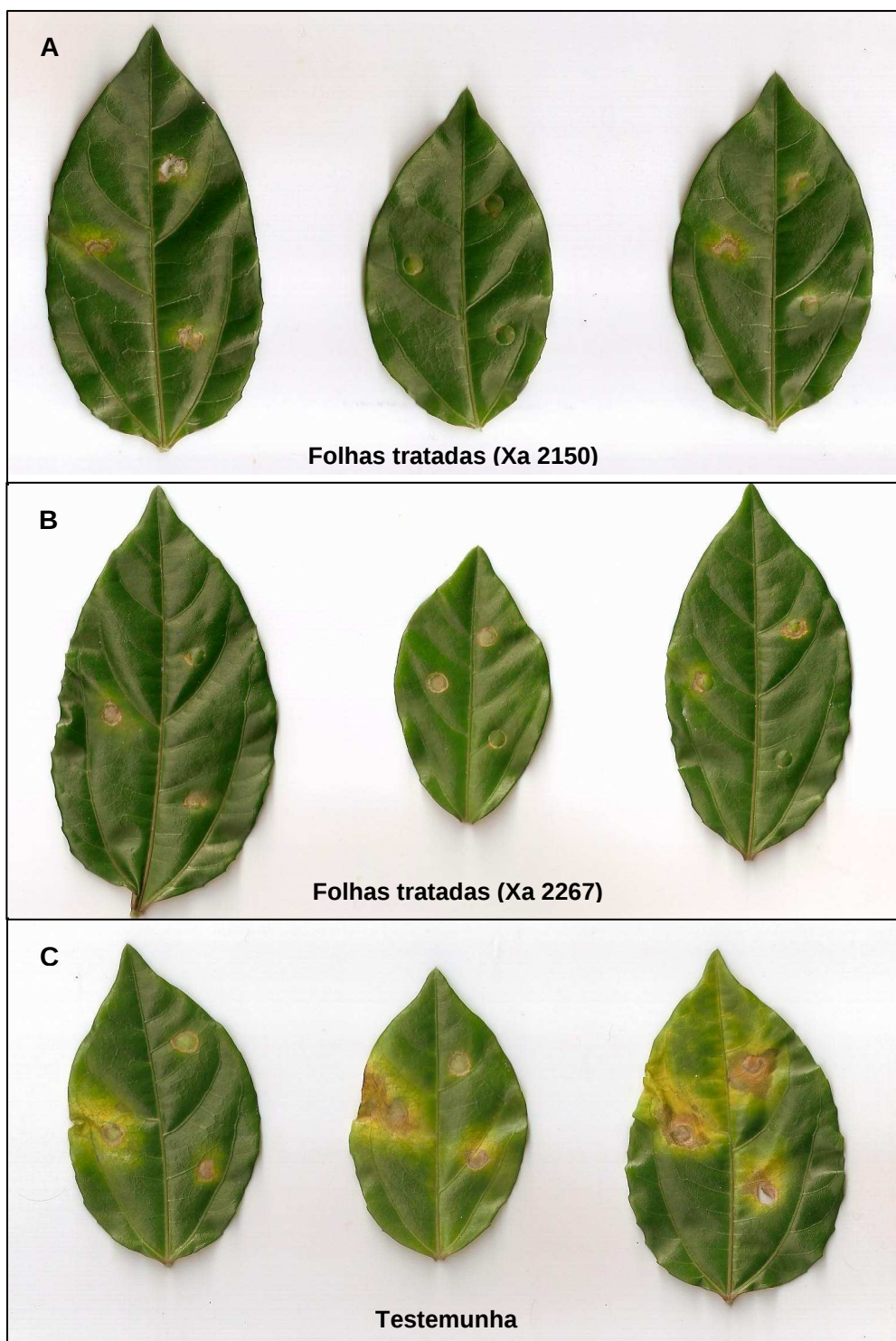


FIGURA 6. Efeito do tratamento foliar com GPs de *Xanthomonas* spp. na indução de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento). (A) Folhas tratadas com GP de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* na concentração de 97,93 μg de SAB mL^{-1} . (B) Folhas tratadas com GP de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* na concentração de 97,93 μg de SAB mL^{-1} . (C) Folhas tratadas com água deionizada.

O efeito do tratamento de folhas de maracujazeiro amarelo com as diferentes concentrações Lev (*S. cerevisiae*) no controle da bacteriose, avaliados pela severidade da doença, pode ser observado nas Tabelas 11 e 12 e nas Figuras 7 e 8.

No 1º experimento (Tabela 11 e Figura 7) onde se verificou a possibilidade de indução de resistência local em maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, os resultados mostram que houve uma diminuição significativa dos sintomas nas plantas tratadas com Lev na concentração de 200 Eq µg de manose mL⁻¹ quando comparadas com as plantas testemunhas.

TABELA 11. Efeito do tratamento foliar com a levedura (Lev) *Saccharomyces cerevisiae* na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Lev 200	2,59 ± 0,40 b	52,04*	0
Lev 400	4,38 ± 0,97 ab	18,89	0
Lev 800	3,24 ± 0,51 ab	40,00	0
Testemunha	5,40 ± 0,71 a	----	----
CV (%)	30,37		

^z Lev nas concentrações de 200, 400 e 800 equivalente µg de manose mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

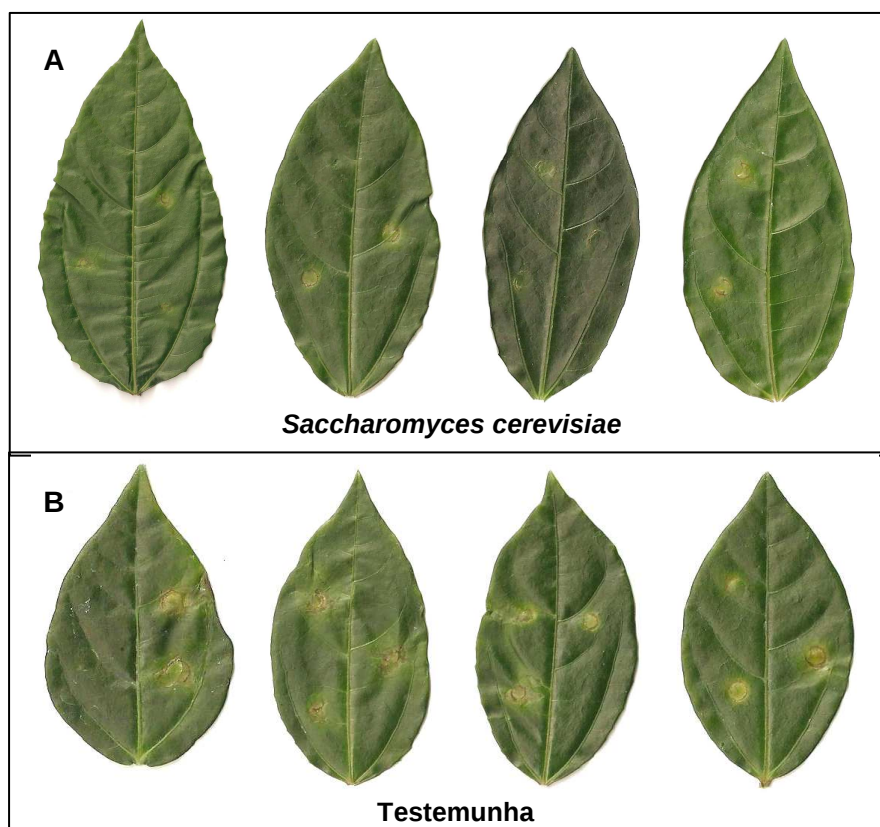


FIGURA 7. Efeito do tratamento foliar com Lev (*Saccharomyces cerevisiae*) na indução local de resistência em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento). (A) Folhas tratadas com Lev na concentração de 200 Eq μg manose mL^{-1} . (B) Folhas tratadas com água deionizada.

No 2º experimento (Tabela 12 e Figura 8) onde se verificou a possibilidade de indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, através do tratamento prévio com Lev (*S. cerevisiae*), os resultados mostram novamente uma diminuição significativa dos sintomas nas plantas tratadas com Lev na concentração de 200 Eq μg de manose mL^{-1} quando comparadas com as plantas testemunhas, porém não houve diferença significativa entre as folhas das plantas testemunhas e as folhas acima das tratadas (não tratadas), indicando a possibilidade de indução de mecanismos de defesa somente local.

TABELA 12. Efeito do tratamento foliar com a levedura (Lev) *Saccharomyces cerevisiae* na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
Folhas tratadas (Lev 200)	10,71 ± 1,28 a	53,99*	0
Folhas tratadas (Lev 400)	15,94 ± 2,62 ab	31,53	0
Folhas tratadas (Lev 800)	22,77 ± 5,05 b	2,19	0
Testemunha	23,28 ± 2,93 b	----	----
CV (%)	35,60		
Folhas acima das tratadas (Lev 200)	5,47 ± 1,50 a	52,02	0
Folhas acima das tratadas (Lev 400)	7,65 ± 2,36 a	32,89	0
Folhas acima das tratadas (Lev 800)	11,77 ± 5,57 a	0	3,25
Testemunha	11,40 ± 2,50 a	----	----
CV (%)	45,15		

^z Lev nas concentrações de 200, 400 e 800 equivalente µg de manose mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

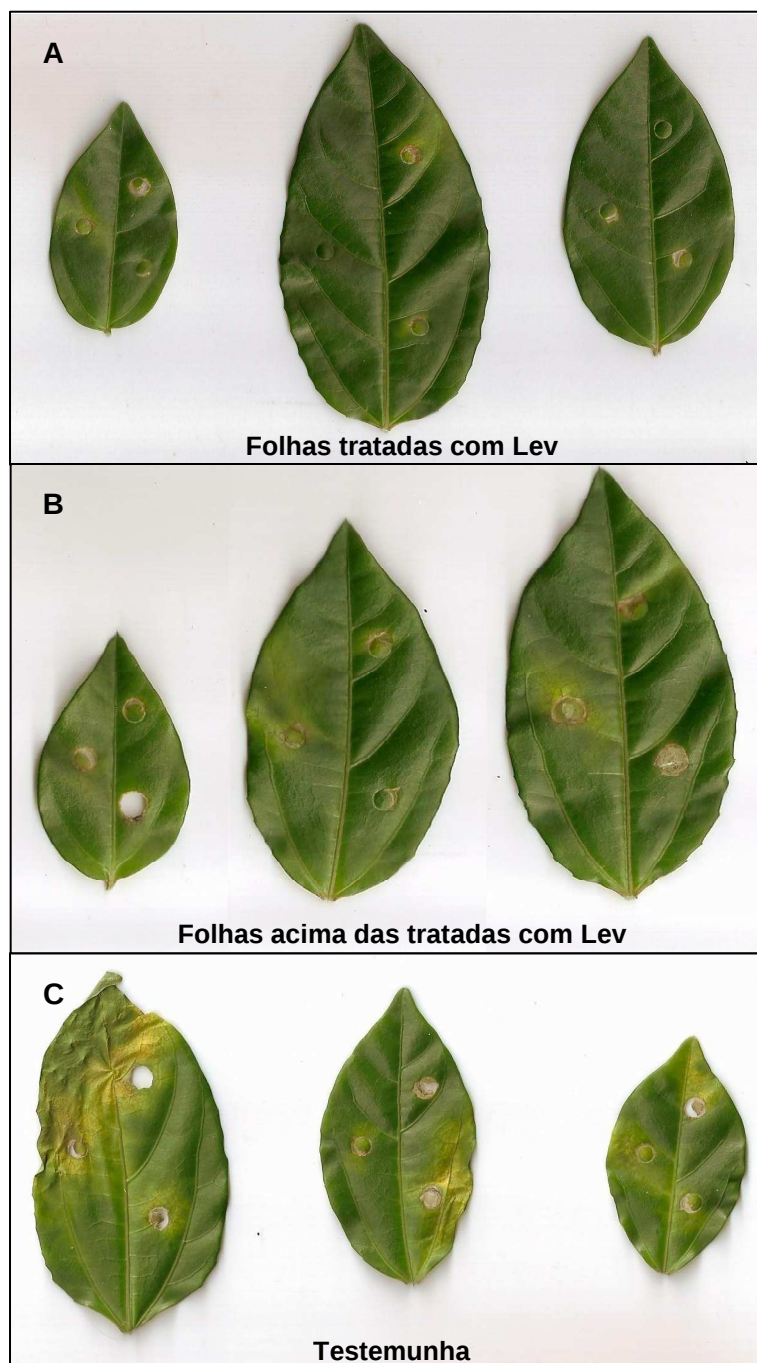


FIGURA 8. Efeito do tratamento foliar com Lev (*Saccharomyces cerevisiae*) na indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento). (A) Folhas tratadas com Lev na concentração de 200 Eq μg manose mL^{-1} . (B) Folhas acima das tratadas com Lev na concentração de 200 Eq μg manose mL^{-1} . (C) Folhas tratadas com água deionizada.

5.3. Indução de resistência em sementes e plântulas

No 1º experimento, quando se observou o efeito do tratamento das sementes de maracujazeiro amarelo com o ASM e a proteína harpina no controle da bacteriose, avaliados pela severidade da doença (Tabela 13 e Figura 9), os resultados mostraram que os dois produtos, nas duas concentrações utilizadas, diminuíram os sintomas da bacteriose, indicando uma indução de resistência nas plântulas provenientes das sementes tratadas e, posteriormente, inoculadas com *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

TABELA 13. Efeito do tratamento de sementes com o ASM e a proteína harpina, na indução de resistência em plântulas de maracujazeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
ASM (12,5 µg mL ⁻¹)	3,73 ± 0,92 c	81,20*	0
ASM (25 µg mL ⁻¹)	7,65 ± 1,48 bc	61,44*	0
Harpina (0,003 mg mL ⁻¹)	10,98 ± 2,68 bc	44,66*	0
Harpina (0,0075 mg mL ⁻¹)	11,12 ± 2,21 b	43,95*	0
Testemunha	19,84 ± 2,36 a	----	----
CV (%)	50,81		

^z ASM na concentração de 12,5 e 25 µg mL⁻¹ e proteína harpina na concentração de 0,003 e 0,0075 mg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

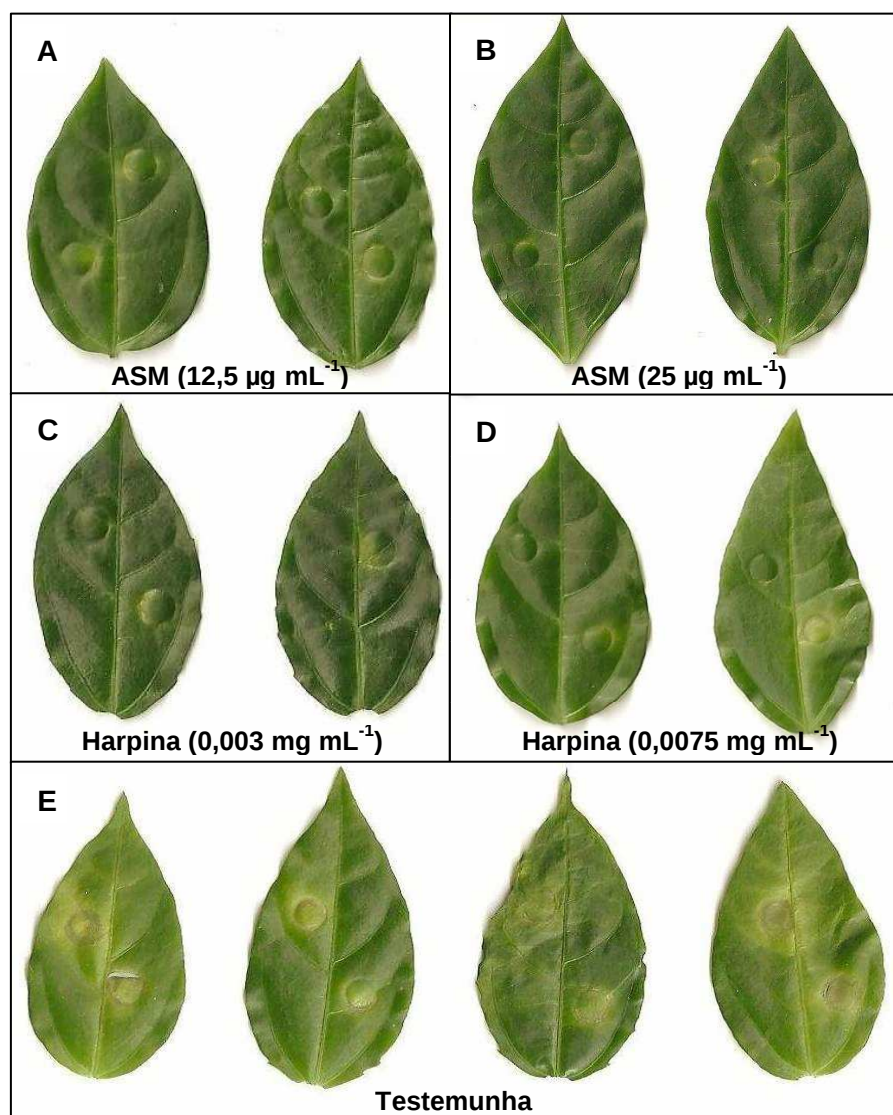


FIGURA 9. Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo com ASM e harpina na indução de resistência em plântulas de maracujezeiro amarelo a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A e B) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com ASM. (C e D) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com harpina. (E) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com água deionizada.

No mesmo experimento (1º experimento), o efeito do tratamento das sementes de maracujazeiro amarelo com o ASM e a proteína harpina, com repetição do tratamento nas plântulas, no controle da bacteriose, avaliados pela severidade da doença, pode ser observado na Tabela 14 e na Figura 10.

Os resultados mostram que o ASM, nas duas concentrações utilizadas, diminuiu significativamente os sintomas da bacteriose nas plântulas, quando estas foram comparadas às

testemunhas, porém a harpina só diminuiu os sintomas nas plântulas com a concentração de 0,003 mg mL⁻¹, não havendo diferença, em relação às testemunhas, na maior concentração.

TABELA 14. Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo e, posteriormente, das plântulas com o ASM e a proteína harpina, na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (1º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
ASM (12,5 µg mL ⁻¹)	2,08 ± 0,45 c	89,52*	0
ASM (25 µg mL ⁻¹)	1,98 ± 0,41 c	90,02*	0
Harpina (0,003 mg mL ⁻¹)	10,64 ± 1,50 b	46,37*	0
Harpina (0,0075 mg mL ⁻¹)	15,12 ± 2,32 ab	23,79	0
Testemunha	19,84 ± 2,36 a	----	----
CV (%)	43,48		

^z ASM na concentração de 12,5 e 25 µg mL⁻¹ e proteína harpina na concentração de 0,003 e 0,0075 mg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

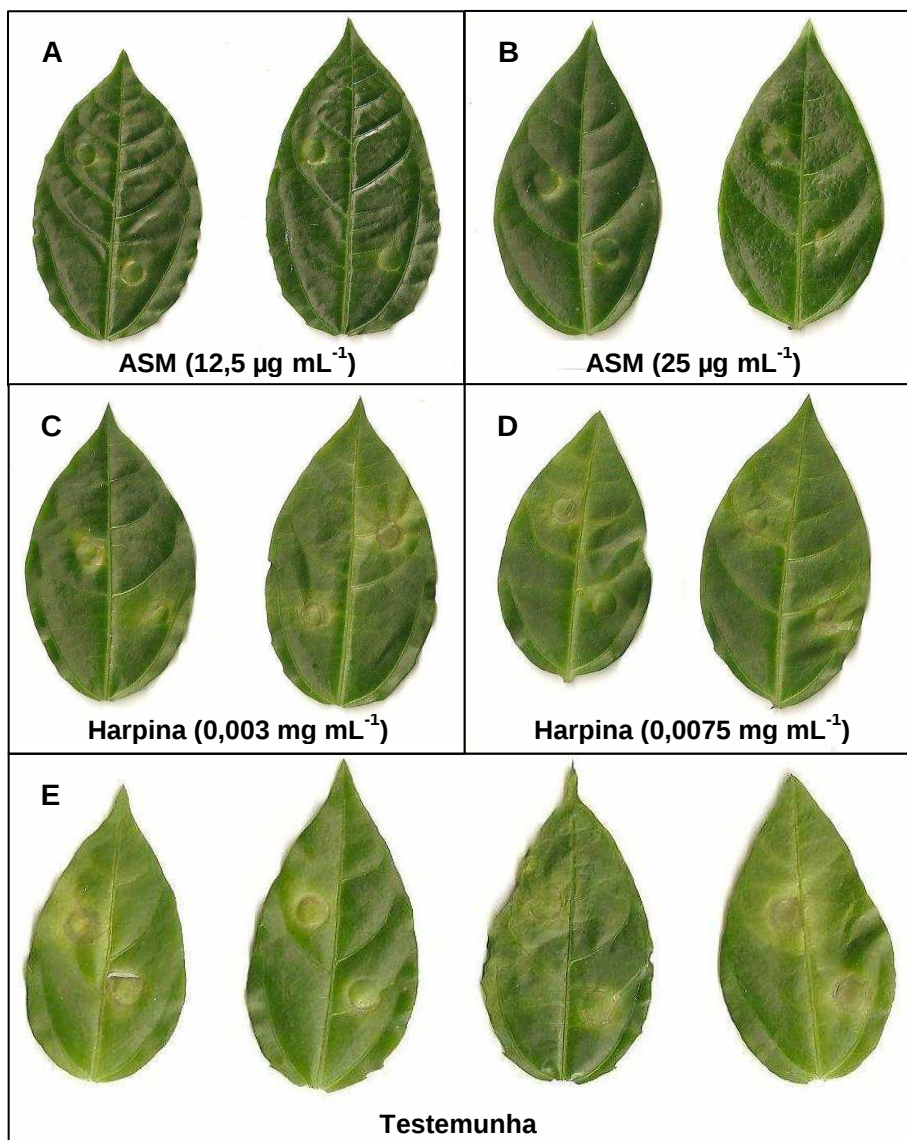


FIGURA 10. Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo e, posteriormente, das plântulas com ASM e harpina na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A e B) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com ASM. (C e D) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com harpina. (E) Folhas provenientes de sementes tratadas com água deionizada.

No 1º experimento de indução de resistência em sementes, observou-se também uma maior germinação e um maior crescimento das plântulas de maracujazeiro amarelo provenientes de sementes tratadas com ASM ou harpina, nas duas concentrações testadas, conforme mostram as Figuras 11 e 12.

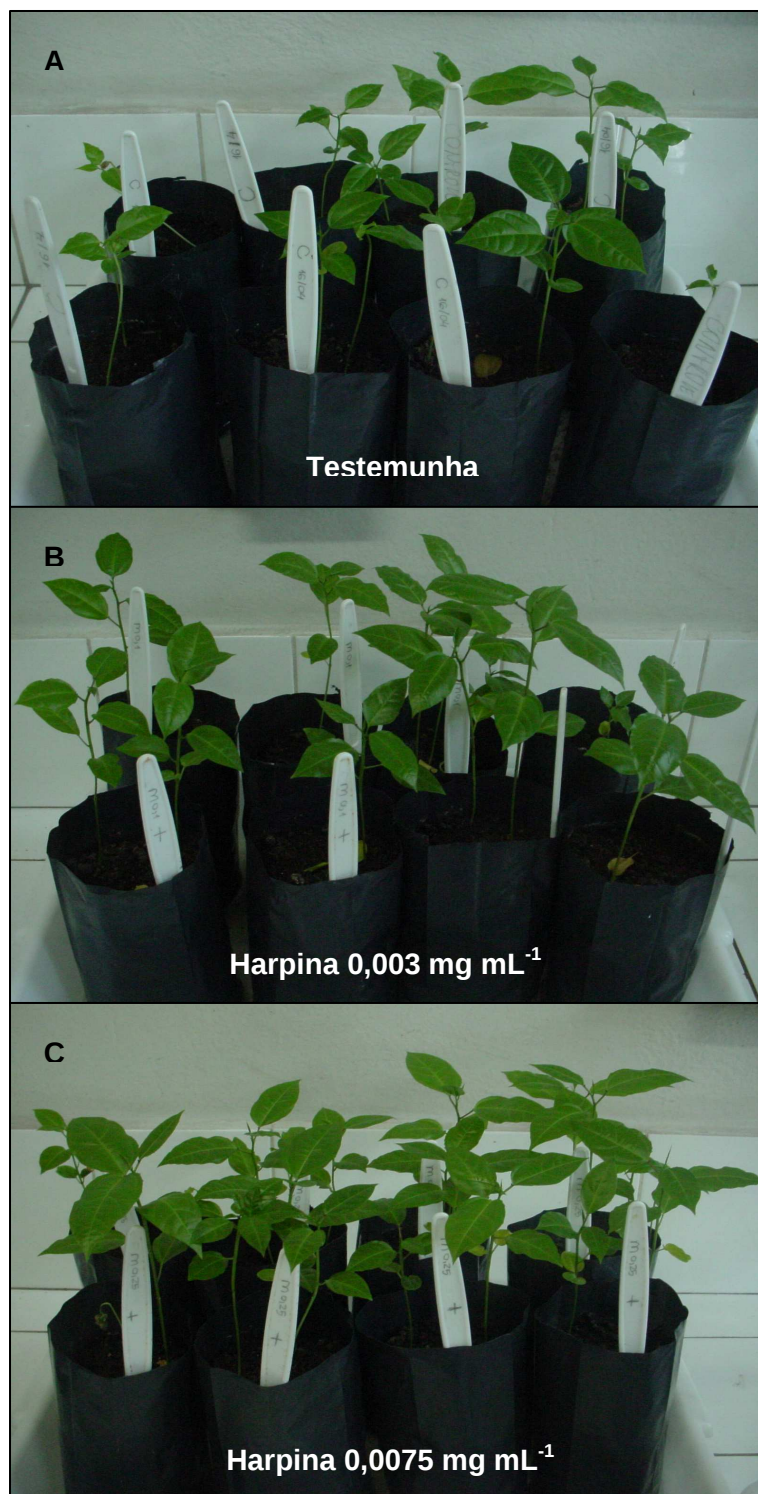


FIGURA 11. Efeito do tratamento das sementes com harpina na germinação e no crescimento de plântulas de maracujazeiro amarelo. (A) Plântulas provenientes de sementes tratadas com água deionizada. (B e C) Plântulas provenientes de sementes tratadas com harpina.



FIGURA 12. Efeito do tratamento das sementes com o ASM na germinação e no crescimento de plântulas de maracujazeiro amarelo. (A) Plântulas provenientes de sementes tratadas com água deionizada. (B e C) Plântulas provenientes de sementes tratadas com o ASM.

No 2º experimento, o efeito do tratamento das sementes de maracujazeiro amarelo com o ASM e a proteína harpina no controle da bacteriose, avaliados pela severidade da doença, pode ser observado na Tabela 15 e Figura 13.

Os resultados mostram que o ASM, nas duas concentrações utilizadas, e a proteína harpina, na concentração de 0,003 mg mL⁻¹, reduziram significativamente os sintomas da bacteriose do maracujazeiro amarelo, indicando a possibilidade da ativação dos mecanismos de defesa nas plântulas, provenientes das sementes tratadas e, posteriormente, inoculadas com *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

TABELA 15. Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo com o ASM e a proteína harpina, na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
ASM (12,5 µg mL ⁻¹)	5,54 ± 1,06 a	70,23*	0
ASM (25 µg mL ⁻¹)	4,39 ± 0,85 a	76,41*	0
Harpina (0,003 mg mL ⁻¹)	5,39 ± 1,28 a	71,04*	0
Harpina (0,0075 mg mL ⁻¹)	10,86 ± 2,28 ab	41,64	0
Testemunha	18,61 ± 2,36 b	----	----
CV (%)	56,92		

^z ASM na concentração de 12,5 e 25 µg mL⁻¹ e proteína harpina na concentração de 0,003 e 0,0075 mg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

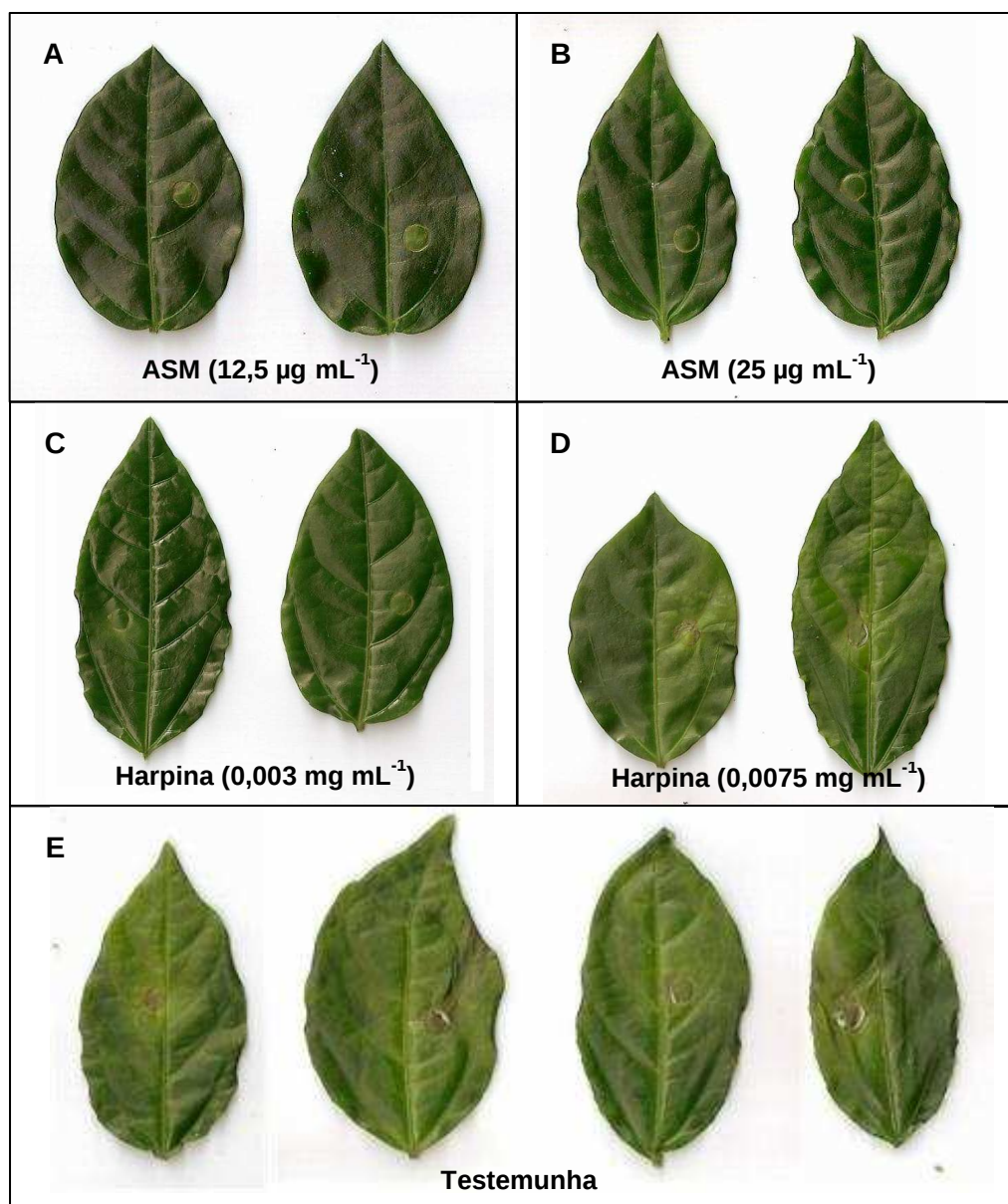


FIGURA 13. Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo com ASM e harpina na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A e B) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com ASM. (C e D) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com harpina. (E) Folhas de plântulas provenientes de sementes tratadas com água deionizada.

O efeito do tratamento das sementes de maracujazeiro amarelo com o ASM e a proteína harpina, com repetição do tratamento nas plântulas, no controle da bacteriose no 2º experimento, avaliados pela severidade da doença, pode ser observado na Tabela 16 e na Figura 14.

Os resultados mostram que os dois produtos, nas duas concentrações utilizadas, diminuíram significativamente os sintomas da bacteriose nas plântulas, provenientes das sementes e plântulas tratadas, inoculadas com *X. axonopodis* pv *passiflorae*, indicando a possibilidade de indução de mecanismos de defesa em plântulas de maracujazeiro amarelo.

TABELA 16. Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo e, posteriormente, das plântulas com o ASM e a proteína harpina, na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (2º experimento).

Tratamentos ^z	Porcentagem de área foliar infectada ^y (M ± EP)	Porcentagem de proteção ^x (%)	Indução de suscetibilidade ^x (%)
ASM (12,5 µg mL ⁻¹)	3,91 ± 0,69 a	78,99*	0
ASM (25 µg mL ⁻¹)	3,41 ± 0,56 a	81,68*	0
Harpina (0,003 mg mL ⁻¹)	6,49 ± 1,10 a	65,13*	0
Harpina (0,0075 mg mL ⁻¹)	8,58 ± 2,02 a	53,90*	0
Testemunha	18,61 ± 2,36 b	----	----
CV (%)	54,65		

^z ASM na concentração de 12,5 e 25 µg mL⁻¹ e proteína harpina na concentração de 0,003 e 0,0075 mg mL⁻¹.

^y Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

^x Determinadas em relação à testemunha.

* Valores diferem estatisticamente da testemunha pelo teste de Tukey (P ≤ 0,05).

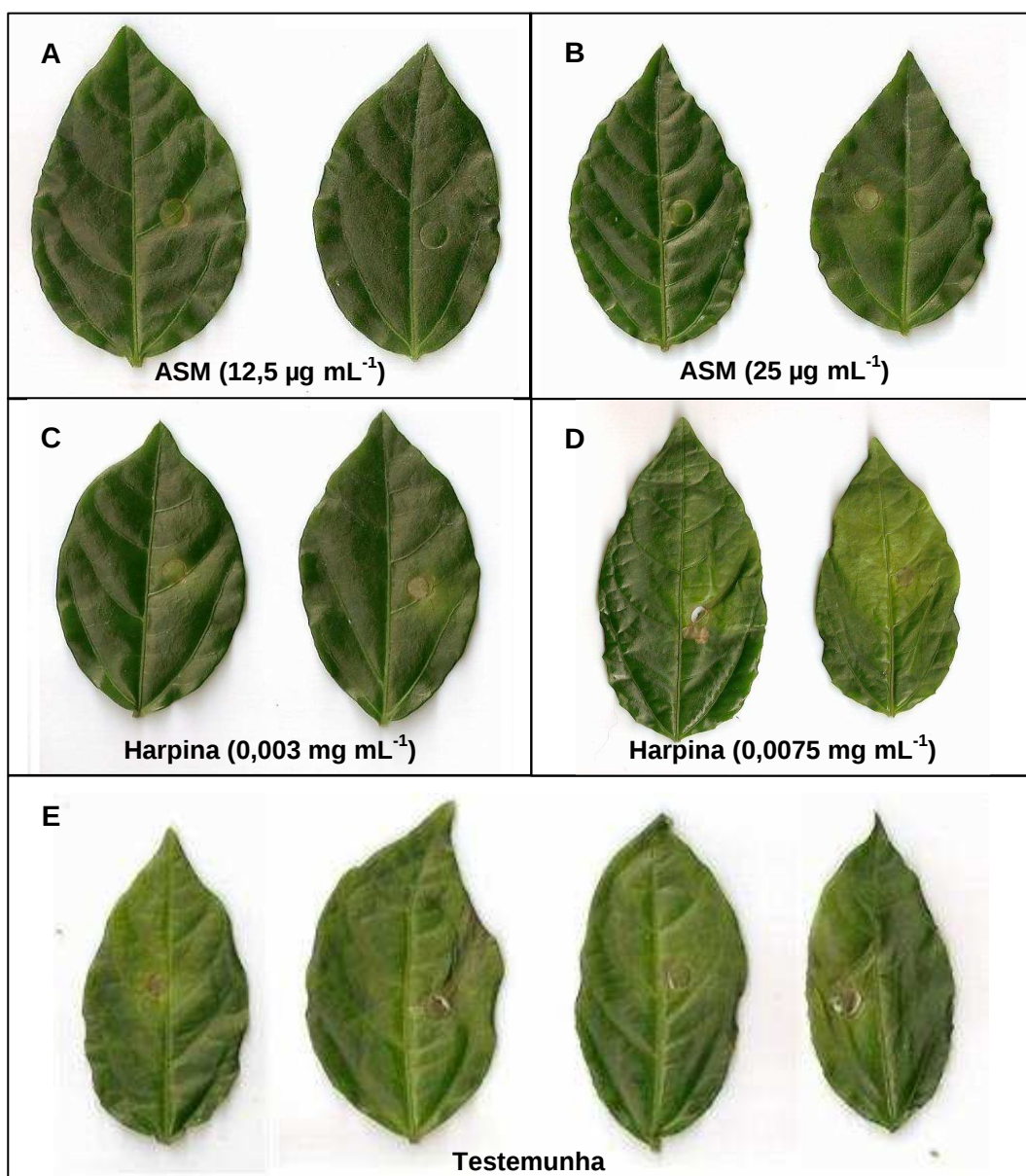


FIGURA 14. Efeito do tratamento de sementes de maracujazeiro amarelo e, posteriormente, das plântulas com ASM e harpina na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. (A e B) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com ASM. (C e D) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com harpina. (E) Folhas provenientes de sementes e plântulas tratadas com água deionizada ao invés do indutor.

Neste 2º experimento de indução de resistência em sementes e plântulas, não se observou diferença na germinação e no crescimento das plântulas de maracujazeiro amarelo provenientes de sementes tratadas com ASM ou harpina.

5.4. Efeito direto dos indutores de resistência no crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

O efeito direto do ASM, utilizado como indutor de resistência, sobre o crescimento *in vitro* da bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, avaliado pela contagem das UFC pode ser observado, na Tabela 17 e na Figura 15. Os resultados mostram que não houve diferença significativa de crescimento da bactéria cultivada em placas contendo meio NA incorporado com as diferentes concentrações do produto e as placas testemunhas (meio NA puro).

TABELA 17. Efeito direto (*in vitro*) do acibenzolar-S-metil (ASM) sobre o desenvolvimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

Tratamentos ^z	Número médio de colônias de Xa (M $\pm$ EP) ^y
ASM (50 $\mu\text{g mL}^{-1}$)	686 $\pm$ 131 a
ASM (100 $\mu\text{g mL}^{-1}$)	471 $\pm$ 48 a
ASM (200 $\mu\text{g mL}^{-1}$)	440 $\pm$ 118 a
Testemunha (meio NA)	573 $\pm$ 28 a
CV (%)	26,82

^z Suspensões aquosas de ASM incorporadas no meio de cultura NA.

^y Número médio de colônias de Xa $\pm$ Erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey (P $\leq$ 0,05).

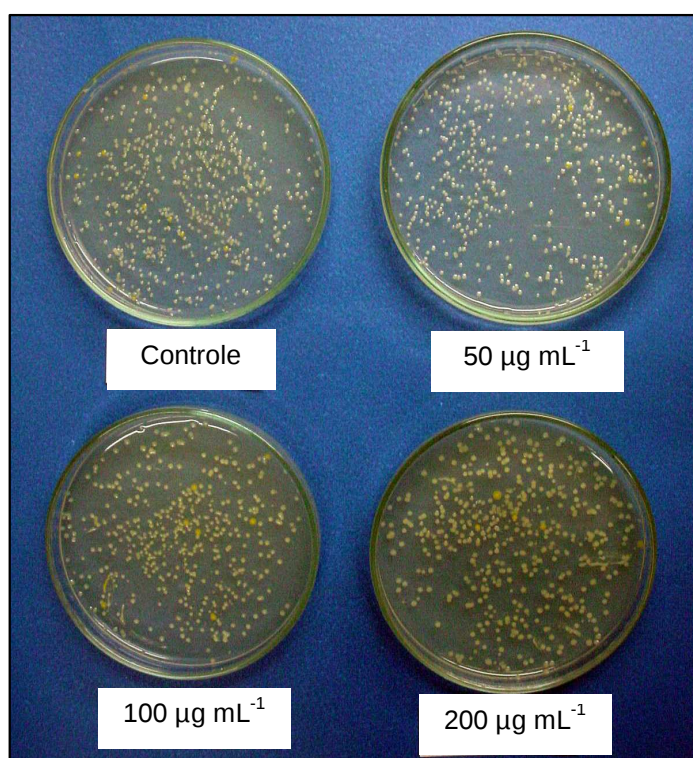


FIGURA 15. Efeito do ASM, nas concentrações de 50, 100 e 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

O efeito direto da proteína harpina sobre o crescimento *in vitro* da bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, avaliado pela contagem das UFC, pode ser observado na Tabela 18 e na Figura 16. Os resultados mostram diferença significativa, com o aumento do crescimento da bactéria nas placas contendo meio NA incorporado com harpina, em relação às placas testemunhas (meio NA puro).

TABELA 18. Efeito direto (*in vitro*) da proteína harpina sobre o desenvolvimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

Tratamentos ^z	Número médio de colônias de Xa (M $\pm$ EP) ^y
Harpina (0,03 mg mL ⁻¹)	500 $\pm$ 0 a
Harpina (0,06 mg mL ⁻¹)	580 $\pm$ 0 a
Testemunha (meio NA)	77 $\pm$ 33 b
CV (%)	11,92

^z Suspensões aquosas da harpina incorporadas no meio de cultura NA.

^y Número médio de colônias de Xa $\pm$ Erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey (P $\leq$ 0,05).

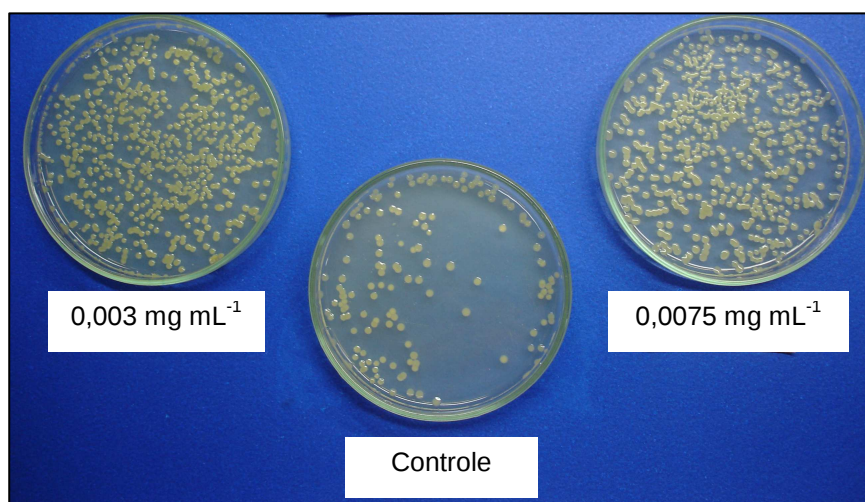


FIGURA 16. Efeito da harpina, nas concentrações de 0,003 e 0,0075 mg mL⁻¹, no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

O efeito direto do Lev (*S. cerevisiae*) sobre o crescimento *in vitro* da bactéria *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, avaliado pela contagem das UFC, pode ser observado na Tabela 19 e na Figura 17. Os resultados mostram que não houve diferença de crescimento da bactéria entre as placas contendo meio NA incorporado com Lev e as placas testemunhas (meio NA puro).

TABELA 19. Efeito direto (*in vitro*) do Lev (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre o desenvolvimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Xa).

Tratamentos ^z	Número médio de colônias de Xa ($M \pm EP$) ^y
Lev 200	761 ± 27 a
Lev 400	709 ± 48 a
Lev 800	644 ± 81 a
Testemunha (meio NA)	657 ± 95 a
CV (%)	23,90

^z Suspensões aquosas Lev, nas concentrações de 200, 400 e 800 equivalente μg de manose mL^{-1} , incorporadas no meio de cultura NA.

^y Número médio de colônias de Xa $\pm$ Erro padrão. Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

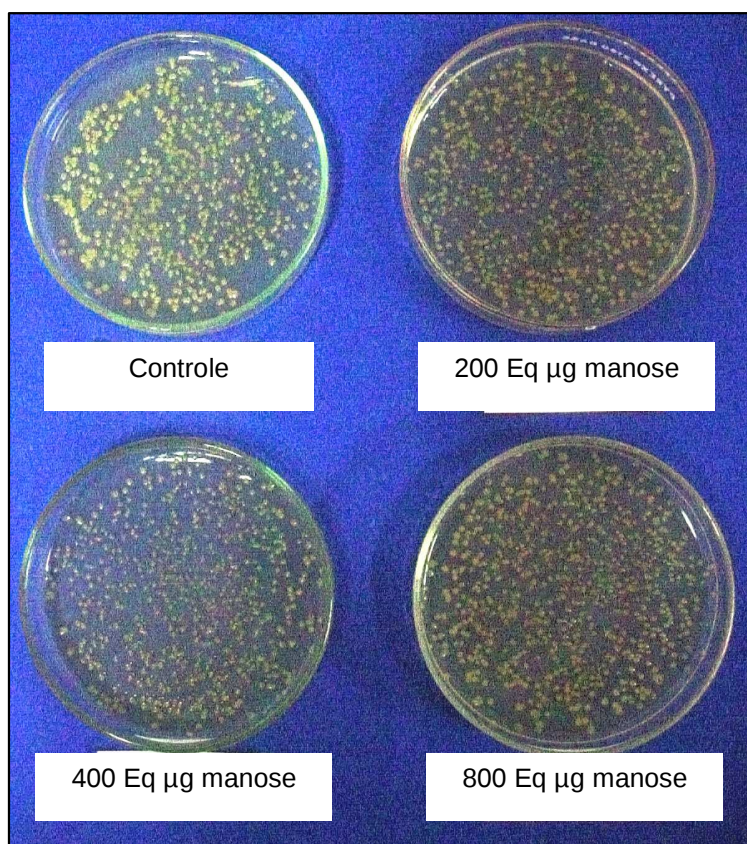


FIGURA 17. Efeito do extrato de levedura puro (*Saccharomyces cerevisiae*), nas concentrações de 200, 400 e 800 Eq. μg de manose mL^{-1} , no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

6. DISCUSSÃO

Segundo Ouchi (1983), o tratamento de plantas com supostos indutores de resistência, às vezes podem provocar efeito contrário, ou seja, pode ocasionar a supressão da resistência, fenômeno este chamado de suscetibilidade induzida, quando o indutor ao invés de ativar os mecanismos de defesa da planta torna esta mais suscetível ao patógeno.

De fato, no primeiro experimento quando se avaliou o efeito da proteína harpina na proteção de maracujazeiro amarelo, houve um aumento dos sintomas da bacteriose em todas as concentrações utilizadas, ou seja, a planta tornou-se mais suscetível ao patógeno. Podemos concluir através deste resultado que ocorreu uma indução de suscetibilidade no patossistema maracujazeiro amarelo x *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, ou até mesmo a possibilidade de uma ação tóxica direta do produto na fisiologia da planta, ou seja, fitotoxicidade, como já observado por Kuhn et al. (2006) no patossistema mandioca x *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, através do tratamento com extrato de cúrcuma. Estes resultados podem, também, estar relacionados ao efeito direto dessa proteína sobre *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, pois no experimento onde se verificou o efeito da harpina no crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, constatou-se que o produto ocasionou um aumento do número de unidades formadoras de colônia (UFC), ou seja, em contato direto com a bactéria, estimulou seu crescimento.

No 2º experimento com a harpina, onde também foi avaliado um possível efeito de ação sistêmica do produto, os resultados revelaram que houve diferença significativa, entre as folhas acima das tratadas com a maior concentração do produto utilizada (0,015 mg mL⁻¹) e as folhas das plantas do tratamento testemunha, havendo aumento dos sintomas da bacteriose no maracujazeiro amarelo. Podem-se aventar diversas possibilidades para este fato. A harpina pode ter estimulado também sistemicamente o crescimento da bactéria, aumentando, assim, os sintomas da doença, ou o produto pode ter causado fitotoxicidade na planta, tornando-a mais suscetível. Ainda, há a possibilidade de que a planta, por estar mais debilitada devido à maior severidade dos sintomas locais nas folhas diretamente tratadas com a harpina, tenha ficado mais vulnerável à infecção da bactéria nas folhas que não receberam o tratamento.

Os resultados obtidos com a harpina contrastam com aqueles relatados na literatura, que indicam a ocorrência de indução de resistência em plantas contra várias doenças causadas por fungos, bactérias e vírus e também, contra alguns insetos herbívoros, em resposta ao tratamento com essa proteína (CAPDEVILLE et al., 2002, 2003 e 2008; YANG et al., 2005; DANNER et al., 2008).

O aumento da severidade da bacteriose em maracujazeiro amarelo, indicando indução de suscetibilidade no patossistema ou, como já mencionado, uma ação tóxica direta

do produto na fisiologia da planta, também foi observado pelo uso de Dimy Pel® à base de *Bacillus thuringiensis* na concentração de 5 mg mL⁻¹. O produto Dipel PM®, também a base de *B. thuringiensis*, bem como com os isolados de *B. thuringiensis* obtidos dos dois produtos comerciais, Dimy Pel® e Dipel PM®, e com os metabólitos produzidos por essa bactéria em meio líquido de cultura, não conferiram proteção do maracujazeiro amarelo à bacteriose, contrastando com diversos trabalhos da literatura que evidenciam o potencial de *B. thuringiensis* na indução de resistência e no controle de fitopatógenos (BATISTA JR. et al., 2002; CIA, 2005; GUZZO; MARTINS, 1996; JESUS; GUZZO; HARAKAVA, 2008; LA VEGA et al., 2006; ROVERATTI; TEIXEIRA; MORAES, 1989).

O 3º experimento com ASM mostrou redução dos sintomas da bacteriose no maracujazeiro amarelo nas folhas tratadas e acima das tratadas, de 67% e 70%, respectivamente, indicando a possibilidade de indução de resistência local e sistêmica em maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, quando aplicado na concentração de 12,5 µg mL⁻¹. Entretanto, quando concentrações maiores do produto foram utilizadas (1º e 2º experimento) constatou-se aumento dos sintomas na concentração de 100 µg mL⁻¹, indicando indução de suscetibilidade ou fitotoxicidade do produto em maiores concentrações. O fato do ASM não inibir diretamente o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* no ensaio *in vitro*, sugere que a redução dos sintomas de bacteriose na concentração de 12,5 µg mL⁻¹, deve-se à indução de resistência conferida pelo ASM em maracujazeiro amarelo.

Os resultados obtidos com as menores concentrações do ASM, indicando uma indução de resistência local e sistêmica a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, são compatíveis com dados da literatura para outras interações hospedeiro-patógeno. Kuhn (2007) observou ocorrência de indução de resistência em feijoeiro contra *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, agente causal do crestamento bacteriano comum. Inclusive, no Brasil, o ASM vem sendo aplicado com sucesso, por exemplo, no controle de *X. campestris* pv. *vesicatoria* em tomateiro (SILVA; RESENDE, 2001).

O fato de que a menor concentração do produto ter se mostrado mais eficiente, confirma a afirmação de Madamanchi e Kuć (1991) e Kuć (1995), de que o efeito protetor observado nas plantas é dependente de diversos fatores, inclusive das concentrações do indutor de resistência.

Em um experimento preliminar realizado com glicoproteínas extraídas da própria bactéria (*X. axonopodis* pv. *passiflorae*) e de *X. campestris* pv. *campestris*, os resultados revelaram que não ocorreu diferença significativa entre as plantas tratadas com ambas glicoproteínas e as plantas controle. Uma explicação para esse fato pode estar relacionada às concentrações mais elevadas das glicoproteínas utilizadas nesse ensaio, pois em um segundo experimento realizado com plantas de maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis*

pv. *passiflorae*, utilizando-se as mesmas glicoproteínas, quando padronizou-se as concentrações das duas proteínas para uma concentração mais baixa, observou-se redução significativa de 53% e 72% na severidade da doença nas folhas previamente tratadas com GPs de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* e *X. campestris* pv. *campestris*, respectivamente. Entretanto, não se observou diferença nas folhas acima das tratadas e inoculadas com o patógeno. Estes resultados indicam uma possível indução de resistência local em resposta ao tratamento com ambas glicoproteínas sem ocorrer, porém, ativação de resistência sistêmica. Resultados semelhantes foram obtidos por Romeiro e Kimura (1997), que trataram plantas de pimenta com a fração glicoprotéica de células de *X. campestris* pv. *vesicatoria* e quando inocularam o mesmo patógeno nas plantas previamente expostas a esta fração glicoprotéica, observaram redução dos sintomas da doença. Outros relatos mostram que frações de microorganismos, de natureza protéica, são capazes de elicitar respostas de defesa em diversos potossistemas (CAVALCANTI; RESENDE; OLIVEIRA, 2007; JABS et al., 1997; DI PIERO; WULFF; PASCHOLATI, 2006; MOHAMED; LHERMINIER; FARMER, 2007).

No presente trabalho bons resultados foram alcançados nos dois experimentos realizados com a fração não-dialisável proveniente de *S. cerevisiae* para proteção local de maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. Em ambos os experimentos, quando as folhas foram tratadas com a concentração de 200 Eq μg de manose mL^{-1} , 72 h antes da inoculação com o patógeno, observou-se redução dos sintomas da bacteriose nas plantas, quando comparadas às testemunhas, conferindo proteção de 52% e 54% no 1º e no 2º experimento, respectivamente. Esta proteção pode ser atribuída à ativação de respostas de defesa induzida por *S. cerevisiae*, já evidenciada na literatura (FIALHO, 2004; LOPEZ, 1991; MARTINS et al., 1986; PICCININ, 1995; REGLINSKI; LYON; NEWTON, 1994; RONCATTO; PASCHOLATI, 1998; ROVERATTI; TEIXEIRA; MORAES, 1989; SILVA; PASCHOLATI, 1992; STANGARLIN; PASCHOLATI, 1994; WULFF; PASCHOLATI, 1998).

Quando os produtos foram aplicados nas sementes, constatou-se, no primeiro experimento, que o ASM conferiu proteção significativa em plântulas de maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. As concentrações de 12,5 μg mL^{-1} e de 25 μg mL^{-1} promoveram proteção de 81 e 61 %, respectivamente. A proteção conferida pelo produto foi maior, aproximadamente, 90% em ambas as concentrações, quando as plântulas apresentando duas folhas verdadeiras receberam um segundo tratamento com o ASM. Essa proteção já havia sido evidenciada nos ensaios de indução de resistência local e sistêmica, quando a menor concentração do produto (12,5 μg mL^{-1}), aplicada nas folhas de maracujazeiro amarelo, mostrou-se mais eficiente, reduzindo a área foliar infectada.

As sementes tratadas com a harpina nas concentrações de 0,003 e 0,0075 mg mL^{-1} , também mostraram proteção significativa de 44%, em ambas as concentrações, porém com

diferença significativa, em relação ao controle, inferior à apresentada pelo ASM. Nas amostras que receberam um segundo tratamento nas plântulas com harpina, houve proteção somente para as plântulas tratadas com a menor concentração ($0,003 \text{ mg mL}^{-1}$). Isto, provavelmente, deve-se ao fato de o produto apresentar um efeito direto quando em contato com a bactéria, estimulando seu crescimento, evidenciado no ensaio *in vitro*, ou à fitotoxicidade conferida pelas maiores concentrações do produto na planta.

No 2º experimento com a aplicação de ASM ou harpina nas sementes, foi novamente constatada a ocorrência de proteção do maracujazeiro amarelo à bacteriose, indicando a possibilidade de indução de resistência sistêmica, confirmando os resultados obtidos no 1º experimento. Constatou-se que o ASM conferiu proteção significativa de 70% e 76% nas concentrações de $12,5$ e de $25 \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. A proteção conferida pelo produto aumentou sendo de, aproximadamente, 79% e 82%, utilizando-se as mesmas concentrações dos indutores, quando as plântulas apresentando duas folhas verdadeiras, receberam um segundo tratamento com o ASM. As sementes tratadas com a harpina mostraram proteção significativa de 71% nas plântulas de maracujazeiro amarelo somente na concentração de $0,003 \text{ mg mL}^{-1}$. Quando as plântulas receberam um segundo tratamento com a harpina a proteção apresentada foi de 65% e 54% para as plântulas tratadas com as concentrações de $0,003 \text{ mg mL}^{-1}$ e $0,0075 \text{ mg mL}^{-1}$, respectivamente.

O resultado de proteção do maracujazeiro amarelo contra a bacteriose demonstrado nos ensaios com plântulas provenientes de sementes tratadas com ASM foram semelhantes àqueles obtidos por Latunde-Dada e Lucas (2001), no qual plântulas de um cultivar suscetível de *Vigna unguiculata*, obtidas a partir de sementes tratadas com ASM, mostraram-se protegidas contra a antracnose causada por *Colletotrichum destructivum*. Outros compostos também têm mostrado o efeito protetor quando aplicados em sementes. Benhamou, Lafontaine e Nicole (1994) verificaram que, quando sementes de tomateiro foram tratadas com quitosana combinada com um substrato modificado, ocorreu indução de resistência nas plântulas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Várias respostas de defesa foram ativadas nos tecidos radiculares das plântulas, tais como resposta de hipersensibilidade, acúmulo de lignina e compostos fenólicos.

No 1º experimento onde as sementes foram previamente tratadas com o ASM ou com a proteína harpina, foram observados, também, aumentos na germinação e crescimento das plântulas de maracujazeiro amarelo, provenientes das sementes tratadas com os dois indutores. O aumento na germinação e no crescimento das plântulas contradiz os resultados apresentados por Buschmann; Fan e Souerborn (2005); Kuhn (2007); Godard et al. (1999) e Iriti e Faoro (2003). Kuhn (2007) afirma que há uma diminuição da produtividade e rendimento das plantas tratadas com ASM em função do custo energético alocado pela planta para a ativação de seus mecanismos de defesa. Porém, os fabricantes dos produtos Bion® e

Messenger® afirmam que há um aumento na qualidade e na produtividade nas plantas tratadas com os produtos. O fabricante do Bion® indica que o produto na cultura do tomate, além de diminuir a severidade da doença, incrementa a produção e a qualidade dos frutos. O produto Messenger®, segundo a EDEN Bioscience (2008), ativa as defesas naturais da planta e promove o seu crescimento, com o aumento da biomassa do sistema radicular, floração precoce, maturação mais rápida dos frutos e aumento de produtividade. French et al. (2006) e French (2007) verificaram que ocorreu aumento da produção de algodão, através do tratamento com a proteína harpina.

Os resultados obtidos no presente trabalho evidenciaram o potencial dos agentes bióticos *S. cerevisiae*, proteína harpina e glicoproteínas extraídas de *Xanthomonas* spp. e do agente abiótico ASM na redução dos sintomas da bacteriose em maracujazeiro amarelo causada por *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. Especialmente relevantes foram os resultados que evidenciaram o controle parcial dessa bacteriose através do tratamento das sementes de maracujazeiro amarelo com ASM e harpina. Tendo-se em conta que atualmente as medidas de controle dessa bacteriose são de caráter genérico e sempre adotadas de forma preventiva, os resultados obtidos nesse estudo poderão contribuir para o manejo integrado da bacteriose em maracujazeiro amarelo.

7. CONCLUSÕES

1. O acibenzolar-S-metil, a $12,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, protege local e sistemicamente folhas de maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passifloarae*.
2. Na concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ o ASM proporcionou o aumento dos sintomas da bacteriose no maracujazeiro amarelo.
3. Glicoproteínas extraídas de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passifloarae*, na concentração de $97,93 \mu\text{g mL}^{-1}$, e o extrato de levedura (*S. cerevisiae*) na concentração de 200 equivalentes μg de manose mL^{-1} , protegem localmente folhas de maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passifloarae*.
4. Os produtos Dimy Pel® e Dipel PM®, à base de *B. thuringiensis*, os isolados desta bactéria provenientes destes produtos e seus respectivos metabólitos, bem como a proteína harpina, não protegeram folhas de maracujazeiro amarelo contra *X. axonopodis* pv. *passifloarae*.

5. O produto Dimy Pel®, na concentração de 5 mg mL⁻¹, aplicado nas folhas de maracujazeiro amarelo, anteriormente à inoculação com *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, proporcionou aumento dos sintomas da bacteriose.
6. A proteína harpina aplicada nas folhas de maracujazeiro amarelo, anteriormente à inoculação com *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, proporcionou aumento dos sintomas da bacteriose.
7. O tratamento das sementes de maracujazeiro amarelo com acibenzolar-S-metil ou com a proteína harpina protege as plântulas contra *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.
8. O tratamento das sementes de maracujazeiro amarelo, com acibenzolar-S-metil ou com a proteína harpina, aumentaram a germinação destas e proporcionaram um maior crescimento das plântulas.
9. O acibenzolar-S-metil, a proteína harpina e o extrato de *S. cerevisiae*, aplicados separadamente em meio de cultura sólido, não inibem diretamente o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.
10. A proteína harpina estimulou diretamente o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2006: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: **FNP Consultoria & AgroInformativos**, 2006.

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 952 p., 2004. ALLAN, A.C. & FLUHR, R. Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells. **Plant Cell**, 9:1559-1572,1997.

ATAÍDE E.A.; RUGGIERO C.; OLIVEIRA J.C.; RODRIGUES J.D. BARBOSA J.C. Efeito de giberelina (ga₃) e do bioestimulante 'Stimulate' na indução floral e produtividade do maracujazeiro amarelo em condições de safra normal. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Vol. 28, N° 03, 2007.

BATISTA Jr., C.B.; ALBINO, U.B.; MARTINES, A.M.; SARIDAKIS, D.P.; MATSUMOTO, L.S.; AVANZI, M.A.; ANDRADE, G. Efeito fungistático de *Bacillus thuringiensis* e de outras bactérias sobre alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v.37, n.8, p.1189-1194, 2002.

BAYSAL, Ö.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, v.52, n.6, p.747-753, 2003.

BEAUVÉRIE, J. Essais d'immunization des végétaux contre de maladies cryptogamiques. **CR Acad. Sci. Paris.** 133:107-10, 1901.

BENHAMOU, N.; LAFONTAINE, P. J.; NICOLE, M. Induction of systemic resistance to *Fusarium crown and root rot* in tomato plants by seed treatment with chitosan. **Phytopathology**, v.84, n.12, 1994.

BERIAM, L.O.S.; MALAVOLTA JR., V.A. Doença bacteriana. In: NOGUEIRA, E.M.C.; FERRARI, J.S. **Aspectos fitossanitários do maracujazeiro**. Instituto Biológico. Boletim Técnico, 14, p.15-10, 2006.

BERNACCI, L.C.; MELETTI, L.M.M.; SOARES-SCOTT, M.D.; PASSOS, I.R.S. Espécies de maracujá: caracterização e conservação da biodiversidade. In: FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; BRAGA, M.F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina: Embrapa Cerrados, p.559-586, 2005.

BERNACCI, L.C., SOARES-SCOTT, M.D.; JUNQUEIRA, N.T.V.; PASSOS, I.R.S.; MELETTI, L.M.M. *Passiflora edulis* Sims: the correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Rev. Bras. Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 2, p. 566-576, Junho 2008.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas, 2005. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba/ SP, FEALQ, p.11-28, 2005.

BOSTOCK, R.M.; KARBAN, R.; THALER, J.S.; WEYMAN, P.D.; GILCHRIST, D. Signal interactions in induced resistance to pathogens and insect herbivores. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.103-111, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

BUSCHMANN, H.; FAN, Z.W.; SAUERBORN, J. Effect of resistance-inducing agents on sunflower (*Helianthus annuus* L.) and its infestation with the parasitic weed *Orobancha cumana* Wallr. **Journal of Plant Diseases and Protection** 112 (4), 386-397, 2005.

CAMPOS, J.M.; VÁZQUEZ, E.P.; GONZÁLES, L.V.; HERNÁNDEZ, A.T.; LEÓN, L.; RAMÍREZ, Y.; SÁNCHEZ, I.; MENCHO, J.D.; LÓPEZ, A.; PUJOL, M.; BORROTO, C.; RAMOS, E.; ALVAREZ, J.M.; MARÍN, M.; JIMÉNEZ, G.; GARCÍA, G.; PICO, V.M.; EXPÓSITO, M.; COCA, Y.; GÓMEZ, M.; OLAZABAL, A.; HERNÁNDEZ, A.; FALCÓN, V.; ROSA, M.C.D.; MENÉNDEZ, I.; RAÍCES, M. Aislamiento y determinación de cepas bacterianas con actividad nematocida. Mecanismo de acción de *Corynebacterium paurometabolum* C-924 sobre nemátodos. **Biotechnologia Aplicada**, v.20, n.4, p.248, 2003

CAPDEVILLE, G. DE; WILSON, C.L.; BEER, S.V.; AIST, J.R. Alternative disease control agents induce resistance to blue mold in harvested 'Red delicious' apple fruit. **Phytopathology**, 92:900-908, 2002.

CAPDEVILLE, G. DE; BEER, S.V.; WATKINS, C.B.; WILSON, C.L.; TEDESCHI, L.O.; AIST, J.R. Pre- and post-harvest Harpin treatments of apples induce resistance to blue mold. **Plant Disease**, v.87, n.1, p.39-44, 2003.

CAPDEVILLE, G.; BEER, S.V.; WILSON, C.L.; AIST, W.J. Some cellular correlates of harpin-induced resistance to blue mold of apples. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 2, p. 103-113, 2008.

CARDOSO FILHO, J.A. **Efeito de extratos de albedo de laranja (*Citrus sinensis*) dos indutores de resistência ácido salicílico, Acilbenzolar-smetil e *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Phyllosticta citricarpa* (teleomorfo: *Guignardia citricarpa*).** Piracicaba, 2003, p.145. Tese Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

CASTRO, R.M.DE; PAIVA, S.B.DE; VEIGA, J.S.; SAVINO, A.A. Ativadores químicos de resistência – A experiência brasileira com o Bion. In: RODRIGUES, F.A.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência em plantas a patógenos – **Anais da III Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos**. Viçosa/ MG, Cap. 13, p. 303, 2007.

CAVALCANTI, L.S.; BRUNELLI, K.R.; STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.). **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos**. Piracicaba: FEALQ, p.81-124, 2005.

CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V.; OLIVEIRA, J.T.A. Peroxidases ativadas por frações protéicas de extrato biológico eficaz na proteção do tomateiro contra a mancha bacteriana. **Fitopatologia Brasileira**, 32:507-511, 2007.

CAVALCANTI, L.S.; RESENDE, M.L.V. Efeito da época de aplicação e dosagem do acibenzolar-S-metil na indução de resistência à murcha-de-Verticillium em cacaueiro. **Fitopatologia Brasileira**, 29:67-71, 2004.

CIA, P. **Avaliação de agentes bióticos e abióticos na indução de resistência e no controle pós-colheita da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamão (*Carica papaya*).** Piracicaba, 2005, 187p. Tese Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

DANN, E.K.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J.P.; DEVERALL, B.J. The effect of pathogen inoculation or chemical treatment on activities of chitinase 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.

DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z.; MEDEIROS, J. G. S.; MARCHESE, J. A.; MAZARO, S. M. Indução de resistência à podridão-parda em pêssegos pelo uso de eliciadores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n.7, p.793-799, 2008.

DANTAS, S.A. F; OLIVEIRA, S.M. A; NETO, E.B; COELHO, R.S.B. & SILVA, R.L.X. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, v. 30, n. 4, p. 314-319, 2004.

DE NARDI B, DREOS R, DEL TERRA L, MARTELLOSI C, ASQUINI E, TORNINCASA P, GASPERINI D, PACCHIONI B, RATHINAVELU R, PALLAVICINI A, GRAZIOSI G. Differential responses of *Coffea arabica* L. leaves and roots to chemically induced systemic acquired resistance. **Genome**, v. 49, p. 1594-1605, 2006.

DIGAT, B.; CAMBRA, M. Specificity of antigens in *Pseudomonas solanacearum* E.F.SM. and application for studying bacterial wilt. In: L.SEQUEIRA e A. KELMAN. **Proceedings of the First International Planning Conference and Workshop of the Ecology and Control of**

Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum*. Editors. Raleigh, North Carolina, p. 18-24.1976

DI PIERO, R.M.; KUHN, O.J.; PASCHOLATI, S.F. Indução de resistência e a produtividade das culturas, 2005. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.) **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba/ SP, FEALQ, p.239-255, 2005.

DI PIERO, R.M.; WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Partial purification of elicitors from *Lentinula edodes* basidiocarps protecting cucumber seedlings against *Colletotrichum lagenarium*. **Brazilian Journal of Microbiology**, 37:169-174, 2006.

DISCHE, Z. General color reactions. In: WHISTLER, R.L.; WOLFROM, M.L. **Methods in carbohydrate chemistry**. New York, Academic Press, vol. I, p. 478-512, 1962.

DOKE, N.; RAMIREZ, A.V.; TOMIYAMA, K. Systemic induction of resistance in potato plants against *Phytophthora infestans* by local treatment with hyphal wall components of the fungus. **Journal of Phytopathology**, v.119, p. 232-239, 1987.

DURRANT, W.E.; DONG X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.185-209, 2004.

EDEN Bioscience Corporation. Disponível em: <http://www.edenbio.com>. Acesso em: 20 ago. 2008.

FERRARI, J.S. Aspectos fitossanitários do maracujazeiro. In: NOGUEIRA, E.M.C.; FERRARI, J.S. **Aspectos fitossanitários do maracujazeiro**. Instituto Biológico. Boletim Técnico, 14, p.1-2, 2006.

FIALHO, M.B. **Efeito *in vitro* de *Saccharomyces cerevisiae* sobre *Guignardia citricarpa*, agente causal da pinta preta dos citros**. Piracicaba, 2004. 60p. Dissertação Mestrado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

FISCHER, I.H.; KIMATI, H.; REZENDE, J.A.M. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Ed.Ceres, v. 2, p.467-474, 2005.

FOUGHT, L.; KUĆ, J. Lack of specificity in plant extracts and chemicals as inducers of systemic resistance in cucumber plants ro anthracnose. **Journal of Phytopathology**, v. 144, p. 1-6, 1996.

FRACARO, A.A. Produção de suco e polpa de maracujá. 2004. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br>. Acesso: 23 fevereiro 2009.

FRANCO, M.M.; TAKATSU, A. Sensibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* a cobre. **Bioscience Journal**. v.2, n.2, p.207-210, 2004.

FRENCH; N. M.; KIRKPATRICK, T.L.; COLYER, P. D.; STARR, J. L.; LAWRENCE, K.S.; RICH, J. R.; LAWRENCE; G. W.; MUELLER, J. D. Influence of N-Hibit™ and ProAct™ on Nematodes in Field Cotton. In D. Richter [ed.], Proceedings Beltwide Cotton Production Research Conferences, San Antonio, TX. **National Cotton Council of America**, Memphis, TN, 2006.

FRENCH, N. M. Influence of harpin protein-based seed treatments on establishment and growth of cotton. **Beltwide Cotton Conferences**, New Orleans, Louisiana, January 9-12, 2007

FRIEDRICH, L.; LAWTON, K.; RUESS, W.; MASNER, P.; SPECKER, N.; GUTRELLA, M.; MEIER, B.; DINCHER, S.; STAUB, T.; UKNES, S.; MÉTRAUX, J.P.; KESSMANN, H.; RYALS, J. A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Journal**, v.10, p.61–70, 1996.

GEOCITIES. Disponível em: <http://www.geocities.com/bioquimicaplicada/proteina.htm>. Acesso em: 23 fev. 2008.

GLARE, T.R.; O'CALLAGHAM, M. **Bacillus thuringiensis**: biology, ecology and safety. Chichester: John Wiley, 350 p., 2000.

GODARD, J-F.; ZIADI, S.; MONOT, C.; LE CORRE, D.; SILUÉ, D. Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. **Crop Protection**. V.18, p. 397-405. 1999.

GOMES, E.C.S.; PEREZ, J.O.; BARBOSA, J.; NASCIMENTO, E.F.; AGUIAR, I.F. Efeito de indutores de resistência na proteção de uva "Itália" e uva de vinho "cabernet sauvignon" contra o Oídio e o míldio no vale do São Francisco. In: **II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica João Pessoa**, 2007.

GONÇALVES, E. R.; ROSATO, Y. B. Genotypic characterization of xanthomonad strains isolated from passion fruit plants (*Passiflora spp.*) and their relatedness to different *Xanthomonas* species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 50, 811–821, 2000.

GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **Plant Cell**, v.8, p.629-643, 1996.

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.

GUZZO, S.D.; DE CASTRO, R.M.; KIDA, K.; MARTINS, E.M.F. Ação protetora do acibenzolar-S-methyl em plantas de cafeeiro contra ferrugem. **Arquivos do Instituto Biológico** 68:89-94, 2001.

GUZZO, S.D.; HAKAKA, R.; LUCON, C.M.M.; TSAI, S.M. Resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e indução local e sistêmica de quitinases e β -1,3-glucanases por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.3, p.376-381, 2004.

HAHN, M.G. e ALBERSHEIM, P. Host pathogen interactions. XIV- Isolation and partial characterization of an elicitor from yeast extract. **Plant Physiology**, Lancaster, 62 (1): 107-111, 1978.

HAMMERSCHMIDT, R.; MÉTRAUX, J.P.; VAN LOON, L.C. Inducing resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on Induced Resistance to Plant

Diseases, Corfu, May 2000. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, n.1, p.1-6, 2001.

HUANG, Y.; DEVERALL, B.J.; TANG, W.H.; WANG, W.; WU, F.W. Foliar application of acibenzolar-S-methyl and protection of postharvest Rock melons and Hami melon from disease. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 106, p. 651-656, 2000.

INBAR, M.; DOOSTDAR, H.; SONODA, R.M.; LEIBEE, G.L.; MAYER, R.T. Elicitors of plant defensive systems reduce insect densities and disease incidence. **Journal of Chemical Ecology**, v.24, n.1, p.135-149, 1998.

IRITI, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of Phytopathology**, v.151, n.3, p.171-180, 2003.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; CAVALCANTI, F.R.; OLIVEIRA, D.L.; POZZA, E.A. *Rhizobacterium* and acibenzolar-S-methyl (ASM) in resistance induction against bacterial blight and expression of defense responses in cotton. **Tropical Plant Pathology** 33(1): 27-34, 2008.

JABS, T.; TSCHOPE, M.; COLLING, C.; HAHLBROCK, K.; SCHEEL, D. Elicitor-stimulated ion fluxes and O₂ from the oxidative burst are essential components in triggering defense gene activation and phytoalexin synthesis in parsley. **Plant Biology**, Vol. 94, p. 4800–4805, 1997.

JESUS, C.O.; GUZZO, S.D.; HARAKAVA, R. Indução de resistência em cafeeiro a *Hemileia vastatrix* por isolados de *Bacillus thuringiensis* e proteína harpina. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.34, supl., p.54, 2008 (Resumo)

JONES, J. Harpin. **Pesticide Outlook**, 12: 134-135, 2001.

KELLER, H.; BLEIN, J.-P.; BONNET, P.; RICCI, P. Physiological and molecular characteristics of elicitor-induced systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Physiology**, v. 110, p. 365-376, 1996.

KESSMANN, H.; STAUB, T.; HOFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, v.32, p.439-459, 1994.

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

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

KUHN, O.J.; PORTZ, P.L.; STANGARLIN, J.R.; DEL ÁGUILA, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRENZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Ciências agrárias**, v. 27, n.1, p. 13-20, jan./mar.2006.

KUHN, O.J. Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de

crescimento e produção. Piracicaba, 2007, p.138. Tese Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo.

LA VEGA, L. M.; CORONA, J. E. B.; USCANGA, M. G. A.; LEPE, M. R. Purification and characterization of an exochitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp(R) *aizawai* and its action against phytopathogenic fungi. **Canadian Journal of Microbiology** 52 nº7, p.651-657, 2006.

LABANCA, E.R.G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*).** 2002. 118 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

LATUNDE-DADA, A.O.; LUCAS, J.A. The plant defence activator acibenzolar-Smetyhl primes cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] seedlings for rapid induction of resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.58, n.5, p.199-208, 2001.

LAWTON, K.; FRIEDRICH, L.; HUNT, M.; WEYMANN, K.; DELANEY, T.; KESSMANN, H.; STAUB, T.; RYALS, J. Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. **Plant Journal**, v.10, p.71-82, 1996.

LEE H.I.; LEON J.; RASKIN I. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. **Proceedings of National Academy of Sciences of the USA**, v. 92, p.4076-4079, 1995.

LOPEZ, A.M.Q. Controle alternativo da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. em sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). Rio Claro, 1991. 203p. Dissertação Mestrado – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

LUCAS, J. A. Plant immunisation: from myth to SAR. **Pesticide Science**, v. 55, p. 193-196, 1999.

LYON, G. D.; REGLISKI, T.; NEWTON, A. C. Novel disease compounds: the potential to 'immunize' plants against infection. **Plant Pathology**, v.44, p.407-427, 1995.

MADAMANCHI, N.R.; KUĆ, J. Induced systemic resistance in plants. In: COLE, G.T.; HOCH, H.C. (Ed.) **The fungal spore and disease initiation in plants and animals**. New York: Plenum Press, p.347-362, 1991.

MALAVOLTA Jr., V.A.; BERIAM, L.O.S.; RODRIGUES NETO, J. Podridão do fruto, novo sintoma relacionado a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. **Arquivos do Instituto Biológico**. v.68, n.2, p.121-123, 2001.

MAPA AGROFIT: sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 03 set. 2008.

MARTINS, E.M.F.; BERETTA, M.J.G.; ROVERATTI, D.S.; MORAES, W.B.C. Comparative induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants by nonspecific inducers from different fungal and bacterial origins. **Fitopatologia Brasileira**, v.10, p.521-529, 1985.

MARTINS, E.M.F.; MARIA A.C. DE; GRUNEWALDT-STOECKER, G.; MORAES, W.B.C. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat treatment. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 11(4): 899-909, 1986.

MARTINS, E.M.F. Controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) através da indução de resistência. In: BETTIOL, W. (Ed.) **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA, CNPDA, cap.24, p.345-363, 1991.

MELO, I.S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (ed.). **Controle Biológico**. Jaguariúna, Embrapa, v.1, p.17-67, 1998.

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

MISHINA T.E.; ZEIER J. Pathogen associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. **Plant Journal**, v. 50, p. 500-513, 2007.

MOHAMED, N.; LHERMINIER, J.; FARMER, M.J. Defense responses in grapevine leaves against *Botrytis cinerea* induced by application of a *Pythium oligandrum* strain or its *Elicitin*, oligandrin, to roots. **Phytopathology**, v. 97, no. 5, p. 611-20, 2007.

MORAES, M. G. Mecanismos da resistência sistêmica adquirida em plantas. **Revisão Anual de Patologia Vegetal**, v.6, p. 261-284, 1998.

MORAES, W.B.C.; MARTINS, E.M.F.; MUSUMECI, M.R.; BERETTA, M.J.G. Induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. **Summa Phytopathologica**, v.2, p.39-43, 1976.

MORAES, W.B.C. Controle alternativo de fitopatógenos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, p.175-190, 1992.

OKA, Y.; COHEN, Y. Induced resistance to cyst and root-knot nematodes in cereals by DL- β -amino-n-butyric acid. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, n.2, p.219-227, 2001.

OLIVEIRA, J. C. Melhoramento genético. In: RUGGIERO, C. (Ed.). **Cultura do maracujazeiro**. Ribeirão Preto – SP, Editora Legis Summa, p. 218-46, 1982.

OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107, p.19-28, 2001.

OUCHI, S. Induction of resistance or susceptibility. **Annual Review of Phytopathology**, v.21, p.289-315, 1983.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, Cap.22, p.417-453, 1995.

PASCHOLATI, S. F. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos**. Piracicaba, 1998, 123p. Tese Livre Docência – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PENG, J.L.; DONG, H.-S.; DONG, H.P.; DELANEY, T.P.; BONASERA, J.M.; BEER, S.V. Harpin-elicited hypersensitive cell death and pathogen resistance require the *NDR1* and *EDS1* genes. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.62, n.6, p.317-326, 2003.

PEREIRA, A. L. G. Uma nova doença bacteriana do maracujá (*Passiflora edulis*) causada por *Xanthomonas passiflorae* n. sp. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, 36: 163-74, 1969.

PEREIRA, R.B. Extrato de casca de café e óleo de tomilho no controle de *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke em cafeeiro. Dissertação de Mestrado, 2006. Lavras. Universidade Federal de Lavras.

PICCININ, E. **Uso de *Saccharomyces cerevisiae* na proteção de plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*), maracujá-azedo (*Passiflora edulis*) e eucalipto (*Eucalyptus* spp.) contra fitopatógenos fúngicos e bacterianos**. Piracicaba, 1995. 107p. Dissertação Mestrado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PICCININ, E. **Potencial de preparações do cogumelo comestível “Shiitake” (*Lentinula edodes*) no controle de fitopatógenos fúngicos, bacterianos e virais em sorgo, maracujá e fumo**. Piracicaba, 2000. 162p. Tese Doutorado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT J.A.; VAN WEES S.C.M.; TON J.; LÉON-KLOOSTERZIEL K. M.; KEURENTJES J. J.B.; VERHAGEN B.W.M.; KNOESTER M.; VAN DER SLUIS I.; BAKKER P.A.H.M. & VAN LOON L.C. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signaling and expression. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 51-61, 2001.

PIO-RIBEIRO, G.; MARIANO, R. DE L.R. Doenças do maracujazeiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p.525-534, 1997.

RAY, J. Les maladies cryptogamiques des végétaux. **Rev. Gen. Bot.** 13:145-51, 1901.

REGLINSKI, T.; LYON, G.D.; NEWTON, A.C. Induction of resistance mechanism in barley by yeast-derived elicitors. **Annals of Applied Biology**, Cambridge, v. 124, p. 509-517, 1994.

RESENDE, M.L.V.; CAVALCANTI, F.R.; SANTOS, F.S.; AMARAL, D.R.; RIBEIRO Jr., P.M.; COSTA, J.C.B.; CAMILO, F.R.; ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M. Novos indutores de resistência contra doenças em cafeeiro, cacauzeiro, algodoeiro e tomateiro: Perspectiva de utilização. In: RODRIGUES, F.A. e ROMEIRO, R.S. Indução de resistência em plantas a patógenos – **Anais da III Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos**. Viçosa/ MG, Cap. 8, p. 161-182, 2007.

RESENDE, M.L.V.; NOJOSA, G.B.A.; CAVALCANTI, L.S.; AGUILAR, M.A.G.; SILVA, L.H.C.P.; PEREZ, J.O.; ANDRADE, G.C.G.; CARVALHO, G.A.; CASTRO, R.M. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis perniciosus* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology**, v.51, n.5, p.621-628, 2002.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias fitopatogênicas**. Viçosa – MG, Editora UFV, 283p., 2000.

ROMEIRO, R.S.; GARCIA, F.A.O. Metabólitos e constituintes bacterianos como indutores de resistência em plantas a patógenos. In: RODRIGUES, F.A. e ROMEIRO, R.S. Indução de

resistência em plantas a patógenos – **Anais da III Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos**. Viçosa/ MG, Cap. 7, p. 131-161, 2007.

ROMEIRO, R. S.; KIMURA, O. Induced resistance in pepper leaves infiltrated with purified elicitors from *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Journal of Phytopathology**, 145: 495 – 498, 1997.

RONCATTO, M.C.; PASCHOLATI, S.F. Alterações na atividade e no perfil eletroforético da peroxidase em folhas de milho (*Zea mays*) e sorgo (*Sorghum bicolor*) tratadas com levedura (*Saccharomyces cerevisiae*). **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 3, p. 395-402, 1998.

ROVERATTI, D.S.; TEIXEIRA, A.R.R.; MORAES, W.B.C. *Bacillus thuringiensis* – a new perspective for an induced protection to coffee leaf rust. **Journal of Phytopathology**, v.126, p.149-159, 1989.

RUGGIERO, C. **Maracujá**. Ribeirão Preto – SP, Editora Legis Summa, 246p., 1987.

RYALS, J.A.; NEUENSCHWANDER, U.H.; WILLITS, M.G.; MOLINA, A.; STEINER, H-Y; HUNT, M.D. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, v.8, n.10, p.1809-1819, 1996.

SCHAFFRATH, U.; SCHEINPFLUG, H.; REISNER, H.J. An elicitor from *Pyricularia oryzae* induces resistance responses in rice: Isolation, characterization and physiological properties. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 46, p.293-307, 1995.

SCHENK PM, KAZAN K, WILSON I, ANDERSON JP, RICHMOND T, SOMERVILLE S.C., MANNERS J.M. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. **PNAS**, v. 97, p. 11655-11660, 2000.

SILVA, L. H. C. P.; RESENDE, M. L. V. de Resistência induzida em plantas contra patógenos. In: SILVA, L.H.C.P. da; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. (Ed.). **Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: UFLA, p. 221-234, 2001.

SILVA, S.R. DA; PASCHOLATI, S.F. *Saccharomyces cerevisiae* protects maize plants, under greenhouse conditions, against *Colletotrichum graminicola*. **Journal of Plant Disease and Protection**, v.99, p. 159-167, 1992.

SMITH, C.J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **New Phytologist**, London, v. 132, p. 1-45, 1996.

SOARES, R.M.; MARINGONI, A.C. Efeito de acibenzolar-S-metil sobre a germinação e desempenho de sementes de feijoeiro e na indução de resistência à murcha-de-curtobacterium. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, p. 41-45, 2002.

SOARES, R. M.; MARINGONI, A. C.; LIMA, G. P. P. Ineficiência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro comum à murcha-de-curtobacterium. **Fitopatologia Brasileira** 29(4): 373-377, 2004.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biociência**, n. 11, p. 16-21, 1999.

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**,

v.20, n.1, p.16-21, 1994.

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

TALLY, A.; OOSTENDORP, M.; LAWTON, K.; STAUB, T.; BASSI, B. Commercial development of elicitors of induced resistance to pathogens. In: AGRAWAL, A.A.; TUZUN, S.; BENT, E. (Ed.) **Induced plant defenses against pathogens and herbivores**. Saint Paul: APS Press, p.357-369, 1999.

TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Suppression of gray mold on strawberry fruit with the chemical plant activator acibenzolar. **Pest Management Science**, Chichester, v. 56, p. 989-992, 2000.

TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in posharvest. **Horticultural Technology**, Amsterdam, v.12, p.195-202, 2004.

VALE, F.X.R., FERNANDES FILHO, E.I. & LIBERATO, J.R. QUANT. A software plant disease severity assessment. **8th International Congress of Plant Pathology**, Christchurch - New Zealand, p.105, 2003.

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

VIANA, F.M.P.; COSTA, A.F. Doenças do maracujazeiro. In: FREIRE, F.C.O.; CARDOSO, J.E.; VIANA, F.M.P. **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília: Embrapa, p.269-321, 2003.

WEI, Z.M.; LABY, R.J.; ZUMOFF, C.H.; BAUER, D.W.; HE, S.Y.; COLLMER, A.; BEER, S.V. Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. **Science**, v.257, p.85-88, 1992.

WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S. F. Preparações de *Saccharomyces cerevisiae* elicitoras de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 55, n. 1, p. 138-143, 1998.

YANG, B.; SHIPING, T.; JIE, Z.; YONHHONG, G. Harpin induces local and systemic resistance against *Trichothecium roseum* in harvested Hami melons. **Postharvest Biology and Technology**, v. 38, p. 183-187, 2005.

YU, L.M. Elicitins from *Phytophthora* and basic resistance in tobacco. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 92, p. 4088-4094, 1995.

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](#)