

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

**Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por
acibenzolar-S-metil contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*:
parâmetros bioquímicos e da produção**

Marisa Silveira Almeida Renaud Faulin

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

Piracicaba
2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Marisa Silveira Almeida Renaud Faulin
Engenheiro Agrônomo

Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*: parâmetros bioquímicos e da produção

Orientador:

Prof. Dr. **SÉRGIO FLORENTINO PASCHOLATI**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em
Ciências. Área de concentração: Fitopatologia

**Piracicaba
2010**

*“Lá está o futuro,
não sabemos o que nos espera,
que surpresas estão por vir.*

*Não adianta pensar
nem se preocupar...*

*Você não pode resolver
o que não aconteceu.*

*Por isso viva o aqui e o agora,
faça as coisas acontecerem já.*

O futuro se faz hoje...

O passado já se foi!

*Não se prenda a coisas
que já não existem*

e que não mais voltarão.

O passado é bom como referência.

Assim, cada dia

será uma aventura, um desafio,

uma experiência

que sempre valerá a pena viver.”

Nuno Cobra

A Deus

OFEREÇO

Ao meu marido Gustavo
sempre presente mesmo estando longe
a quem agradeço e amo muito

Aos meus pais João e Sonia
Verdadeiros heróis e exemplos, amo vocês

Às minhas irmãs Daniela e Flávia e ao Cléber
Quem amo muito

Às minhas queridas sobrinhas Maria Rachel, Manuela e Bárbara
PRESENTES de Deus, que fazem o mundo ser mais bonito
Sejam muito felizes

Ao Bequinho
Que fez o caminho ficar mais fácil

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, Departamento de Fitopatologia e Nematologia Agrícola, Setor de Fitopatologia, pela oportunidade de realizar este curso de Doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Sérgio Florentino Pascholati, que da mesma maneira que o Prof. Dr. Hiroshi Kimati (*in memoriam*), me ensinou o verdadeiro significado das palavras ética, competência, “Mestre” e respeito ao próximo. Muito obrigada pelo exemplo de dedicação ao ensino e à pesquisa em Fitopatologia e, sobretudo pela atenção e ensinamentos fundamentais na minha formação.

Ao Prof. Dr. Nuno Cobra, outro grande “Mestre” que Deus colocou em minha vida que por meio de seus ensinamentos me fez descobrir o que é VIDA e como vivê-la em sua plenitude.

Aos professores, funcionários e estagiários do Departamento, pelo ensino e auxílio em vários momentos.

A todos os amigos do Setor de Fitopatologia pela atenção, agradável convívio, companheirismo e amizade, em especial à Ana Carolina Fazza, André Boldrin Beltrame, Ariana Elisei Vilella, Cíntia Sanches Migatta, Dalilla Carvalho Rezende, Ely Oliveira Garcia, Fernando Perez Cappello, Fúvia Biazotto, Greicy Andréas, Isolda Hass, Leonardo Toffano, Luciana Iurkiv, Luciana Oharomari, Maria Cristina Rapussi, Marizete Pimentel Godoy (*in memoriam*), Maurício Batista Fialho, Nicholas Cristofolletti, Nívea Tonucci, Odair José Kuhn, Raquel Neroni, Simone Brand, Thaís Dias, Ueliton Messias e Vanessa Frare.

Ao estagiário Josué Tao Chin Chou e a Dra. Silvia Blumer que me ajudaram incondicionalmente, agradeço de coração.

A todas as pessoas que com suas contribuições, tornaram possível a conclusão desta Tese, pois as conquistas nunca são individuais, e sim coletivas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 DESENVOLVIMENTO	21
2.1 A cultura do feijoeiro.....	21
2.1.1 O feijão comum <i>Phaseolus vulgaris</i>.....	21
2.1.2 Importância econômica	21
2.2 Crestamento Bacteriano comum	23
2.2.1 Etiologia	23
2.2.2 Disseminação	25
2.2.3 Sintomas	26
2.2.4 Controle.....	27
2.3 Indução de resistência.....	29
2.3.1 Definição	29
2.3.2 Indutores inorgânicos de resistência	30
2.3.3 Indutores orgânicos de resistência	30
2.3.4 Rotas metabólicas.....	31
2.3.5 Mecanismos de resistência	34
2.3.6 Resposta de hipersensibilidade.....	34
2.3.7 Custo da resistência induzida.....	39
2.4 Acibenzolar-S-metil	41
2.5 Metabolismo de Carboidratos	44
2.5.1 Respiração e patogênese	44
2.5.2 Fotossíntese e patogênese	46
2.5.3 Translocação de carboidratos em folhas infectadas	48
2.6 Proteínas relacionadas à patogênese	48
2.6.1 Enzima peroxidase	51
2.7 Compostos fenólicos.....	53
3 MATERIAL E MÉTODOS	57

3.1 Obtenção e preparo do inóculo	57
3.2 Produção das plantas em casa de vegetação	57
3.2.1 Cultivo do feijoeiro em casa de vegetação para análises bioquímicas	57
3.2.2 Cultivo do feijoeiro em casa de vegetação para análises dos parâmetros da produção	59
3.3 Produção das plantas em campo	59
3.3.1 Cultivo do feijoeiro em campo para análise dos parâmetros da produção	60
3.4 Análises bioquímicas	60
3.4.1 Obtenção e armazenamento das amostras de tecido foliar	60
3.4.2 Quantificação de clorofilas <i>a</i>, <i>b</i> e total	60
3.4.3 Quantificação de fenóis totais	61
3.4.4 Obtenção do extrato enzimático.....	61
3.4.4.1 Quantificação de proteínas totais	62
3.4.4.2 Atividade da peroxidase.....	62
3.4.4.3 Quantificação de carboidratos totais	62
4 RESULTADOS	63
4.1 Cultivo do feijoeiro para análises bioquímicas	64
4.1.1 Quantificação de clorofilas <i>a</i>, <i>b</i> e total	64
4.1.2 Quantificação de fenóis totais	69
4.1.3 Quantificação de proteínas totais	71
4.1.4 Atividade da peroxidase.....	73
4.1.5 Quantificação de carboidratos totais.....	75
4.2 Cultivo do feijoeiro para análises da severidade e dos parâmetros da produção	76
4.2.1 Avaliação da severidade do crestamento bacteriano comum	76
4.2.2 Potencial hídrico	79
4.2.3 Parâmetros da produção.....	82
4.2.3.1 Massa seca das plantas	82
4.2.3.2 Número de vagens por planta.....	85
4.2.3.3 Número de grãos por vagem	88
4.2.3.4 Peso 100 grãos.....	90

5 DISCUSSÃO	93
5.1 Cultivo do feijoeiro com aplicação dos tratamentos para análises bioquímicas	93
5.1.1 Quantificação de clorofilas <i>a</i>, <i>b</i> e total	93
5.1.2 Quantificação de fenóis totais.....	94
5.1.3 Quantificação de proteínas totais	95
5.1.4 Atividade da peroxidase	96
5.1.5 Quantificação de carboidratos totais	97
5.2 Cultivo do feijoeiro para análises da severidade e dos parâmetros da produção.....	98
5.2.1 Avaliação da severidade do crestamento bacteriano comum.....	98
5.2.2 Potencial hídrico.....	100
5.2.3 Parâmetros da produção	100
6 CONCLUSÕES	105
REFERÊNCIAS.....	107
ANEXOS	129

RESUMO

Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*: parâmetros bioquímicos e da produção

A doença crestamento bacteriano comum do feijoeiro, causada pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, ocorre principalmente nas regiões quentes e úmidas do globo. A resistência induzida consiste no aumento da resistência da planta por meio da utilização de agentes externos, sem qualquer alteração em seu genoma. Os objetivos do trabalho foram: (i) verificar a indução de resistência em feijoeiro com o uso do indutor abiótico acibenzolar-S-metil (ASM) contra *X. axonopodis* pv. *phaseoli* em casa de vegetação e em campo; (ii) avaliar os parâmetros bioquímicos (carboidratos, proteínas, fenóis, clorofila e atividade da enzima peroxidase) e fisiológico (potencial hídrico) nas interações entre plantas de feijão induzidas com o indutor contra *X. axonopodis* pv. *phaseoli*; (iii) avaliar os custos da indução de resistência em função da aplicação do indutor contra *X. axonopodis* pv. *phaseoli* em plantas de feijão com base nos parâmetros bioquímicos, fisiológicos e de produção. Para isso, realizaram-se dois experimentos. Os tratamentos foram dispostos da seguinte maneira: Tratamento A – Controle água, Tratamento B – Controle ASM, Tratamento C – Água com inoculação do patógeno ao 7º dias após a emergência das plântulas (dae) (experimento 1) e ao 21º dae (experimento 2), Tratamento D – Induzida com ASM e desafiada com o patógeno ao 7º dae (experimento 1) e ao 21º dae (experimento 2). As pulverizações ocorreram, para o experimento 1, aos 0, 7, 14 e 28 dae, a inoculação foi realizada no 7º dae e foram realizadas quatro coletas das amostras aos 0, 7, 21 e 35 dae. Entretanto para o experimento 2, as pulverizações foram feitas aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae, a inoculação foi realizada no 21º dae e as cinco coletas foram conduzidas aos 0, 7, 21, 35 e 49 dae. Foram observadas diferenças estatísticas tanto entre tratamentos quanto entre épocas de coleta, bem como na interação dos tratamentos com as diferentes épocas, dependendo do parâmetro observado. De maneira geral, as plantas tratadas com ASM quando comparadas com plantas controle água, bem como as plantas pré-tratadas com ASM e desafiadas com a bactéria quando comparadas com as plantas pulverizadas com água e inoculadas com o patógeno, apresentaram: a) teores de clorofila próximos; b) aumentaram os teores de fenóis, proteínas totais e peroxidase e c) diminuíram os valores de carboidratos totais. As plantas que apresentaram os valores mais negativos de potencial hídrico foram as pulverizadas com água e inoculadas com o patógeno, seguidas das plantas induzidas com ASM e desafiadas com o patógeno. O mesmo padrão ocorreu com relação à produtividade, onde água+patógeno apresentou a maior redução de massa seca, número de vagens/planta e peso de 100 grãos, seguidos de plantas induzidas com ASM e desafiadas com o patógeno, ASM e água, respectivamente. Porém o número de grãos/vagem não sofreu alteração. Houve indução de resistência nas plantas em função da aplicação com ASM, visto que a severidade da doença diminuiu nas mesmas.

Palavras-chave: Crestamento bacteriano comum; Acibenzolar-S-metil; Custo adaptativo

ABSTRACT

Induced resistance in bean plants (*Phaseolus vulgaris*) by acibenzolar-S-methyl against *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*: biochemical and production parameters

The common bacterial blight disease of bean caused by the bacterium *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, occurs mainly in hot and humid regions of the globe. The induced resistance consists in the increase of the plant resistance by the use of external agents, without any change in its genome. The objectives of this study were: (i) to verify the induction of resistance in bean plants by using the abiotic inducer acibenzolar-S-methyl (ASM) against *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in greenhouse and field conditions, (ii) to evaluate the biochemical parameters (carbohydrates, proteins, phenols, chlorophyll and peroxidase activity) and physiological (water potential) in the interactions between bean plants treated with the inducer against *X. axonopodis* pv. *phaseoli*; (iii) to evaluate the costs of the induction of resistance by on the basis of biochemical, physiological and production parameters. Thus, to achieve this purpose, two experiments were carried out. The treatments were arranged as follows: Treatment A - Control water; Treatment B - ASM Control; Treatment C - Water and inoculation 7 days after emergency (dae) of the seedlings (experiment 1) and 21 dae (Experiment 2); Treatment D - Induced with ASM and challenged with the pathogen 7 dae (experiment 1) and 21 dae (experiment 2). The treatments with ASM were made for experiment 1, at 0, 7, 14 and 28 dae, the inoculation was done 7 dae and four samples were collected at 0, 7, 21 and 35 dae. However, for the experiment 2, the treatments with ASM were made at 0, 7, 14, 28 and 42 days after seedling emergence, the inoculation was performed 21 dae and five samples were collected 0, 7, 21, 35 and 49 dae. Statistical differences were observed between treatments, among harvest dates, as well as the interaction of treatments with different harvests, depending on the parameter observed. In general, plants treated with ASM when compared to plants control, as well as plants pretreated with ASM and challenged with the bacteria when compared to plants sprayed with water and inoculated with the pathogen, showed: a) the amount of chlorophyll was close; b) increased levels of phenolics, proteins and peroxidase; c) decreased values of carbohydrate. Plants that showed the more negative water potential were plants sprayed with water and inoculated with the pathogen, followed by plants induced with ASM and challenged with the pathogen. The same pattern occurred with productivity, plants sprayed with water and inoculated with the pathogen exhibited the highest reduction in dry weight, number of pods per plant and 100 grain weight, followed by plants induced with ASM and challenged with the pathogen, ASM and water, respectively. In all treatments, the number of grains per pods did not change. Finally, there was induction of resistance in plants by ASM application since the disease severity decreased.

Keywords: Common bacterial blight; Acibenzolar-S-methyl; Fitness costs

1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris*) é de grande importância para o Brasil por ser um dos componentes básicos da alimentação do povo brasileiro, independente das classes sociais (PESSANHA et al., 1972), pois é considerado um prato quase obrigatório da população rural e urbana e, é uma das mais importantes fontes de proteínas (BORÉM; CARNEIRO, 1998; YOKOYAMA BANNO; KLUTHCOSKI, 1996), carboidratos e ferro (BORÉM; CARNEIRO, 1998). Devido à boa adaptação do gênero *Phaseolus* às mais variadas condições edafoclimáticas brasileiras (YOKOYAMA BANNO; KLUTHCOSKI, 1996), o Brasil é o maior produtor mundial de feijão, com uma produção superior a 3,5 toneladas (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2009). Porém, na maioria das regiões produtoras, tem ocorrido baixa produtividade causada pelo esgotamento progressivo da fertilidade do solo e a problemas fitossanitários associados a métodos culturais inadequados (BORÉM; CARNEIRO, 1998).

Dentre as várias doenças que prejudicam o feijoeiro, encontra-se, o crestamento bacteriano comum, que por ser uma doença cosmopolita, ocorrendo principalmente em locais úmidos e quentes do globo, é considerado uma das doenças de maior importância desta cultura, podendo causar perdas de até 60%. Os sintomas da doença podem ser observados em toda parte aérea da planta, representados inicialmente por manchas encharcadas nas folhas que aumentam em tamanho e progridem para lesões necróticas apresentando um tênue halo amarelado. O controle da doença é efetuado por meio da adoção de várias medidas simultâneas, como por exemplo, a utilização de sementes de boa qualidade sanitária, incorporação de restos culturais infectados, rotação de culturas com plantas não hospedeiras da bactéria por um período mínimo de um ano, eliminação de ervas daninhas e plantas voluntárias e controle de insetos disseminadores. A eficácia da pulverização de bactericidas como controle químico ainda é contraditória (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

Atualmente, a indução de resistência para controlar doenças tornou-se bastante pesquisada e pode ser um método promissor para o controle de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. O termo indução de resistência pode ser utilizado para designar uma proteção local, onde se efetuou o tratamento com o agente indutor, como

também pode indicar uma resistência sistêmica, manifestada a distância do local de aplicação do indutor (PIERO; GARCIA JUNIOR; TONUCCI, 2005). Os agentes indutores, também chamados elicitores, podem ter origem biótica ou abiótica, são capazes de ativar ou induzir respostas de resistência nas plantas (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005) e apresentam natureza química variada como oligossacarídeos, glicoproteínas, oligopeptídeos ou ácidos graxos, o que demonstra a não existência de característica estrutural única na determinação da atividade elicitora (STANGARLIN et al., 1999). Como exemplos de indutores bióticos, existem algumas espécies de *Bacillus* que já apresentam aplicação prática na agricultura para o controle de patógenos e de insetos (PIERO; GARCIA JUNIOR; TONUCCI, 2005). Segundo Knudsen e Spurr (1987 apud PIERO; GARCIA JUNIOR; TONUCCI, 2005), preparações liofilizadas de *B. cereus* e *B. thuringiensis* aplicadas em folhas de amendoim apresentaram redução significativa da mancha foliar causada por *Cercospora arachidicola*. Em relação aos indutores abióticos, após o desenvolvimento do éster S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotióico (Acibenzolar-S-Metil, ASM), observou-se um considerável avanço na indução de resistência, como o surgimento de uma nova geração de defensivos agrícolas, capazes de ativar diferentes mecanismos de defesa nas plantas e as grandes possibilidades de emprego em um programa racional e eficiente de manejo de doenças de plantas (SOBRINHO; FERREIRE; CAVALCANTI, 2005).

Quando se induz resistência na planta, ocorre a ativação de genes de defesa, demandando energia para que os eventos metabólicos sejam concretizados. Assim, para que haja energia suficiente, a respiração, que é o processo inverso da fotossíntese, liberando a energia contida nos carboidratos, a qual pode ser responsável pela síntese de compostos relacionados a respostas de defesa das plantas contra pragas e patógenos, deve ser intensificada (FARRAR, 1992). Outros processos bioquímicos e fisiológicos da planta também sofrem alterações, como por exemplo, a fotossíntese, onde a partir da qual, a planta armazena energia na forma de carboidratos que são utilizados através da respiração para manutenção de seus processos metabólicos e onde o excedente é conduzido para órgãos de reserva, o que consideramos produção (SALISBURY; ROSS, 1992). Essas moléculas são fontes de

carbono e energia para todos os processos bioquímicos de síntese nas plantas, como fixação de CO₂, produção de carboidratos (SALISBURY; ROSS, 1992). A clorofila é outra molécula afetada no desenvolvimento de uma planta, tanto sob condições de estresses (nutricional, hídrico, temperatura) quanto pelo ataque de patógenos, os quais podem ocasionar clorose (STANGARLIN; PASCHOLATI; LABATE, 2000), situação proporcionada pela planta para reaproveitar a energia, o carbono e os demais elementos contidos na molécula de clorofila.

Além do custo energético envolvido com a expressão de genes na planta, existe o custo metabólico, explicado pela repressão de alguns genes que possuem participação no crescimento ou no metabolismo primário das mesmas. Esta repressão pode ocorrer para balancear o metabolismo total e equilibrar os custos dentro do sistema planta, como efeito compensatório (SOMSSICH; HAHLBROCK, 1998).

A indução de resistência gera um custo que não pode ser desconsiderado. No entanto, na maioria dos trabalhos com indução de resistência, os autores não se preocuparam em avaliar a produtividade e muito menos o custo da indução de resistência, o que se faz necessário nos estudos. Sendo assim, Kuhn (2007), estudando a indução de resistência em feijoeiro por ASM, observou que a produtividade foi reduzida em função do custo metabólico e do redirecionamento dos fotoassimilados para, aparentemente, investir em defesa. O uso do feijão vem facilitar a condição da pesquisa neste sentido, uma vez que, é uma cultura estudada quanto à sua capacidade de expressar a resistência induzida, além de ser de grande importância econômica no Brasil.

O presente trabalho teve por objetivos:

- I. Verificar a indução de resistência em feijoeiro com o uso do indutor abiótico (acibenzolar-S-metil) contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em casa de vegetação e em campo;
- II. Avaliar os parâmetros bioquímicos (carboidratos, proteínas, fenóis, clorofila e atividade da enzima peroxidase) e fisiológico (potencial hídrico) nas interações entre plantas de feijão induzidas com o indutor abiótico contra *X. axonopodis* pv. *phaseoli*;
- III. Avaliar os custos da indução de resistência em função da aplicação do

indutor abiótico contra *X. axonopodis* pv. *phaseoli* em plantas de feijão com base nos parâmetros bioquímicos e de produção.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 A cultura do feijoeiro

2.1.1 O feijão comum *Phaseolus vulgaris*

Conhecido popularmente por feijão-comum ou feijoeiro-comum, *Phaseolus vulgaris* L. pertence à família Fabaceae (APGII), subfamília Faboideae (SOUZA; LORENZI, 2008). *P. vulgaris* se encontra hoje distribuído por todo o globo terrestre, sendo cultivado sob as mais diversas condições climáticas, solo e manejo (GRAHAM; RANALI, 1997). Das diversas espécies existentes de *Phaseolus*, todas originárias do continente americano, cinco são cultivadas em escala mundial: *P. vulgaris*, *P. coccineus* L., *P. lunatus* L., *P. polyanthus* Greenm. e *P. acutifolius* A. Gray. Todas as espécies cultivadas são diplóides ($2n=22$) e derivadas diretamente dos seus ancestrais selvagens (intercruzantes) (HANCOCK, 2004), contudo *P. vulgaris* é a mais importante.

É uma planta herbácea, que pode apresentar hábito de crescimento determinado ou indeterminado, com ciclo anual variando de 60 a 120 dias (SANTOS; GAVILANES, 2006).

Como alimento, o feijão representa hoje a principal fonte de proteína vegetal para o consumo humano em todo o mundo, chegando até mesmo a ser a única fonte de proteína disponível para populações de algumas regiões pobres do planeta (GRAHAM; RANALI, 1997). Além do seu alto teor protéico, o feijão ainda oferece vitaminas e minerais e apresenta elevado valor energético, sendo muito importante em toda a América Latina, incluindo o Brasil (GUZMÁN-MALDONADO et al., 1996), onde o alimento é um dos componentes básico da alimentação da população independente das classes sociais.

2.1.2 Importância econômica

O feijão representa a principal fonte de proteína vegetal para o consumo humano no mundo, chegando mesmo a ser a única fonte de proteína disponível para algumas populações de países em desenvolvimento e regiões pobres da América Latina e leste da África (GRAHAM; RANALLI, 1997), além de fornecer também vitaminas e minerais

(GUZMÁN-MALDONADO et al., 1996). É cultivado extensivamente nas principais áreas continentais estendendo-se entre as latitudes 52°N e 32°S, desde o nível do mar nos EUA e Europa, bem como em elevações de mais de 3.000m na cordilheira dos Andes (GRAHAM; RANALLI, 1997).

Os sistemas de cultivo aos quais o feijoeiro está submetido são bastante diversificados no mundo todo, variando desde monocultura intensa altamente mecanizada e irrigada, a complexas associações com milho, outros cereais, cana-de-açúcar e café (GRAHAM; RANALLI, 1997). No Brasil, até pouco tempo, a produção de feijão também era caracterizada por cultivos em pequenas áreas, com pouca tecnologia e voltada principalmente à subsistência. No entanto, a cultura do feijão tem passado por profundas transformações nos últimos anos (KLUTHCOUSKI; AIDAR; THUNG, 2007).

Até a metade da década de 1990, o Brasil se apresentava como o maior consumidor mundial de feijão (BASTOS FILHO, 1995), mas experimentou nos últimos anos uma queda constante neste consumo, em função do aumento da preferência da população pelos alimentos do tipo *fast food*. Entretanto, com o atual interesse da população pelo resgate dos hábitos alimentares saudáveis, aliado ao aumento do poder aquisitivo proporcionado por programas sociais do governo e às constantes crises envolvendo o mercado internacional de fontes de proteína animal (gripe aviária, mal da vaca louca e outros), para as quais o feijão constitui uma excelente alternativa, espera-se uma retomada no consumo nacional de feijão (BRANDALIZZE, 2007).

Segundo dados da FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO (2009), o Brasil terá um crescimento da área de plantio de feijão de 10 a 15 % para próxima safra. Apesar do aumento escalonado da produtividade brasileira, que era de cerca de 500kg/ha há pouco mais de uma década, ela ainda é baixa em relação aos países desenvolvidos, que chegam a produzir mais de 1.400kg/ha (BASTOS FILHO, 1995) ou em relação à produção em condições experimentais, que pode atingir 5.000kg/ha (GRAHAM; RANALLI, 1997). Mesmo assim, o Brasil é o maior produtor mundial de feijão, com uma produção superior a 3,5 toneladas (FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO, 2009). Porém, na maioria das regiões produtoras, tem ocorrido baixa produtividade devido ao esgotamento progressivo da fertilidade do solo e a problemas fitossanitários associados a métodos culturais inadequados (BORÉM; CARNEIRO, 1998), dentre eles o

crestamento bacteriano comum.

2.2 Crestamento Bacteriano comum

O crestamento bacteriano é uma das principais doenças do feijoeiro comum em diversos países (SARTORATO; RAVA, 1994; SAETTLER, 2005), sendo até considerada uma das principais doenças na cultura em todo o mundo (TAR'AN; MICHAELS; PAULS, 2001), isso se dá devido a agressividade do patógeno e dificuldades para seu controle (SARTORATO; RAVA, 1994; SAETTLER, 2005). Transmitida por sementes, afeta toda a parte aérea do feijoeiro comum (SARTORATO; RAVA, 1994; SAETTLER, 2005) e uma vez dentro da lavoura, restos culturais contaminados, tratos culturais com as plantas molhadas, respingos d'água e vento são importantes disseminadores do patógeno (SAETTLER, 2005). A doença ocorre nas principais regiões produtoras de feijoeiro comum do Brasil, pelo uso freqüente de sementes infectadas. Por causar desfolha severa pode acarretar perda superior a 60% da produção da lavoura, sob condições favoráveis (DIAZ et al., 2001). Sementes chochas e mal formadas são obtidas com facilidade nas plantas infectadas (SAETTLER, 2005). Temperaturas altas e alta umidade são as condições favoráveis à doença, que mesmo assim pode ocorrer em qualquer época do ano (LOBO JUNIOR, 2009), porém sob condições favoráveis, causa desfolha severa nas plantas atacadas e pode ser um fator limitante ao feijoeiro comum (SARTORATO; RAVA, 1994; SAETTLER, 2005). A doença ocorre em regiões de clima quente principalmente na safra das águas (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

2.2.1 Etiologia

O agente causal do crestamento bacteriano comum é uma bactéria denominada *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. A bactéria, quando cultivada em meio nutriente ágar (NA) contendo glicose ou sacarose, apresenta colônias amareladas, de bordos lisos, convexas, brilhantes e circulares (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

A bactéria é baciliforme, aeróbica, Gram-negativa e possui flagelo polar. Apresenta metabolismo oxidante de glicose, hidrolisa amido, esculina, gelatina, caseína e Tween-80. Não reduz nitrato a nitrito, não utiliza asparagina como única fonte de

carbono e de nitrogênio, é oxidase negativa, urease negativa e catalase positiva e cresce a 37 °C. Alguns estudos têm evidenciado a existência de variabilidade na agressividade de isolados deste patógeno tanto no exterior quanto no Brasil, sendo que isolados provenientes de regiões tropicais são mais agressivos do que isolados de zonas temperadas (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

X. axonopodis pv. *phaseoli* sobrevive em diferentes formas. Em sementes, pode sobreviver por períodos variáveis de 2 a 15 anos, no estado hipobiótico, podendo estar localizada interna ou externamente, sem perder sua patogenicidade (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005). Em solo autoclavado umedecido, a bactéria sobreviveu durante dez dias e, em solo autoclavado seco, por 150 dias. Em material vegetal desidratado, *X. axonopodis* pv. *phaseoli* sobreviveu por um período de 1,5 anos em folhas secas de *Dolichos lablab* e em folhas de feijoeiro triturada por seis anos, a temperatura de 4 °C. Seu período de sobrevivência em restos culturais infectados no solo é variável em função das condições climáticas. Porém, de forma geral, a bactéria sobrevive por um período mais longo em restos culturais superficiais do que naqueles enterrados a uma profundidade de 15 a 20 cm. Trabalhos desenvolvidos sob condições de campo, no Estado do Paraná, evidenciaram a sobrevivência desta bactéria por um período variável de 45 a mais de 180 dias, quando folhas doentes permaneceram na superfície do solo, e durante 30 a 90 dias, para as folhas enterradas a uma profundidade de 15 cm. Geralmente, em condições chuvosas e de altas temperaturas o período de sobrevivência foi menor, quando comparado com aqueles que predominaram condições secas e temperaturas amenas (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

A bactéria também sobrevive em plantas alternativas ou como epífitas (PAULA JUNIOR; ZAMBOLIN, 2006). Algumas ervas daninhas são hospedeiras de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, entre elas destacam-se *Acalypha aloperoides*, *Ambrosia artemisifolia*, *Amaranthus* spp., *A. retroflexus*, *Chenopodium album*, *Cyperus rotundus*, *Physalis* sp., *Portulaca oleraceae*, *Sida rhombifolia*, *Ruellia tuberosa*, *Strophostyles helvola*, *Vicia sativa*, e *V. villosa*. Além do feijoeiro, outras fabáceas também são hospedeiras dessa bactéria, entre elas *Phaseolus lathyroides*, *P. lunatus*, *P. acutifolius*,

P. aconitifolium, *P. coccineus*, *Dolichos lablab*, *Lupinus polyphylus*, *Vigna mungo*, *V. radiata* e *V. umbellata* (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

2.2.2 Disseminação

Com relação à disseminação, as sementes merecem especial atenção, pois transportam o patógeno a longas distâncias e são importantes fontes primárias de inóculo (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005). A semente é o meio mais eficiente de disseminação e sobrevivência de *X.axonopodis* pv. *phaseoli*, constituindo-se em fonte de inóculo primário e em condições de gerar novos focos de infecção (VALARINI; MENTEN, 1992). Analisando-se 34 amostras de sementes fiscalizadas produzidas nas safras de 1998 e 1999, de diferentes variedades, constatou-se que 50% das amostras continham a bactéria, em níveis que variaram de 0,1 a 0,8% de sementes infectadas (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005). Prevalendo condições climáticas de alta umidade e temperatura ao redor de 28°C, o agente causal do crestamento pode desenvolver-se tão rapidamente que bastaria 0,5% de sementes contaminadas e/ou infectadas para iniciar uma epidemia na lavoura (WALLEN; SUTTON, 1965). Entretanto, podem ocorrer epidemias do crestamento bacteriano a partir de uma semente infectada em uma amostra de 10.000, ou seja, um nível de infecção nas sementes de 0,1%. A detecção de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* é um exemplo claro de dificuldades para detecção de patógenos em sementes (SHEPPARD, 1983), porém extremamente importante.

A inspeção de campos de produção também pode ser dificultada, pois os sintomas do crestamento bacteriano em folhas podem ser expressos apenas acima de 5×10^6 UFC/20 cm² de área foliar (WELLER; SAETTLER, 1980b). Abaixo desta densidade é possível que a bactéria atinja as sementes por meio de populações epifíticas, em plantas assintomáticas que, sob condições favoráveis, podem causar epidemias praticamente incontroláveis (WELLER; SAETTLER, 1980a). Como alternativa, vários métodos que empregam técnicas de biologia molecular podem sobrepor as dificuldades atuais, e no futuro poderão ser validados e incorporados à rotina de detecção de patógenos e ao controle de doenças transmissíveis por sementes (LOBO JUNIOR, 2009). As águas de chuva ou de irrigação por aspersão são eficientes

disseminadores secundários de *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. Aproximadamente 10% da população epífita da bactéria presente na superfície aérea da planta são disseminadas por gotas de água. Alguns insetos como *Bremisia tabaci*, *Cerotoma ruficornia*, *Chalcoderma ebeninus*, *Diaprepes abbreviata*, *Emposaca* sp. e *Nezara viridula* são disseminadores secundários (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

A regulamentação da praga varia conforme a Unidade da Federação, as quais possuem padrões distintos ou nenhum padrão de tolerância para campos de produção de sementes ou para análise de sementes em laboratório (LOBO JUNIOR, 2009). O que se faz muito necessário para o controle da doença.

2.2.3 Sintomas

Os sintomas do crestamento bacteriano comum manifestam-se em toda a parte aérea da planta, afetando folhas, caules, vagens e sementes. Inicialmente nas folhas, caracteriza-se por pequenas áreas encharcadas, podendo ou não ser circundada por um tênue halo amarelo, que ao evoluírem aumentam de tamanho e progridem para áreas necróticas (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005; EMBRAPA, 2009). Essas lesões podem estar distribuídas no limbo de maneira esparsa, bem como na parte marginal progredindo para o centro dos folíolos. Com o desenvolvimento da doença, as folhas podem ficar presas na planta ou destacar-se com facilidade (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

Nos caules, as lesões são às vezes deprimidas e na forma de manchas aquosas. Posteriormente, tomam a aparência de riscos vermelhos que se estendem ao longo do caule, cuja superfície frequentemente racha, podendo o exsudato bacteriano acumular-se na lesão (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005; EMBRAPA, 2009). Em alguns casos quando a infecção ocorre na região do nó de onde partem as folhas primárias, pode ocorrer quebra das plantas nesta região, durante a fase reprodutiva, originando o sintoma denominado podridão nodal ou pescoço quebrado. Dependendo da suscetibilidade das variedades de feijoeiro, pode ocorrer o desenvolvimento de sintomas de murcha nas plantas, devido à colonização vascular (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

Nos frutos, do tipo legume, as lesões variam em forma e tamanho. Inicialmente, surgem pequenas manchas circulares e encharcadas, que aumentam progressivamente de tamanho. À medida que as lesões envelhecem, o tecido afetado perde sua aparência encharcada, tornando-se uma mancha necrótica e de cor avermelhada. A infecção ocorre frequentemente na sutura dorsal da vagem, provocando lesões alongadas (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005; EMBRAPA, 2009). Por meio desta infecção, a bactéria penetra na semente através do funículo. As sementes podem apodrecer, enrugar-se ou apresentar descoloração na região do hilo (EMBRAPA, 2009), manchas amarelas no tegumento (sementes de tegumento claro) e má formação. Em alguns casos, a infecção na semente é assintomática (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

Temperatura e umidade elevadas favorecem o desenvolvimento da doença. Sob condições controladas, plantas incubadas a 28 °C desenvolveram os sintomas da doença após nove dias, enquanto que naquelas submetidas a 20 °C ou 16 °C, os primeiros sintomas da doença foram observados, respectivamente, aos 23 e 27 dias após a inoculação (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

2.2.4 Controle

O controle da doença é realizado por meio da adoção simultânea de várias medidas. Sem dúvida, o emprego de sementes de boa qualidade sanitária é primordial. Alguns países, como EUA, Canadá, França e Holanda adotam como rotina o exame sanitário de sementes de feijoeiro, visando à certificação para *X. axonopodis* pv. *phaseoli* e outros patógenos de importância econômica para a cultura. Normalmente, a tolerância é zero para *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. Entretanto, no Brasil, não há emprego rotineiro de análise de sementes de feijoeiro para certificação de sementes para esta bactéria, embora existam várias técnicas de detecção deste patógeno. Deve-se, contudo utilizar sementes certificadas provenientes de campos indenes. A produção de sementes deve ser realizada sob condições climáticas desfavoráveis à doença. Outro problema sério é a forma com que a cultura é conduzida no país. Lavouras de subsistência, onde pouca ou nenhuma tecnologia é empregada, utilizam sementes próprias, o que facilita a perpetuação do patógeno de um cultivo para o outro

(BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005). Porém a maioria das cultivares ainda é suscetível à doença.

Incorporação de restos culturais infectados a uma profundidade de 15 a 20 cm, rotação de cultura com plantas não hospedeiras da bactéria por um período mínimo de um ano, eliminação de ervas daninhas e plantas voluntárias e controle de insetos disseminadores da bactéria são algumas medidas que também podem ser adotadas a essa bacteriose. Atualmente, existem disponíveis algumas variedades com moderada resistência tais como exemplo: Bambui, BR IPAGRO 44, BRS MG Talismã, Diamante Negro e Safra (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

A eficácia do controle químico dessa doença, através da pulverização das plantas com produtos bactericidas, é muito contraditória. Pesquisas desenvolvidas no Brasil, no Estado do Paraná, evidenciaram a ineficácia de três pulverizações dos produtos oxiclreto de cobre, sulfato de estreptomicina + oxitetraciclina, oxiclreto de cobre + maneb e oxiclreto de cobre + zineb no controle da doença nas folhas e vagens e na redução da transmissão da bactéria por sementes (BIANCHINI; MARINGONI; CARNEIRO, 2005).

É importante, para diminuir as perdas devidas à doença, que o controle seja feito de forma integrada utilizando-se as práticas culturais, os produtos químicos e a resistência genética. Dentre estas medidas preconizam-se: o isolamento da cultura por pelo menos 30 m de outra cultura que possa constituir-se em fonte de inóculo, o uso de sementes de qualidade produzidas em período seco por instituições idôneas, a rotação de culturas com gramíneas, o bom preparo do solo com pré-incorporação dos restos da cultura anterior, o uso de herbicidas pré e pós-emergentes, o uso de cultivares resistentes disponíveis e recomendadas pela pesquisa e, finalmente, evitar o trânsito dentro da cultura enquanto as plantas estiverem úmidas. Embora com resultados contraditórios e com baixa eficiência de controle, quando necessário, recomenda-se pulverizações da parte aérea da planta com fungicidas à base de cobre (EMBRAPA, 2009).

2.3 Indução de resistência

2.3.1 Definição

Na natureza, resistência é regra e suscetibilidade a exceção (AGRIOS, 2005), pois todas as plantas se desenvolvem sob constante ameaça de seus inimigos, sejam eles herbívoros ou patógenos (AGRIOS, 2005; PASCHOLATI; LEITE, 1995). Entretanto, as plantas não aceitam passivamente a agressão por parte de seus inimigos (AGRIOS, 2005; PASCHOLATI; LEITE, 1995), pois possuem mecanismos de resistência pré-formados e pós-formados que podem ser estruturais ou bioquímicos (PASCHOLATI; LEITE, 1995). Os mecanismos pré-formados apresentam barreiras já existentes antes do contato com o patógeno e que visam conter a agressão, sendo que estas barreiras são denominadas de defesas constitutivas e são representadas por mecanismos estruturais como: ceras, cutícula, parede celular espessa, tricomas, adaptações em estômatos e fibras vasculares, bem como substâncias bioquímicas pré-formadas, como fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas (AGRIOS, 2005; PASCHOLATI; LEITE, 1995). Além destes, também existem os mecanismos de resistência pós-formados que são ativados ou aumentam a concentração de compostos pré-existentes após a infecção do patógeno. Estes mecanismos envolvem a formação de papila, halo, lignificação, camada de cortiça, formação de tiloses e deposição de goma, que são os mecanismos estruturais, já os compostos constituintes dos mecanismos bioquímicos pós-formados são fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP) e espécies reativas de oxigênio (AGRIOS, 2005; PASCHOLATI; LEITE, 1995).

A busca por cultivares mais resistentes e com boas características agronômicas e comerciais sempre foi o objetivo do melhoramento genético, que por muito tempo visou essa seleção, sem, contudo, levar em consideração os mecanismos naturais que conferem resistência em plantas (BONALDO; PASCHOLATI; ROMERO, 2005). Porém, plantas podem ser induzidas a desenvolverem aumento de resistência a infecção por patógenos pelo tratamento com uma variedade de indutores bióticos e abióticos

(WALTERS et al., 2005). Isso foi observado por vários pesquisadores, estudando diversos patossistemas, onde ocorria um fenômeno denominado de indução de resistência. O termo indução de resistência pode ser utilizado para designar uma proteção local, isto é, a indução de resistência apenas nos tecidos onde se efetuou o tratamento com o agente indutor, como também pode indicar uma resistência sistêmica, que se manifesta a distância do local de aplicação do indutor (STICHER; MAUCHMANI; MÉTRAUX, 1997). Os agentes indutores podem ter origem biótica ou abiótica, são capazes de induzir qualquer resposta de resistência nas plantas e são chamados de elicitores (SMITH, 1996; BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005), podendo apresentar natureza química variada, como oligossacarídeos, glicoproteínas, olicopeptídeos e ácidos graxos (STANGARLIN et al., 1999).

2.3.2 Indutores inorgânicos de resistência

Entre os compostos inorgânicos, foi demonstrado que sais de fosfato induziram resistência sistêmica em plantas de pepino e milho contra os fungos fitopatogênicos *C. lagenarium* e *Puccinia sorghi*, respectivamente (OROBER; SIEGRIST; BUCHENAUER, 2002). Pode-se ainda utilizar silício (Si) (CHÉRIF; ASSELIN; BÉLANGER, 1994), quitosana (SATHIYABAMA; BALASUBRAMANIAN, 1998), cloreto férrico, fosfato de potássio dibásico (BÉCOT et al., 2000), ácido salicílico (AS), seus análogos funcionais o ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA) (BESSER et al., 2000) e o acibenzolar-S-metil (ASM) (KUHN, 2007; BESSER et al., 2000), como também, o ácido β -aminobutírico (BABA) (JAKAB et al., 2001), ácido jasmônico (AJ) (CIPOLLINI, 2002), ácidos graxos (COHEN; GISI; MÖSINGER, 1991) ou luz em comprimentos de onda específicos (KHANAM et al., 2005).

2.3.3 Indutores orgânicos de resistência

Existem vários relatos na literatura de diversas substâncias de origem biológica que agem como indutores de resistência (KUĆ, 2001), como por exemplo, frações de parede celular de plantas, de fungos (DOKE; RAMIREZ; TOMIYAMA, 1987) e de bactérias, dentre os quais podemos citar, lipopolissacarídeos de rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PIETERSE et al., 2001), 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), além do próprio patógeno inativado pelo calor (BACH; BARROS; KIMATI, 2003). O que demonstra a não existência de característica única na determinação da atividade elicitora (STANGARLIN et al., 1999).

2.3.4 Rotas metabólicas

A expressão de defesa na planta pode ocorrer por meio de duas rotas metabólicas diferentes, sendo assim a indução de resistência pode ser dividida em resistência induzida por microrganismos patogênicos que tem o ácido salicílico (AS) como principal sinalizador, levando a expressão principalmente de proteínas-RP, sendo designada de resistência sistêmica adquirida ou SAR (do inglês – *systemic acquired resistance*) (MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1996), e a resistência induzida por rizobactérias promotoras de crescimento ou PGPR (do inglês – *plant growth promoting rhizobacteria*) que é conhecida por resistência sistêmica induzida ou ISR (do inglês – *induced systemic resistance*), cujos principais sinalizadores são AJ e etileno (ET) e independe do AS (BOSTOCK, 1999). De qualquer maneira, independentemente do agente biótico indutor, a comunicação cruzada entre as diferentes rotas já foi demonstrada (PIETERSE et al., 2005). Portanto, SAR e ISR aqui, são entendidas praticamente como sinônimos, designando o fenômeno pelo qual plantas, após exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa ativados (STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997). Além disso, para se evitar confusões, alguns autores preferem o uso do termo geral, indução de resistência (HAMMERSCHMIDT; MÉTRAUX; VAN LOON, 2001).

A resistência induzida consiste no aumento do nível de resistência por meio da utilização de agentes externos (indutores), sem qualquer alteração do genoma da planta, além de ocorrer de maneira não-específica (efetiva contra vários tipos de patógenos) através da ativação de genes que codificam para diversas respostas de defesa, tais como proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP), enzimas envolvidas na rota de síntese de fitoalexinas, acúmulo de lignina em tecidos

circunvizinhos ao local de penetração do microrganismo (BONALDO; PASCHOLATI; ROMERO, 2005).

O interesse na indução de resistência como medida de controle de doenças de plantas estimulou tanto a comunidade acadêmica, bem como as empresas. Esse fato pode ser verificado pelo número considerável de indutores de defesa disponíveis comercialmente (BELTRAME, 2005). Porém, esse novo método de controle de doenças pode apresentar desvantagens, como ser dependente das condições de luz, temperatura, das concentrações do indutor e do inóculo utilizado, necessitar de um intervalo de tempo entre o tratamento inicial com o indutor de resistência e a infecção do patógeno (MADAMANCHI; KUĆ, 1991), reduzir a colonização de micorrizas devido ao acúmulo de ácido salicílico (COSTA; RIOS-RUIZ; LAMBAIS, 2000), a resistência é parcial, incompleta e pode requerer reativações temporais (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005), além de promover gasto energético, o que pode provocar redução na produção (HAMMERSCHMIDT, 2005). Entretanto, agride menos o homem e o ambiente do que os agrotóxicos, não existe, aparentemente, quebra de resistência e a proteção pode ser local ou sistêmica (BELTRAME, 2005).

O fenômeno indução de resistência foi observado inicialmente por Chester (1933), onde o autor verificou que plantas normalmente suscetíveis podiam adquirir resistência contra doenças após uma infecção primária causada por patógenos ou após o tratamento com formas atenuadas de agentes patogênicos. Posteriormente, Ross (1961) demonstrou que plantas de fumo após a infecção localizada com o vírus do mosaico do fumo (TMV) e a consequente formação de lesões necróticas nas folhas inferiores, adquiriram resistência sistêmica contra vários patógenos. Também, a infecção caulinar de plantas de fumo com o agente causal do míldio do fumo, *Peronospora tabacina* levou a um aumento de resistência contra patógenos foliares (CRUICKSHANK; MANDRYK, 1960). Além destes trabalhos, a resistência sistêmica foi demonstrada em plantas de pepino após o tratamento localizado com diferentes microrganismos patogênicos, como o vírus da necrose do fumo (TNV), *Colletotrichum lagenarium* e *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. As plantas tratadas apresentaram proteção contra, pelo menos, 12 doenças causadas por fungos, bactérias e vírus, como por exemplo, a antracnose e a sarna causadas, respectivamente, por *C. lagenarium* e

Cladosporium cucumerinum, a mancha angular e a murcha bacteriana causadas por *P. syringae* pv. *lachrymans* e *Erwinia tracheiphila* e o mosaico do pepino e a necrose local causadas pelo vírus do mosaico do pepino (CMV) e por TNV, respectivamente, por um período de quatro a seis semanas (DEAN; KUĆ, 1986).

Também se confere proteção em plantas suscetíveis por meio do tratamento prévio com raças avirulentas de um patógeno, patógenos incompatíveis, microrganismos não patogênicos, como por exemplo, leveduras, elicitores provenientes de patógenos, metabólitos de microrganismos ou agentes abióticos também se apresentam protegidas local e/ou sistemicamente, contra uma subsequente inoculação com fitopatógenos (KUĆ, 1995; PASCHOLATI, 1998). Assim, observa-se uma restrição do crescimento de patógenos e, conseqüentemente, uma diminuição da extensão e severidade dos sintomas de doenças nas plantas previamente tratadas, quando comparadas com plantas não induzidas, infectadas pelos mesmos fitopatógenos (HEIL; BOSTOCK, 2002; STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997).

Também foi verificado que os ácidos graxos araquidônico, linoléico, linolênico e oleico induziram resistência em batata contra *Phytophthora infestans* (COHEN; GISI; MÖSINGER, 1991) e as quinonas, em tomateiro contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (BENHAMOU; THERIAULT, 1992). Também as elicinas, uma família de pequenas proteínas altamente conservadas, secretadas por espécies de fungos fitopatogênicos do gênero *Phytophthora* (RICCI et al., 1989) ou *Pythium* (PANABIÈRES et al., 1997), são capazes de induzir respostas de defesa em plantas. Plantas de fumo previamente tratadas com elicina, especialmente a criptogeína, purificada de filtrado de cultura de *Phytophthora cryptogea*, adquiriram resistência a uma infecção subsequente com o patógeno *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* e a outros agentes patogênicos (ETIENNE et al., 2000; RICCI et al., 1989). Foi constatado, também, 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).

2.3.5 Mecanismos de resistência

Como vimos, tem sido demonstrado que a indução de resistência ocorre em diferentes interações hospedeiro-patógeno por meio da ativação de diversos mecanismos de resistência, conferindo proteção de plantas contra uma ampla variedade de fitopatógenos e de insetos herbívoros. Entre os mecanismos ativados vem sendo observado: alterações estruturais, que levam ao fortalecimento da parede celular vegetal pelo depósito de calose e de lignina (HE; HSIANG; WOLYN, 2002) ou pela formação de papila junto à parede celular no sítio de penetração do patógeno (BESSER et al., 2000); acúmulo de peróxido de hidrogênio (IRITI; FAORO, 2003a), de fitoalexinas (HWANG et al., 1997) e de proteínas-RP (BOKSHI; MORRIS; DEVERALL, 2003), além de um aumento na atividade de várias enzimas, tais como lipoxigenase (BUZI et al., 2004), fenilalanina amônia-liase (FAL) (STADNIK; BUCHENAUER, 2000), chalcona isomerase (LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001), peroxidases (BAYSAL; SOYLU; SOYLU, 2003) e polifenol oxidases (THALER et al., 2001); resposta de hipersensibilidade, resultando na morte localizada de células do hospedeiro no sítio de infecção do patógeno (ORBER; SIEGRIST; BUCHENAUER, 2002).

2.3.6 Resposta de hipersensibilidade

A resposta celular extrema por parte da planta a um patógeno, podendo levar a um alto grau de resistência à doença, é denominada reação de hipersensibilidade (RH). Essa reação resulta na morte celular repentina de um número limitado de células do hospedeiro circundando os sítios de infecção e é considerada como sendo uma resposta de defesa induzida, culminando na parada do crescimento e do desenvolvimento do patógeno nos tecidos das plantas (PASCHOLATI; LEITE, 1995). A morte localizada de algumas células vegetais no sítio de penetração de patógenos pode se constituir em um processo eficaz para a contenção de patógenos biotróficos, que necessitam de células vivas para obtenção de nutrientes durante seu desenvolvimento. Entretanto, para organismos necrotróficos, a morte celular pode ser nociva, pois o colapso da célula vegetal acarreta a liberação de compostos pré-formados, estocados no vacúolo, tóxicos aos microrganismos, que se acumulam nos sítios de infecção impossibilitando o estabelecimento desses patógenos (HAMMOND-KOSACK; JONES,

1996). No caso dos fungos e bactérias presentes no local de expressão da RH, os mesmos são isolados pelos tecidos necróticos e morrem rapidamente (PASCHOLATI; LEITE, 1995). A indução de resistência em pepino contra a antracnose causada por *C. lagenarium* pela aplicação foliar de sais de fosfato (K_2HPO_4) foi correlacionada com a morte celular localizada (OROBER; SIEGRIST; BUCHENAUER, 2002). A morte de células do hospedeiro observada em folhas de pepino tratadas com o sal de fosfato foi precedida por uma rápida produção de espécies reativas de oxigênio, como o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio. A resposta de hipersensibilidade resultou, subsequentemente, na produção de manchas necróticas visíveis macroscopicamente, tendo sido observado, também, um aumento local e sistêmico de ácido salicílico livre ou conjugado. Silué, Pajot e Cohen (2002), também observaram que a ativação da resistência sistêmica induzida pelo composto BABA em plântulas de couve-flor contra o agente causal do míldio, *Phytophthora parasitica*, foi acompanhada por uma reação de hipersensibilidade. As manchas necróticas se tornaram evidentes antes da inoculação subsequente com o patógeno. Esse mecanismo de defesa foi também observado em outras plantas apresentando resistência induzida contra diferentes patógenos, através da aplicação de indutores abióticos ou bióticos. Como, por exemplo, em cevada contra a infecção causada por *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* após a aplicação de ácido salicílico, INA ou ASM (BESSER et al., 2000); em videira contra *Plasmorapa viticola* pela aplicação de BABA (COEHN; REUVENI; BAIDER, 1999); em aspargos contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* após o tratamento das raízes das plantas com isolados não patogênicos de *F. oxysporum* (HE; HSIANG; WOLYN, 2002) e em *A. thaliana* contra *P. parasitica* pela aplicação de BABA (ZIMMERLI et al., 2000).

A resistência induzida, normalmente, é observada em plantas após a formação localizada de lesões necróticas nos tecidos vegetais, provocadas pela presença de patógenos ou relacionadas à resposta de hipersensibilidade (RYALS et al., 1996; STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997), entretanto pode haver exceções, pois nem sempre a resistência induzida está associada com a resposta de hipersensibilidade. Iriti e Faoro (2003a) verificaram que a aplicação de ASM em cultivares suscetíveis de feijoeiro induziu resistência sistêmica contra a ferrugem

causada por *Uromyces appendiculatus* e acúmulo de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) nos tecidos vegetais. A produção de espécies reativas de oxigênio, uma das primeiras respostas de defesa ativadas em plantas, pode acarretar a resposta de hipersensibilidade. Porém, não foi observada morte celular nas plantas induzidas à resistência pela aplicação de ASM. Sendo assim, a resistência induzida contra a ferrugem do cafeeiro, por meio desse indutor abiótico, neste trabalho, está particularmente associada ao aumento da atividade de peroxidases aniônicas, promovido pelo acúmulo de H_2O_2 . A produção dessas enzimas resultou no fortalecimento da parede celular do hospedeiro, constituindo-se em uma barreira principal à infecção do patógeno durante a fase de penetração para formar haustórios e na emergência de *U. appendiculatus* a partir da epiderme para o desenvolvimento de pústulas.

O fortalecimento da parede celular do hospedeiro dificulta a entrada de patógenos ou a troca de nutriente entre estes e a célula vegetal, esse fortalecimento ocorre por meio de alterações estruturais como o depósito de calose e de lignina ou a formação de papilas no sítio de infecção. Enquanto que a calose e a lignina, que são polímeros, constituídos, respectivamente, de β -1,3-glucana e de alcoóis cinâmicos (compostos fenilpropanóides), se depositam normalmente na parede celular do hospedeiro, a papila, que é uma estrutura contendo especialmente calose e compostos fenólicos, se forma junto à parede vegetal no sítio de penetração do patógeno (GUZZO, 2004). A aplicação foliar de ASM em tomateiro aumentou a resistência das plantas contra o patógeno de solo *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, aparentemente pela formação de aposições na parede celular vegetal, ricas em calose nos sítios de penetração do patógeno, impedindo a entrada do patógeno, também se observou, o depósito de compostos fenólicos junto às paredes das células do fungo (BENHAMOU; BÉLANGER, 1998). Em plantas de videira previamente tratadas com o indutor BABA houve resposta de hipersensibilidade, porém também foi verificado um acúmulo de lignina nas paredes de células do hospedeiro sob o sítio de penetração de *P. viticola* (COEHN; REUVENI; BAIDER, 1999). Outro mecanismo efetivo contra fitopatógenos é a formação de papilas no sítio de infecção. Esse mecanismo foi observado nas paredes celulares de plantas de cevada pré tratadas com AS, INA ou ASM e infectadas com *B.*

graminis f. sp. *hordei* (BESSER et al., 2000). Foi observado, também, por Zimmerli et al. (2000), que o composto BABA protegeu *Arabidopsis* contra *P. parasitica* por meio da ativação de mecanismos de defesa, tais como, depósito de calose, resposta de hipersensibilidade e a formação de necrose nas células do hospedeiro.

Compostos antimicrobianos como fenóis e fitoalexinas, substâncias de baixo peso molecular lipofílicas, que se acumulam rapidamente no sítio de infecção podem estar presentes nas alterações estruturais citadas acima. *Plântulas de um cultivar suscetível de Vigna unguiculata, obtidas a partir de sementes tratadas com ASM mostram-se protegidas contra a antracnose causada por Colletotrichum destructivum (LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001). Após a penetração, o patógeno permaneceu confinado nas primeiras células da epiderme do hospedeiro, que apresentaram uma reação de hipersensibilidade acompanhada de necrose e do acúmulo rápido de atividade de FAL e chalcona isomerase, duas enzimas chave nas vias biossintéticas de fenilpropanóides e flavonóides, respectivamente. Subsequentemente foi observado nos tecidos vegetais, o acúmulo rápido das fitoalexinas de leguminosas, kievitona e faseolidina. Nas plantas suscetíveis não tratadas com ASM e inoculadas com o patógeno, o aumento de atividade das enzimas e a síntese das fitoalexinas ocorreram de forma tardia e em concentrações bem menores, quando comparados com as plantas induzidas à resistência. Os autores inferiram que o acúmulo desses compostos nas plantas pré-tratadas com o ASM, após a inoculação, impediu a colonização dos tecidos do hospedeiro por C. destructivum, confinando o patógeno no sítio de penetração. O aumento de atividade da enzima FAL, que catalisa a formação do ácido cinâmico a partir de fenilalanina, iniciando a via biossintética dos compostos fenilpropanóides, foi detectado, também, em outras plantas induzidas à resistência, como por exemplo, Arabidopsis (KOHLENER; SCHWINDLING; CONRATH, 2002), trigo (STADNICK; BUCHENAUER, 2000) e aspargo (HE; HSIANG; WOLYN, 2002). Stadnik e Buchenauer (2000) verificaram, que o composto ASM induziu resistência sistêmica em um cultivar suscetível de trigo contra Blumeria graminis f. sp. tritici, acompanhada pela formação de papila no sítio de penetração do patógeno e do aumento de atividade de FAL e peroxidase. Foram observados, também, o acúmulo de compostos fenólicos ligados à parede celular vegetal no sítio de infecção e uma diminuição na eficiência de*

*penetração do fungo. A inibição da FAL reduziu o acúmulo localizado dos compostos fenólicos e suprimiu a resistência induzida pelo ASM. Os autores concluíram que os compostos fenilpropanóides, possivelmente ácidos fenólicos esterificados à parede celular vegetal, são mais rapidamente sintetizados em resposta à infecção pelo oídio, em plantas pré-tratadas com o ASM. Portanto, um rápido acúmulo desses compostos no sítio de penetração de *B. graminis* f. sp. *tritici* pode estar envolvido na resistência induzida por ASM. Os resultados obtidos por esses autores evidenciam que a enzima FAL pode ser essencial para a ativação da SAR em determinadas interações planta-patógeno¹.*

Como vimos, a resistência induzida consiste no aumento da resistência por meio da utilização de agentes externos, sem qualquer alteração no genoma da planta (STADNIK, 2000). Isso ocorre de maneira não específica por meio da ativação de genes envolvidos em diversas respostas de defesa, tais como explosões oxidativas (LAMB; DIXON, 1997), respostas de hipersensibilidade (ZIMMERLI et al., 2000), acúmulo de proteínas-RP (por exemplo, peroxidases, quitinases e β -1,3-glucanases) (BACH; BARROS; KIMATI, 2003), síntese de inibidores de proteinases (IP) (ZAVALA et al., 2004), enzimas envolvidas na rota dos fenilpropanóides, como a fenilalanina amônia-liase (FAL), chalcona isomerase (CHI), chalcona sintase (CHS) (CAMPOS et al., 2003), cinamil álcool desidrogenase (CAD) (STADNIK; BUCHENAUER; 2000), polifenoloxidase (PFO) (THALER et al., 2001) e enzimas envolvidas na peroxidação de lipídios, como a lipoxigenase (LOX) (BUZI et al., 2004), síntese de fitoalexinas (SALLES et al., 2002), acúmulo de compostos fenólicos (STADNIK; BUCHENAUER; 2000), aumentos na atividade de β -1,3-glucana sintase e consequente aumento na formação de calose (ZIMMERLI et al., 2000), formação de papila (STADNIK; BUCHENAUER; 2000), bem como o acúmulo de lignina em tecidos circunvizinhos ao local de penetração do microrganismo (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005). Cada elicitor específico ativa uma rota de sinalização distinta, que gera diferentes custos e induz a expressão de um conjunto de genes específicos de defesa.

¹ GUZZO, S.D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. 2004. 256 p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

2.3.7 Custo da resistência induzida

Esta revisão baseia-se na realizada por Kuhn (2007), a qual apresenta-se bastante completa.

As plantas competem entre si por energia e substrato para promover crescimento ou defesa, portanto, as plantas devem balancear seus investimentos nesses processos (GAYLER et al., 2004).

Para economizar energia e substrato, as plantas, do ponto de vista evolucionário, desenvolveram um sistema de defesa latente, com a finalidade de economizar energia e substrato. Esse sistema é ativado com a presença do patógeno, ao contrário da resistência constitutiva, que representa um custo real para a planta, uma vez que independente da presença do patógeno esta investe seus limitados recursos na defesa. Assim, é previsto que, quando os patógenos estão presentes o investimento em defesa deve valer a pena e as plantas induzidas serem beneficiadas (COLEY; BRYANT; CHAPIN, 1985). Dessa maneira, a resistência induzida em condições naturais representará custo apenas na presença do patógeno (HEIL, 2002) e, mesmo com a chegada deste, há uma compensação pelo atraso temporal na expressão da defesa, alocando recursos para este propósito somente quando necessários (BOSTOCK, 2005). Porém, plantas que investem seus recursos para se defenderem na ausência de patógenos arcarão com custos que refletirão na produtividade, uma vez que, as alterações metabólicas que levam a resistência têm um custo adaptativo associado, o qual pode pesar mais do que o benefício (IRITI; FAORO, 2003b).

Também é importante considerar que existe variação de custos entre o estado de pré-condicionamento (*priming*) e os mecanismos de resistência ativados após o desafio com o patógeno. No primeiro caso, supõe-se ser a alocação de recursos menor, visto que a expressão dos mecanismos de defesa é menor (COOLS; ISHII, 2002) ou inexistente (LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001), resumindo-se a possível expressão de genes ligados ao pré-condicionamento da planta hospedeira. E assim, se forem avaliados os custos apenas na ausência do patógeno, o resultado será subestimado (HAMMERSCHMIDT, 2005) ou específico do pré-condicionamento. Dessa maneira, para se mensurar o custo após o desafio e assim se ter uma completa indução é

preciso considerar também que a presença do patógeno colonizando os tecidos causa danos a este, e essa perda não pode ser computada como custo. Para contornar este problema, Walters e Boyle (2005) sugerem a inoculação do patógeno desafiante na planta, deixando-o tempo suficiente para desencadear as reações de defesa e antes que este passe a ter relações parasitárias estáveis e cause consequente dano ao tecido, seja controlado com fungicida, por exemplo, se o patógeno for um fungo, dois a três dias após o desafio.

Como visto anteriormente, existem duas rotas metabólicas que conferem resistência em plantas, sendo que cada uma induzirá a expressão de um conjunto específico de genes e que representará um custo para a planta. Assim, a expressão de cada um desses genes representa um custo energético para a planta (HEIL, 2001). Porém, no conjunto de genes expressos, podem estar genes não relacionados à defesa (HEIL; BALDWIN, 2002). Foi o que observou Guzzo (2004) estudando cafeeiro cv. Mundo Novo induzido com ASM, onde houve expressão adicional de 302 genes, dos quais 44% não apresentaram similaridade com genes depositados no GenBank, 10% foram similares a proteínas hipotéticas de função desconhecida, 30% representavam genes associados a manutenção celular e desenvolvimento vegetal, enquanto que apenas 16% referiam-se a genes envolvidos com mecanismos de resistência. Quando a autora inoculou o patógeno *Hemileia vastatrix* em um híbrido resistente, 297 genes foram expressos adicionalmente, dos quais 36% não apresentaram nenhuma similaridade com outros genes, 12% eram hipotéticos, 30% estavam envolvidos na manutenção celular e 22% relacionados a mecanismos de resistência.

Outro fato que também pode ocorrer em defesa de plantas, além do custo associado a uma única rota sinalizadora, são as interações entre rotas, como demonstrado por van Wees et al. (1999), onde para a completa expressão do gene *Pdf1.2* houve a necessidade de ativação das rotas do ET e AJ em conjunto.

O custo energético, o qual envolve a expressão de genes não é o único presente em plantas, também existe o custo metabólico, que é explicado pela repressão de alguns genes, os quais possuem participação no crescimento ou no metabolismo primário das plantas. Esta repressão pode ocorrer para balancear o metabolismo total e equilibrar os custos dentro do sistema planta, como efeito compensatório (SOMSSICH;

HAHLBROCK, 1998), dando menor importância a uma atividade que no momento se tornou secundária, aproveitando os recursos celulares disponíveis, incluindo substrato e energia (LOGEMANN et al., 1995).

2.4 Acibenzolar-S-metil

O acibenzolar (éster S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carboxílico, ASM, BTH, Bion®, Actigard®) é talvez o mais potente ativador sintético da resistência sistêmica adquirida descoberto (KESSMANN et al., 1994). O ASM é um produto de baixa toxicidade e sistêmico, rapidamente absorvido e translocado através das plantas (OOSTENDORP et al., 2001), elicia a expressão dos mesmos genes da SAR e de moléculas relacionadas à patogênese (proteínas-RP) ativadas pelo ácido salicílico (AS), além de mostrar-se efetivo na indução de resistência em monocotiledôneas e dicotiledôneas. O AS é um indutor de resistência eficiente, mas pode apresentar problemas com estabilidade e fitotoxicidade (REGLINSKY et al., 1997), enquanto o ASM, que não apresenta propriedades antimicrobianas, aumenta a resistência das plantas às doenças, não causando esses efeitos indesejáveis.

O ASM foi liberado na Europa como Bion® (Syngenta Ltda, Suíça) e nos estados Unidos 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, induz a expressão dos mesmos marcadores moleculares e bioquímicos (como as proteínas-RP) quanto os indutores biológicos, e não apresenta atividade antimicrobiana direta (KESSMAN et al., 1994). As consequências deste fenômeno incluem o impedimento da penetração do fruto pelo patógeno, possível hidrólise de componentes da parede celular do fungo e sensibilização das células do hospedeiro para reagir mais rapidamente à infecção (HUANG et al., 2000). Na infecção sistêmica, o AS é necessário para a transmissão de sinais para a indução de resistência. O ASM parece substituir o AS neste processo induzindo resistência sem que a infecção tenha ocorrido (KUHN, 2007).

Devido ao seu modo de ação, recomenda-se que o ASM seja aplicado preventivamente. Desta forma, muitos estudos têm sido desenvolvidos utilizando

plantas como material e poucos têm procurado elucidar como o ASM pode atuar na resistência a doenças em frutas e vegetais em pós-colheita (KUHN, 2007).

O ASM é completamente sistêmico, e pode ativar mecanismos de defesa contra fungos e oomicetos (OOSTENDORP et al., 2001), bem como a algumas bactérias (ROMERO; KOUSIK; RITCHIE, 2001) e certas viroses (ANFOKA, 2000). Devido ao seu modo de ação, o desenvolvimento de patógenos resistentes não é esperado, podendo propiciar novas oportunidades para o manejo efetivo e sustentável de doenças em algumas culturas (GULLINO; LEROUX; SMITH, 2000).

Experimentos realizados *in vitro* demonstraram que o ASM e seus metabólitos, na concentração de 1,4 mM, não afetam significativamente o desenvolvimento do fungo *H. vastatrix*, nas fases de pré penetração (germinação e formação de apressórios), em cafeeiro (GUZZO et al., 2001). Também não foi constatado efeito biocida *in vitro* do ASM sobre a germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix* (MARCHI; BORGES; RESENDE, 2002). Entretanto, foi verificado um efeito fungistático *in vitro* do ASM em *Colletotrichum graminicola* (PASCHOLATI et al., 1998).

Por outro lado, foi verificado por alguns pesquisadores que o tratamento de plantas com ASM pode induzir resistência contra fitopatógenos, mas pode aumentar simultaneamente, a suscetibilidade ao ataque por insetos herbívoros (THALER et al., 2001). O tratamento de folhas de tomateiro com o ASM (1,2 mM) induziu resistência contra *P. syringae* pv. *tomato*, manifestada pela redução do número e tamanho de lesões nas folhas protegidas sistemicamente. Entretanto, as larvas de insetos da família Noctuidae se desenvolveram melhor nas plantas induzidas, do que no controle, não tratado (BOSTOCK et al., 2001). Plantas de tomate tratadas com ASM comprometeram a resistência do hospedeiro às larvas de *S. exigua*, em experimentos realizados em condições de campo (THALER et al., 2001). Os autores concluíram que a SAR induzida por alguns tratamentos químicos pode trazer um risco potencial, aumentando a vulnerabilidade das plantas a determinados insetos herbívoros (BOSTOCK et al., 2001).

Entretanto, experimentos conduzidos por outros pesquisadores indicam que a ativação de mecanismos de defesa em plantas por meio da aplicação exógena de indutores abióticos de resistência pode resultar em uma redução simultânea dos danos causados por vários patógenos e insetos herbívoros (GUZZO, 2004). Inbar et al. (1998)

aplicaram os indutores abióticos de respostas de defesa, ASM, probenazole, quitosana, ácido salicílico, em tomateiro em condições de campo e avaliaram a habilidade desses compostos para promover, simultaneamente, resistência contra diferentes patógenos e insetos herbívoros. Somente o ASM induziu resistência simultânea contra fitopatógenos e contra a larva minadora *Liriomyza* spp.. O composto ASM reduziu 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.. Os efeitos sobre as densidades das larvas de *Liriomyza* spp. foram mais pronunciados durante os primeiros estádios de desenvolvimento da planta. Alguns dos indutores avaliados, embora tenham controlado determinados fitopatógenos, não apresentaram efeito significativo sobre a população de insetos. O efeito do ASM sobre a larva minadora foi confirmado por ensaios em laboratório, tendo sido constatado que as larvas apresentaram melhor desempenho nas plantas não tratadas com esse indutor. Pascual et al. (2003) também observaram que a aplicação foliar de ASM (0,2 g/L) em plantas de tomate induziu resistência contra a mosca branca *Bemisia tabaci*, vetor do geminivírus, “tomate leaf Curl vírus”.

O composto sintético ASM conferiu proteção em plantas de fumo (de 70 a 97% para uma concentração de 1200 μ M) contra o vírus TMV, os fungos *Cercospora nicotiana*, *P. tabacina*, *Phytophthora parasitica* e as bactérias *Erwinia carotovora* e *P. syringae* pv. *tabaci* (FRIEDRICH et al., 1996) e em plantas de trigo (de 87% para uma concentração de 300 μ M) contra o fungo *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* (GÖRLACH et al., 1996). O ASM quando aplicado em *A. thaliana* 72 h antes da inoculação com patógenos, promoveu uma redução nos sintomas das doenças causadas pelo fungo *P. parasitica*, pela bactéria *P.syringae* pv. *tomato* e pelo vírus TCV (“turnip crinkle vírus”) (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*. A proteção observada foi correlacionada com uma redução de cerca de 68% no crescimento da bactéria durante a patogênese (BAYSAL; SOYLU; SOYLU, 2003). Entretanto, Tally et al. (1999) observaram que em plantas de tomate a resistência foi ativada pelo ASM contra *P. 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.

A SAR foi ativada, também, em outras culturas após a aplicação do ASM como, por exemplo, batata (BOKSHI; MORRIS; DEVERALL, 2003), pepino (NARUSAKA; NARUSAKA; HORIO, 1999), roseira (SUO; LEUNG, 2002), feijoeiro (IRITI; FAORO, 2003a), cacauzeiro (RESENDE et al., 2002) e cafeeiro (GUZZO et al., 2001). Desta forma, o ASM pode ser empregado como um método alternativo ao controle convencional de podridões, possibilitando a redução ou substituição dos fungicidas empregados no controle de doenças de pós-colheita (KUHN, 2007).

2.5 Metabolismo de Carboidratos

O metabolismo de carboidratos envolve duas funções básicas das plantas, que são a respiração e a fotossíntese, sendo que esses processos estão diretamente relacionados com o estado geral das plantas. Qualquer distúrbio em um desses sistemas ou em ambos pode prejudicar o desenvolvimento normal delas. De uma maneira geral, a taxa de respiração aumenta em um tecido infectado e, contrariamente, a taxa de fotossíntese tende a diminuir (STANGARLIN; LEITE, 2008). Guimarães et al. (2003) estudando a quantificação de carboidratos presentes em tecidos condutores de laranjeira 'Pêra' sobre limoeiro 'Cravo' infectada pelo declínio dos citros, observaram que as plantas no estado final de declínio, apresentaram maior quantidade de carboidratos totais do que as plantas sadias.

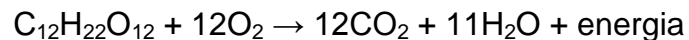
2.5.1 Respiração e patogênese

As células vegetais respiram constantemente, frequentemente absorvendo O_2 e liberando CO_2 em igual volume. Entretanto, a respiração é muito mais do que uma simples troca gasosa. O processo geral da respiração engloba reações de oxi-redução nas quais substâncias complexas presentes nas células são oxidadas a CO_2 e o O_2 absorvido é reduzido a H_2O . Nota-se que o CO_2 é liberado logo após o final da glicólise e, a maior parte, durante o ciclo do ácido cítrico (ciclo de Krebs). A água, por sua vez,

só é formada no final da cadeia respiratória, durante a cadeia de transporte de elétrons, quando junta-se 2 elétrons, 2 prótons (H⁺) e o oxigênio (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005).

O amido, os frutanos, a sacarose e outros açúcares simples, os lipídeos, os ácidos orgânicos e as proteínas são os principais substratos respiratórios (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005).

A equação geral e simplificada da respiração aeróbica, a partir da molécula de sacarose é representada como:



De maneira geral, a respiração de uma planta hospedeira infectada aumenta porque os tecidos doentes passam a utilizar suas reservas de carboidratos mais rapidamente do que os tecidos sadios utilizariam (STANGARLIN; LEITE, 2008). Isso ocorre devido à elevação nos níveis de atividade metabólica para suprir as demandas de energia (ATP) e de esqueletos de carbono dos processos biossintéticos, muitos deles diretamente ligados aos mecanismos de defesa da planta. As alterações na taxa respiratória normalmente ocorrem logo após o início da infecção e permanecem elevadas até a fase de esporulação do patógeno, podendo diminuir quando este cessa o seu desenvolvimento e o processo de degeneração dos tecidos infectados tem início (STANGARLIN; LEITE, 2008).

É importante ressaltar o fator temporal relativo às respostas de resistência e suscetibilidade. Plantas resistentes alteram rapidamente a respiração porque necessitam de energia para mobilização ou produção de compostos de defesa. Plantas suscetíveis respondem vagarosamente e mantêm a respiração em níveis mais altos por longos períodos (AGRIOS, 2005). Foi o que observou Smedegaard-Peterson (1984 apud STANGARLIN; LEITE, 2008), em 1984, estudando plantas de cevada infectadas com *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*.

O aumento da respiração em plantas doentes pode ocorrer devido à combinação de um ou mais dos seguintes mecanismos: 1) mecanismo de proteção do tecido infectado, como o isolamento e a regeneração desse tecido através de lignina e

suberina; 2) desacoplamento na mitocôndria do transporte de elétrons para a síntese de ATP, por ação de toxinas produzidas pelo patógeno; 3) aumento do consumo de ATP, NADPH e outros compostos ricos em energia pelo aumento generalizado da atividade biossintética; 4) aumento da atividade de enzimas envolvidas na degradação de carboidratos; 5) perda dos compartimentos de enzimas e metabólitos-chave, em função do aumento na permeabilidade da membrana (possivelmente pela ação de toxinas); 6) aumento dos níveis de alguns substratos como amido e açúcares solúveis que se acumulam, resultando em bloqueio de translocação; 7) aumento na atividade de oxidases envolvidas na biossíntese de compostos secundários, como fenilpropanóides, incluindo lignina, flavonóides, isoflavonóides e cumarinas, entre outros (HUTCHESON; BUCHANAN, 1983).

Estudando a respiração Castro, Kluge e Peres (2005), também relatam que o maior consumo de O_2 , em parte, é devido a um aumento na atividade de enzimas que geralmente estão associadas ao rompimento de tecidos, como polifenoloxidase e peroxidase.

2.5.2 Fotossíntese e patogênese

A fotossíntese é um processo pelo qual os organismos ditos fotossintetizantes captam a energia solar e geram ATP e NADPH, que são usados como fonte de energia para sintetizar carboidratos e outros compostos orgânicos a partir de CO_2 e H_2O , liberando, simultaneamente, O_2 na atmosfera (SALISBURY; ROSS, 1992). Esse processo primordial do qual depende toda a vida terrestre (CONN; STUMPF, 1990) é conduzido em duas fases: a fotoquímica (ou reação luminosa) e a fixação do carbono (STANGARLIN; LEITE, 2008).

A invasão da planta por um patógeno causa redução na capacidade fotossintética do hospedeiro devido à destruição de tecido verde e, portanto, redução na interceptação da radiação solar. Entretanto, com frequência não são discutidos os efeitos deletérios aos tecidos adjacentes não infectados, ou mesmo mudanças em determinadas etapas do processo fotossintético (LUCAS, 1998). Bastiaans (1991) sugere que nem sempre a estimativa visual da severidade (porcentagem do tecido foliar com sintomas da doença) reflete adequadamente o efeito do patógeno na atividade

fotossintética da folha, pois os decréscimos na fotossíntese podem ser proporcionalmente maiores do que a fração da área lesionada (BASSANEZI et al., 1997; 2000).

A redução na fotossíntese de folhas infectadas por patógenos pode ocorrer devido a muitos mecanismos, físicos e celular/metabólicos (SCHOLES, 1992).

Nos mecanismos físicos ocorrem:

- ✓ Mudanças na taxa de tomada de CO₂ devido às alterações no comportamento de abertura/fechamento dos estômatos; dificuldade de difusão de CO₂ no mesófilo foliar (BOWDEN; ROUSE; SHARKEY, 1990);
- ✓ Diminuição na interceptação da radiação solar como consequência de desfolha ou mudanças na forma e orientação das folhas (MADEIRA; CLARK, 1995);
- ✓ Redução ou destruição de moléculas de clorofila (sintoma de clorose) ou de cloroplastos (sintoma de amarelecimento) como resultado do surgimento de áreas cloróticas e necróticas (LEITE; PASCHOLATI, 1995). A permanência de lesões necróticas nas folhas, além de comprometer a recepção da luz, causa um sombreamento nas folhas inferiores, que têm assim, menor atividade fotossintética (MADEIRA; CLARK, 1995).

Entretanto, nos mecanismos celulares/metabólicos encontra-se:

- ✓ Incremento na respiração do hospedeiro e/ou fungo;
- ✓ Alteração na relação de solutos nas células do hospedeiro (GOODMAN; KIRALY; WOOD, 1986);
- ✓ Inibição na cadeia transportadora de elétrons devido à perda de componentes ou ação de toxinas produzidas pelo patógeno, como a tentoxina (de *Alternaria tenuis*) (AGRIOS, 1997).
- ✓ Redução na quantidade e/ou atividade de enzimas do ciclo de Calvin: rubisco, frutose-1,6-bifosfatase, 3-fosfoglicerato quinase;
- ✓ Acúmulo de carboidratos, causando inibição pelo produto final (retroinibição) e regulação da expressão genética (JANG; SHEEN, 1994);
- ✓ Sequestro de fósforo inorgânico (Pi) do citoplasma do hospedeiro pelo fungo (STANGARLIN; LEITE, 2008).

2.5.3 Translocação de carboidratos em folhas infectadas

A translocação, responsável pela equilibrada distribuição de produtos fotossintetizados aos diferentes níveis e compartimentos da organização vegetal, pode também ser influenciada pela infecção. Já foi verificado, para infecções com biotróficos, que o estímulo da fixação de CO₂ em folhas não infectadas de plantas doentes poderia ser uma fonte de carboidratos para a folha colonizada. A translocação seria direcionada de tecidos ou folhas não infectadas para aquelas infectadas, enquanto a exportação de nutrientes a partir destas últimas seria grandemente reprimida (LIVNE; DALY, 1966). A competição por metabólitos entre tecidos normais ou sadios do hospedeiro e tecidos parasitados é que pode determinar a extensão final dos danos devidos à doença (STANGARLI; LEITE, 2008).

2.6 Proteínas relacionadas à patogênese

As proteínas-RP começaram a ser investigadas no início da década de 70, por van Loon e van Kammen (1970), como macromoléculas envolvidas em resistência induzida, tendo fumo-Tobacco mosaic virus como patossistema modelo. Hoje, tem-se conhecimento que as proteínas-RP são produzidas em muitas plantas como resposta à infecção por patógenos (STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997) e podem ser induzidas por diferentes agentes infecciosos, tais como vírus, viróide, fungos e bactérias (BOL; LINTHORST; CORNELISSEN, 1990). Além destes agentes infecciosos, as proteínas-RP também são produzidas depois do tratamento com produtos químicos específicos, como ácido poliacrílico, derivados de aminoácidos, sais de metais pesados, ácido salicílico e poluentes do ar, durante alguns estádios normais do desenvolvimento de plantas e também pelo tratamento com alguns fitohormônios como auxina, citocinina, ácido abscísico e etileno (MAUCH; MEEHL; STAEHELIN, 1992; VAN LOON, 1985).

Essas proteínas estão localizadas no espaço intercelular, no vacúolo e/ou parede da célula vegetal (BOL; LINTHORST; CORNELISSEN, 1990), são encontradas em várias espécies de plantas e estão agrupadas em 17 famílias distintas (CAVALCANTI; BRUNELLI; STANGARLIN, 2005), separadas pela similaridade das sequências de aminoácidos, relação sorológica e/ou atividade enzimática ou biológica (KOMBRINK;

HAHLBROCK, 1986). Apresentam algumas características gerais, como baixo peso molecular, em torno de 2,8 (quase a totalidade das demais proteínas das plantas precipita nessa condição), resistência à ação de enzimas proteolíticas, estabilidade sob altas temperaturas (em torno de 60-70 °C) e massa molecular variando entre 8 e 50 kDa (STINTIZI et al., 1993). Por apresentar atividade antimicrobiana, bem como ativar respostas de defesa em plantas, sendo assim, as proteínas-RP têm sido particularmente, associadas com a indução de resistência (RYALS et al., 1996; PIETERSE et al., 2001).

As proteínas-RP acumulam-se nos tecidos vegetais em resposta à indução de resistência infecção (WARD et al., 1991), no local de aplicação de indutores bióticos ou abióticos e sistematicamente, em partes da planta distantes do ponto inicial de aplicação (CONRATH; PIETERSE; MAUCH-MANI, 2002). Como essas proteínas estão estreitamente relacionadas com o fenômeno da SAR, às vezes as mesmas são denominadas de SAR-proteínas e os genes que são codificados para a síntese destas são referidos como SAR-genes (WARD et al., 1991). Proteínas-RP associadas à SAR foram detectadas em muitas plantas, como por exemplo, em fumo (PAN; YE; KUĆ, 1991), tomate (BENHAMOU; LAFONTAINE; NICOLE, 1994), batata (SCHRÖDER; HAHLBROCK; KOMBRINK, 1992), feijão (DANN et al., 1996), pepino (STROBEL et al., 1996), melão (BUZI et al., 2004), pimenta (HWANG et al., 1997), cafeeiro (GUZZO; MARTINS, 1996) e videira (BUSAM; KASSEMAYER; MATERN, 1997).

Há dois mecanismos de ação das proteínas-RP. O primeiro mecanismo é hidrolítico sobre a parede celular de fungos e bactérias (YOSHIKAWA; TSUDA; TAKEUCHI, 1993), como as quitinases (PR-3, 4, 8 e 11) e glucanases (PR-2) que hidrolisam polímeros de quitina e de glucana, respectivamente, os principais componentes da parede celular dos fungos (VAN LOON; VAN STRIEM, 1999). Já o segundo mecanismo de ação é indireto, com a liberação de elicitores não específicos devido à ação lítica dessas enzimas (YOSHIKAWA; TSUDA; TAKEUCHI, 1993).

As proteínas-RP, β -1,3-glucanases e quitinases, têm sido detectadas em várias plantas após a ativação com indutor. As quitinases da classe III, pertencentes à família de proteínas-RP, PR-8, possuem atividade enzimática adicional similar à lisozima, catalisando a hidrólise do polímero peptídeoglicano, componente estrutural das paredes

celulares de bactérias (FRITIG; HEITZ; LEGRAND, 1998).

Em relação às quitinases, a diferença existente entre suas classes está no substrato que elas hidrolisam (VAN LOON; VAN STRIEM, 1999). O indutor comercial acibenzolar-S-metil (ASM) reduziu a severidade de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* e *Clavibacter michiganensis* spp. *michiganensis* em plantas de tomate (BAYSAL; SOYLU; SOYLU, 2003). Nesse trabalho, foi verificada maior atividade de quitinase em plantas tratadas com ASM em relação às plantas não tratadas 2, 5 e 7 dias após o tratamento, além de maior atividade de peroxidases 5 dias após o tratamento. Di Piero (2003) verificou que o extrato aquoso de *Lentinula edodes*, além de reduzir a severidade de antracnose em pepino, provocou o acúmulo local e sistêmico de quitinases em plantas de pepino inoculadas com *Colletotrichum lagenarium*.

Finalmente, as peroxidases (PR-9) são glicoproteínas antioxidantes capazes de catalisar grande número de reações como, produção ou catálise de H_2O_2 , formação de lignina, suberização, catabolismo de auxinas e cicatrização de ferimentos (ALVAREZ et al., 1998). Além disso, em cultivares resistentes ou em plantas tratadas com indutores de resistência esse aumento é mais pronunciado que nas relações planta-patógenos compatíveis (RONCATO; PASCHOLATI, 1998). Boudjeko et al. (2005) verificaram que em cultivares resistentes de *Xanthosoma sagittifolium* a atividade de peroxidase cresceu 41% 2 dias após a inoculação com *Pythium myriotylum*, porém em cultivares suscetíveis, a atividade dessa enzima cresceu apenas 13%. Em outro trabalho, Egea et al. (2001) verificaram a existência de uma correlação positiva entre a resistência de três cultivares de pimentão a *Phytophthora capsici* e a excreção de peroxidases de culturas celulares dessas variedades inoculadas com esse oomiceto. Por sua vez, Labanca (2002) e Di Piero (2003) verificaram que *S. cerevisiae* e extrato aquoso de basidiocarpo de *L. edodes*, respectivamente, elicitaram a atividade de peroxidase no patossistema pepino-*C. lagenarium*.

2.6.1 Enzima peroxidase

As peroxidases são hemoproteínas (GRIESEBACH, 1981), estão presentes nos tecidos das plantas (HOAGLAND, 1990) e são conhecidas por participarem de vários processos fisiológicos de grande importância, catalizando a oxidação e a eventual polimerização de álcool hidroxicinâmico em presença de peróxidos de hidrogênio, originando lignina (GASPAR et al., 1982). As peroxidases participam, por exemplo, da biossíntese do hormônio vegetal etileno (ASADA, 1992), da regulação do crescimento celular (GOLDBERG et al., 1986), da oxidação de compostos fenólicos, os quais acumulam-se em resposta à infecção (FRY, 1986) e ao estresse (FIELDES; GERHARDT, 1998), da oxidação do ácido indol-3-acético (AIA) (HOAGLAND, 1990) e na biossíntese de lignina (ABELLES; BILES, 1991). Segundo Asada (1992), a atividade desta enzima pode ser alterada em função da resistência ou suscetibilidade de diferentes hospedeiros na presença de diferentes patógenos. Além disso, parecem ter um papel importante na indução de resistência (MOHAN; KOLATTUKUDY, 1990), atuando como um mecanismo de defesa contra patógenos (KERBY; SOMERVILLE, 1992).

Como vimos, o envolvimento das peroxidases em diferentes processos fisiológicos em uma planta superior indica a atuação de diferentes isoenzimas que podem ser separadas em formas ácidas e básicas por eletroforese, cromatografia de troca iônica ou focalização isoelétrica (GASPAR et al., 1982). Em linho (*Linum usitatissimum* L.), a guaiacol peroxidase (GPX) apresenta isoformas ácidas e básicas. A isoforma ácida está envolvida com a biossíntese da parede celular vegetal, incluindo a formação de lignina. A isoforma básica participa da regulação da degradação do ácido indol-acético (AIA) e da síntese de etileno (FIELDES; GERHARDT, 1998).

A GPX catalisa a oxidação dos doadores de H em experimentos *in vitro*, devido à ausência de substrato específico. *In vivo*, a GPX utiliza o ascorbato como substrato para suas reações, sugerindo que a desintoxicação possa ser a principal função das isoformas. As principais funções das peroxidases não foram bem esclarecidas. Estudos das alterações provocadas pela indução de estresses fisiológicos podem contribuir para a melhor compreensão da ação específica das isoformas da GPX (FIELDES; GERHARDT, 1998; CAMPA, 1991). O aumento da guaiacol peroxidase foi detectado

em diversas plantas induzidas à resistência como, tomate (BAYSAL; SOYLU; SOYLU, 2003), melão (BUZI et al., 2004), aspargo (HE; HSIANG; WOLYN, 2002), feijão (IRITI; FAORO, 2003a), cacau (RESENDE et al., 2002) e trigo (STADNIK; BUCHENAUER, 2000).

Um aumento de atividade de polifenol oxidase e/ou peroxidase foi detectado em diferentes cultivares de plantas de cacau protegidas contra *Crinipellis pernicioso* e *Verticillium dahliae* por ASM (RESENDE et al., 2002). Thaler et al. (2001) verificaram que a aplicação foliar de ácido jasmônico em tomateiros induziu resistência contra diferentes insetos herbívoros no campo e aumento de atividade de inibidores de proteinase e polifenol oxidase. Experimentos conduzidos em campo durante três anos indicaram que a indução dessas proteínas de defesa está associada com a diminuição na abundância de herbívoros, que preferiram plantas controle às induzidas. Buzi et al. (2004) verificaram que a infecção causada pelo patógeno de solo *Didymella bryoniae* foi completamente suprimida em plântulas de melão obtidas a partir de sementes tratadas com metil jasmonato, tendo sido observado, também, um aumento rápido de lipoxigenase e das proteínas-RP, quitinase e peroxidase. Roncato e Pascholati (1998) avaliaram os mecanismos de ação de *Saccharomyces cerevisiae* no fenômeno de proteção de plantas contra fitopatógenos, demonstrando a capacidade de preparações da levedura em alterar o metabolismo de plantas de milho e de sorgo, com base na atividade da enzima peroxidase. As preparações de *S. cerevisiae* foram representadas por suspensões de células e seus respectivos filtrados, autoclavados ou não. A análise de extratos obtidos dessas gramíneas mostrou que suspensões de células e filtrados dessas suspensões, tratados termicamente ou não, foram efetivos em ocasionar alterações na atividade e padrão eletroforético da peroxidase. No entanto, estes extratos apresentaram baixa atividade de peroxidase, indicando que alterações na atividade e perfil eletroforético da enzima das plantas eram decorrentes do próprio tecido vegetal. Esses autores sugeriram que as alterações ocorridas com a peroxidase, em resposta ao tratamento com a levedura, refletiram o “reconhecimento” dos metabólitos da levedura pelas células vegetais, acarretando uma alteração no metabolismo normal da planta.

2.7 Compostos fenólicos

Quimicamente, a expressão compostos fenólicos abrange um extenso grupo de substâncias que possuem um anel aromático contendo pelo menos uma hidroxila e existem mais de 10.000 estruturas diferentes (TAIZ; ZEIGER, 2004). São sintetizados por diferentes rotas metabólicas e a classe mais abundante é derivada da fenilalanina. Para isso, a fenilalanina amônia-liase (FAL) remove uma molécula de amônia do ácido cinâmico (TAIZ; ZEIGER, 2004). As enzimas dessa síntese são associadas ao retículo endoplasmático, o que permite, logo após a produção, que esses compostos sejam armazenados em vesículas na sua forma original ou glicosilada. A compartimentalização é fundamental para o funcionamento das células, pois os fenóis são tóxicos e devem ser mantidos em sua forma reduzida. A descompartimentalização dos fenóis pode levar a sua rápida oxidação, pela ação das peroxidases, em resposta a uma infecção. Os fenóis que se mantêm livres no citoplasma podem ter ação tóxica tanto sobre o patógeno como sobre a célula vegetal e contribuir para a resposta de hipersensibilidade (ISAAC, 1992), sendo esta uma resposta celular extrema por parte da planta podendo levar a um alto grau de resistência à doença (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Além disso, esse grupo de compostos é importante para proteger as plantas, há inclusive certas espécies vegetais que desenvolveram compostos fenólicos, como o ácido caféico e o ácido ferúlico, para inibir o crescimento de outras plantas competidoras (ação alelopática). Também protegem a planta contra os raios UV, insetos, fungos, vírus e bactérias (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005). O efeito inibitório de compostos fenólicos na germinação de esporos, crescimento micelial e produção/atividade de enzimas microbianas varia entre os diferentes grupos de fenóis. Dessa forma, os fenóis vêm sendo considerados como compostos que fazem parte do arsenal de defesa das plantas, nos mecanismos estruturais e bioquímicos (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992), produzidos por células distribuídas pelo tecido vegetal, ao acaso ou em locais estratégicos (TAIZ, ZEIGER, 2004), podendo contribuir para o isolamento de um patógeno, ainda no sítio de infecção. Ao que parece, o acúmulo de fenóis ocorre seguindo duas etapas. A primeira é para reduzir o crescimento do patógeno nos tecidos do hospedeiro como, a deposição de lignina e

formação de fenóis de baixo peso molecular (ácido benzóico, fenilpropanóides), o que leva ao acúmulo de fenóis ao redor do sítio de infecção, é rápida e não envolve síntese protéica. A segunda, envolve a síntese de compostos de ação mais específica, como, as fitoalexinas, em células que cercam o sítio de infecção (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). O acúmulo de fenóis em tecidos vegetais depende do patossistema, do nível de resistência do hospedeiro e, o caso de resistência induzida, do indutor (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992).

A lignina é um polímero de grupos de fenilpropanóides altamente ramificado e pode ser encontrado nas paredes celulares de diversos tecidos de sustentação e vasculares (TAIZ; ZEIGER, 2004). Nos tecidos lenhosos, esse composto pode estar presente entre 25 a 40% (ISHERWOOD, 1960). Segundo Pascholati e Leite (1995), a lignina apresenta um alto potencial de defesa celular contra o ataque de patógenos por aumentar a resistência da parede celular, dificultar a difusão de toxinas em direção ao hospedeiro e a liberação de nutrientes para os patógenos. Em estudos com culturas de células de pimentão, Egea et al. (2001) verificaram que a cultivar Smith-5, que é resistente a *Phytophthora capsici*, acumulou mais lignina que a cultivar suscetível Wonder. Os autores Dubery e Slater (1997) verificaram que um elicitor da parede de *Verticillium dahliae* elicitou o acúmulo de lignina em discos foliares de plantas de algodão.

Outros compostos muito estudados são as fitoalexinas, que apresentam baixo peso molecular e são produzidas pelas plantas em resposta à infecção ou estresse (HARTLEB; HEITEFUSS; HOPPE, 1997 apud BELTRAME, 2005), sendo sintetizadas pelo metabolismo secundário das plantas (HAMMERSCHMIDT, 2003). Ademais, dentre as diferentes respostas de defesa, a síntese desses compostos normalmente é o último evento (HARTLEB; HEITEFUSS; HOPPE, 1997 apud BELTRAME, 2005), a qual pode ser ativada por elicitores exógenos, ou seja, produzidos pelos patógenos, ou elicitores endógenos, que são produzidos pelas plantas em resposta a uma situação de estresse (SEKI et al., 1999). Apresentam uma grande variedade de estruturas químicas, mais de 400, porém todas são lipofílicas, o que permite atravessar o plasmalema, além de interferir no funcionamento normal das membranas como no aumento da perda de eletrólitos (SMITH, 1996). Apesar dessa diversidade, as fitoalexinas são sintetizadas

através de três rotas metabólicas: acetato-malonato, acetato-shiquimato e acetato-mevalonato (HARTLEB; HEITEFUSS; HOPPE, 1997 apud BELTRAME, 2005).

Certos casos de resistência em milho e sorgo são exemplos da importância de fenóis. A resistência a *Cochliobolus heterostrophus* em plantas de milho portadoras do gene *rhm* envolve, quase que exclusivamente, fenilpropanóides (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). Plantas de milho e de sorgo resistentes a *Peronosclerospora sorghi* apresentam não só diferenças quantitativas, mas também qualitativas em seus compostos fenólicos (ANWAR; MAJUMDER; SHETTY, 1995). Bonaldo (2005) verificou que extratos autoclavados de levedura elicitarão o acúmulo de fitoalexinas em plantas e mesocótilos de sorgo inoculados com *Colletotrichum sublineolum*. Além disso, as plantas de sorgo apresentaram menor severidade de antracnose tanto local quanto sistemicamente. Thomma et al. (1999) verificaram que plantas de *Arabidopsis* deficientes na produção da fitoalexina camalexina, foram mais suscetíveis à *Alternaria brassicicola* do que as plantas que produziam esse composto. Por outro lado, esses mutantes não foram mais suscetíveis a *B. cinerea*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção e preparo do inóculo

Os experimentos foram realizados no campo, na casa de vegetação ou no laboratório de Fisiologia e Bioquímica Fitopatológica do Departamento de Fitopatologia e Nematologia Agrícola da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ/USP em Piracicaba.

A bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, gentilmente cedida pela Dr^a Maria Heloísa Duarte de Moraes, foi cultivada em placas de Petri contendo meio de cultura Nutriente-Ágar (NA) e mantida a 28 °C em ausência de luz, por dois dias. Para a inoculação, foi preparada suspensão bacteriana com concentração ajustada a 10^8 ufc.mL⁻¹, com base em curva de absorvância a 600nm. A manutenção da bactéria a longo prazo foi realizada por conservação em tampão fosfato (0,3 g de K₂HPO₄, 0,2 g de KH₂PO₄ e 200 mL de água destilada).

3.2 Produção das plantas em casa de vegetação

As plantas de feijão foram cultivadas em vasos de dois litros contendo mistura de solo, matéria orgânica e areia, no volume de 2:2:1, autoclavada por duas vezes, durante uma hora a 121°C em intervalo de 24 h, e mantidas em casa de vegetação. As sementes de feijão da variedade IAC-Carioca foram provenientes do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC).

3.2.1 Cultivo do feijoeiro em casa de vegetação para análises bioquímicas

Em casa de vegetação foram realizados dois experimentos com diferentes datas de inoculação do patógeno, os quais foram repetidos posteriormente. Em cada experimento, semearam-se seis sementes de feijão por vaso, porém apenas três plantas foram mantidas após a emergência, as quais foram tratadas com base em dados preliminares gerados por Kuhn (2007). A aplicação foi feita, para o experimento 1, aos 0, 7, 14 e 28 dias após a emergência das plântulas (dae), a inoculação foi realizada no 7^o dae e foram realizadas quatro coletas das amostras aos 0, 7, 21 e 35

dae. Entretanto para o experimento 2, as aplicações foram realizadas aos 0, 7, 14, 28 e 42 dias após a emergência das plântulas, a inoculação foi realizada no 21º dae e as cinco coletas foram conduzidas aos 0, 7, 21, 35 e 49 dae (Tabela 1). Os tratamentos foram dispostos da seguinte maneira: **Tratamento A** – Controle água, **Tratamento B** – Controle ASM, **Tratamento C** – Água com inoculação do patógeno ao 7º dae (experimento 1) e ao 21º dae (experimento 2). **Tratamento D** – Induzida com ASM e desafiada com o patógeno ao 7º dae (experimento 1) e ao 21º dae (experimento 2).

O indutor acibenzolar-S-metil (ASM), aplicado em solução aquosa com concentração de 50 mg i.a. L⁻¹ do produto Bion[®], foi aspergido nas plantas com pulverizador manual até o ponto de escorrimento. A inoculação da bactéria *X. axonopodis* pv. *phaseoli* foi efetuada por aspersão das suspensões como descrito em 3.1. A adubação foi realizada por meio da aplicação da formulação de NPK na proporção de 10:10:10 aos 21 dae.

Os tratamentos foram dispostos em quatro blocos ao acaso com esquema fatorial 4x4, considerando quatro tratamentos e quatro datas de coleta, de modo que cada tratamento foi composto de quatro repetições, sendo cada repetição constituída por um vaso com três plantas, totalizando 64 unidades experimentais para o experimento inoculados ao 7º dae. Entretanto, para o experimento inoculado ao 21º dae, os tratamentos foram dispostos em quatro blocos ao acaso com esquema fatorial 4x5, considerando quatro tratamentos e cinco datas de coleta, sendo que cada tratamento foi composto de quatro repetições e, cada repetição foi constituída por um vaso com três plantas, totalizando 80 unidades experimentais. A análise estatística dos experimentos foi realizada utilizando-se o teste de Tukey 5%.

Os experimentos foram conduzidos nos períodos entre 11 de abril a 27 de maio de 2008 e 11 de julho a 09 de setembro de 2008, para inoculação ao 7º e 21º dae, respectivamente, e suas repetições foram realizadas entre 26 de janeiro a 24 de março de 2009.

3.2.2 Cultivo do feijoeiro em casa de vegetação para análises dos parâmetros da produção

Em casa de vegetação também foram realizados experimentos para a avaliação do potencial hídrico e dos parâmetros da produção das plantas. Para isso, dois experimentos com diferentes datas de inoculação do patógeno, repetidos posteriormente, e em combinações idênticas aos do item 3.2.1 foram conduzidos.

O potencial hídrico das plantas foi medido segundo metodologia de Gomes et al. (2004), em câmara de Scholander com 4 folhas por tratamento e o resultado foi expresso em Mpa. Os dados foram obtidos aos 0, 7, 21 e 35 dae para o experimento 1 e aos 0, 7, 21, 35 e 49 dae para o experimento 2.

Ao final do ciclo do feijoeiro foram coletados dados como massa seca, número de vagens, número de grãos por vagem e peso de 100 grãos, produzidos por repetição. A massa seca total foi obtida pela pesagem dos restos culturais de cada vaso após permanência do material a 60 °C até peso constante.

A avaliação da severidade do crestamento bacteriano comum, também foi realizada nestes experimentos, por meio da quantificação da área lesionada de folhas, com o auxílio do software QUANT versão 1.0.1 (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO, 2001), ao 35º dae para o experimento 1 e ao 49º dae para o experimento 2.

Esses experimentos foram conduzidos entre 17 de outubro a 27 de dezembro de 2008 e suas repetições foram realizadas entre 26 de janeiro a 01 de abril de 2009.

3.3 Produção das plantas em campo

Sementes de feijão da variedade IAC-Carioca provenientes do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) foram semeadas em parcelas compostas por seis linhas de 6,5 m com espaçamento entrelinhas de 0,50 m, correspondendo a 16,25 m², sendo a área útil do experimento constituída das duas linhas centrais da parcela, desconsiderando as duas linhas de bordadura de cada extremidade da área útil, correspondendo a 4,5 m².

3.3.1 Cultivo do feijoeiro em campo para análise dos parâmetros da produção

Dois experimentos de feijão com diferentes datas de inoculação do patógeno foram cultivados a campo, sendo as plantas tratadas identicamente ao item 3.2.1 e distribuídas em seis blocos ao acaso com 20 unidades experimentais cada.

Foram avaliados nestes experimentos: o potencial hídrico das folhas, a quantidade de clorofila total, os parâmetros de produção, além da avaliação da severidade da doença, todos da mesma maneira que o item 3.2.2. Os dados de potencial hídrico e de clorofila foram obtidos aos 0, 7, 21, 35 e 49 dae, os dados de severidade da doença foram realizados ao 49^o dae, enquanto que os dados de produtividade foram obtidos ao final do ciclo da cultura.

Esses experimentos foram conduzidos entre 23 de outubro de 2008 a 13 de janeiro de 2009 e suas repetições foram realizadas entre 10 de março a 28 de maio de 2009.

3.4 Análises bioquímicas

3.4.1 Obtenção e armazenamento das amostras de tecido foliar

Para a realização das análises bioquímicas, em cada data de amostragem, folhas completamente expandidas foram coletadas das plantas de cada tratamento em casa de vegetação aos 0, 7, 21, 35, e 49 dias após a emergência. Essas amostras foram pesadas (0,5 g para análises de proteínas totais, peroxidase, carboidratos totais e fenóis totais, e 0,1g para análise de clorofilas), embaladas e acondicionadas em isopor contendo nitrogênio líquido e transportadas imediatamente para o laboratório, onde foram armazenadas em congelador (-20 °C) para posterior análise experimental.

3.4.2 Quantificação de clorofilas a, b e total

As amostras foram homogeneizadas protegidas da luz, em almofariz de porcelana contendo 4 mL de acetona 80% (v/v) à 4 °C e filtradas em papel de filtro Whatman nº 1. O filtrado foi levado ao volume final de 8 mL com acetona 80% e em seguida, foi realizada a leitura da absorbância das amostras a 663 nm para a

determinação da clorofila A e 645 nm para a clorofila B em espectrofotômetro. A quantidade de clorofila total foi determinada com base na absorbância das amostras a 645 e 663 nm, sendo o conteúdo expresso em mg de clorofila. g de tecido fresco⁻¹ (ARNON, 1949; HAMMERSCHMIDT; NICHOLSON, 1977). A análise de clorofila total para as plantas conduzidas em campo foi realizada com o auxílio do medidor de clorofila, SPAD-502 (Konica Minolta).

3.4.3 Quantificação de fenóis totais

Em nitrogênio líquido as amostras de tecido foliar coletadas (0,5 g) foram trituradas, e em seguida foram secas por 6 h em liofilizador (*Integrated SpeedVac System* modelo ISS, marca Savant). Trinta miligramas deste material liofilizado foi transferido para tubo eppendorf de 2 mL, onde foi homogeneizado com 1,5 mL de metanol 80% e levado para agitação por 15 h em agitador rotativo, sob ausência de luz e em temperatura ambiente. O extrato metanólico foi centrifugado a 12.000g por 5 min, sendo o sobrenadante transferido para novo tubo eppendorf. Para a determinação dos compostos fenólicos totais, pipetou-se 150 µl do extrato metanólico, misturou-se 150 µl do reagente de Folin-Ciocalteu 0,25N e manteve-se em temperatura ambiente por 5 min, adicionando-se então 150 µl de Na_2CO_3 1M, sendo homogeneizado e mantido por 10 min em temperatura ambiente. A mistura foi então homogeneizada com 1 mL de H_2O destilada e deionizada e mantida a temperatura ambiente por uma hora. A absorbância da reação foi lida a 725 nm. Foi realizada uma curva padrão utilizando-se catecol como base para o cálculo dos valores de absorbância e os compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente mg de catecol.g de tecido seco⁻¹ (RODRIGUES et al., 2005).

3.4.4 Obtenção do extrato enzimático

As amostras de folhas coletadas (0,5 g) foram homogeneizadas em almofariz contendo 4 mL de tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0), por meio de força mecânica. O homogenato foi centrifugado a 20.000g a 4 °C durante 25 min e o sobrenadante obtido foi considerado como extrato enzimático, para determinação de proteínas totais, atividade da peroxidase e carboidratos totais.

3.4.4.1 Quantificação de proteínas totais

A quantificação de proteínas totais nas amostras foi realizada por meio do teste de Bradford (1976), adicionando-se a cada 0,8 mL do extrato enzimático, 0,2 mL do reagente de Bradford, sob agitação. Após 5 min, foi efetuada a leitura da absorbância a 595 nm em espectrofotômetro. A concentração de proteínas totais foi determinada utilizando-se curva padrão de concentrações de albumina de soro bovino (ASB), expressa em $\mu\text{g prote\u00edna.mL}^{-1}$.

3.4.4.2 Atividade da peroxidase

A atividade da peroxidase foi determinada por meio do método espectrofotométrico direto a 30 °C, pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (LUSSO; PASCHOLATI, 1999). A mistura da reação continha 0,10 mL do extrato enzimático, 2,9 mL de solução com 250 μL de guaiacol e 306 μL de peróxido de hidrogênio em 100 mL de tampão fosfato 0,01M (pH 6,0). A atividade da peroxidase foi expressa em unidades de $\text{absorb\u00e2ncia.min}^{-1}.\text{mg prote\u00edna}^{-1}$, sendo a determinação de proteínas efetuada como descrito no item 3.4.4.1.

3.4.4.3 Quantificação de carboidratos totais

Os carboidratos totais foram quantificados pelo uso do método envolvendo fenol sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), onde a cada 0,5 mL do extrato enzimático foram adicionados 0,5 mL de fenol (5%) e rapidamente, 2,5 mL de H_2SO_4 . Após 30 min de incubação em temperatura ambiente foi realizada a leitura da absorbância a 490 nm, sendo utilizada curva padrão de concentrações de glicose para a determinação da concentração de carboidratos totais, os quais foram expressos em $\text{mg glicose.g de tecido fresco}^{-1}$.

4 RESULTADOS

Para uma possível análise comparativa, a escala fenológica do feijoeiro proposta por Fernandez, Gepts e Lopes (1982) está representada abaixo (Tabela 1). Segundo Haag et al. (1967), verifica-se que nos 20 primeiros dias o feijoeiro cresce muito, cerca de 5% de seu crescimento total. Por ocasião da floração, que se inicia dos 20 aos 30 dias, há um aumento de 15% no peso da planta. A partir dos 30 dias, com o aparecimento das primeiras vagens, o crescimento aumenta bruscamente na ordem de 80%, atingindo o máximo aos 50 dias de idade. Do quinquagésimo dia em diante, há um decréscimo de peso, devido ao secamento da planta.

Tabela 1 – Estádios de desenvolvimento do feijoeiro (FERNANDEZ; GEPTS; LOPES, 1982)

	Estádio	Descrição ¹
	V0	Germinação
Vegetativo	V1	Emergência
	V2	Folhas primárias abertas
	V3	Primeira folha trifoliolada aberta e plana
	V4	Terceira folha trifoliolada aberta e plana
Reprodutivo	R5	Primeiro racimo floral nos nós inferiores – pré floração
	R6	Primeira flor aberta – floração
	R7	Formação de vagem
	R8	Enchimento de grãos
	R9	Maturação

¹A caracterização do estágio é definida quando 50% ou mais plantas da parcela ou amostra apresentam as características descritas.

As plantas em casa de vegetação inoculadas com *X. axonopodis* pv. *phaseoli* ao 7º dae não resistiram até ao 49º dae, por essa razão esses trabalhos foram finalizados ao 35º dae. Resultado semelhante ocorreu em experimento realizado por Barros (2007) ao estudar plantas de feijão caupi inoculadas aos 14 dias após o plantio com CPSMV (*Cowpea Severe Mosaic Virus*), agente causal do mosaico severo em feijoeiro

(BARROS, 2007).

Os experimentos foram repetidos e os resultados estavam em conformidade com os anteriormente obtidos.

4.1 Cultivo do feijoeiro para análises bioquímicas

4.1.1 Quantificação de clorofilas *a*, *b* e total

Em casa de vegetação, nas plantas do experimento 1, o teor da clorofila *a* apresentou diferença estatística entre tratamentos e na interação tratamento e épocas de coleta (Figura 1; ANEXO A). Entretanto, o teor de clorofila *b* variou significativamente apenas entre tratamentos (Figura 1; ANEXO B). E a avaliação da clorofila total mostrou variação entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamento e épocas de coleta (Figura 1; ANEXO C). Para tratamentos, o que apresentou menor média foi água+patógeno, para as clorofilas *a* e total, porém para clorofila *a*, este tratamento não diferiu de ASM e de ASM+patógeno. Já o teor de clorofila *b* foi maior no tratamento ASM+patógeno não diferindo do ASM e água+patógeno.

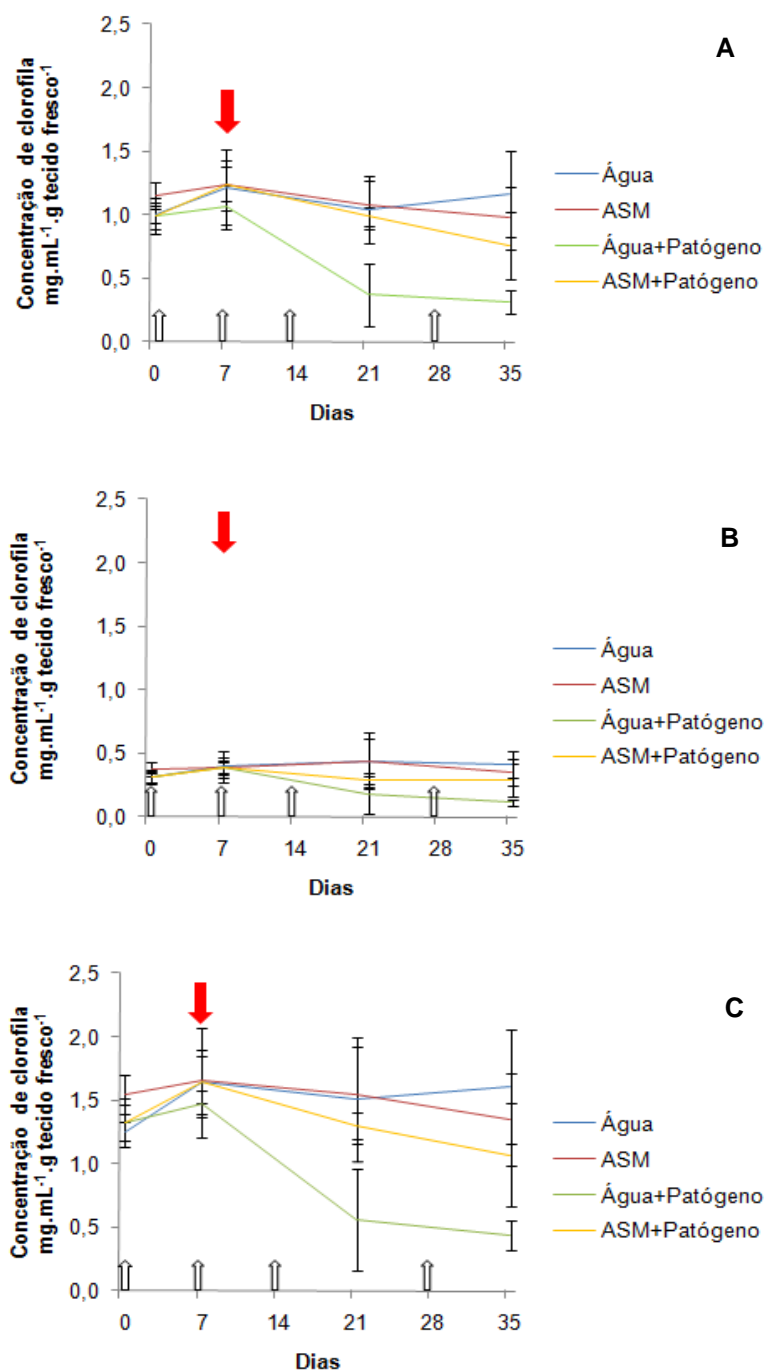


Figura 1 – Teor de clorofilas em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae (⇓). Inoculação realizada ao 7º dae (↓). Barras indicam a média \pm erro padrão. A - clorofila a; B – clorofila b; C- clorofila total. ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

Para o experimento 2, em casa de vegetação, os teores de clorofila *a* e total variaram significativamente entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamento e épocas de coleta (Figura 2; ANEXOS D e F). Em relação ao teor de clorofila *b* houve diferença significativa apenas entre tratamentos e na interação tratamento e épocas de coleta (Figura 2; ANEXO E). Porém, neste experimento, para clorofilas *a* e total, o tratamento que apresentou a menor média foi água+patógeno não diferindo do ASM+patógeno. Quanto à clorofila *b*, o menor valor deu-se nas plantas tratadas com água+patógeno não diferindo do tratamento ASM e do ASM+patógeno.

Em todos os experimentos realizados em campo (experimento 1, 2 e suas repetições) houve diferença estatística entre tratamentos, época e na interação entre tratamentos e épocas de coleta (Figura 3; ANEXOS G e H). Sendo que o tratamento água+patógeno, da mesma maneira que em casa de vegetação, apresentou menor valor de clorofila total diferindo de todos os outros tratamentos nos dois experimentos.

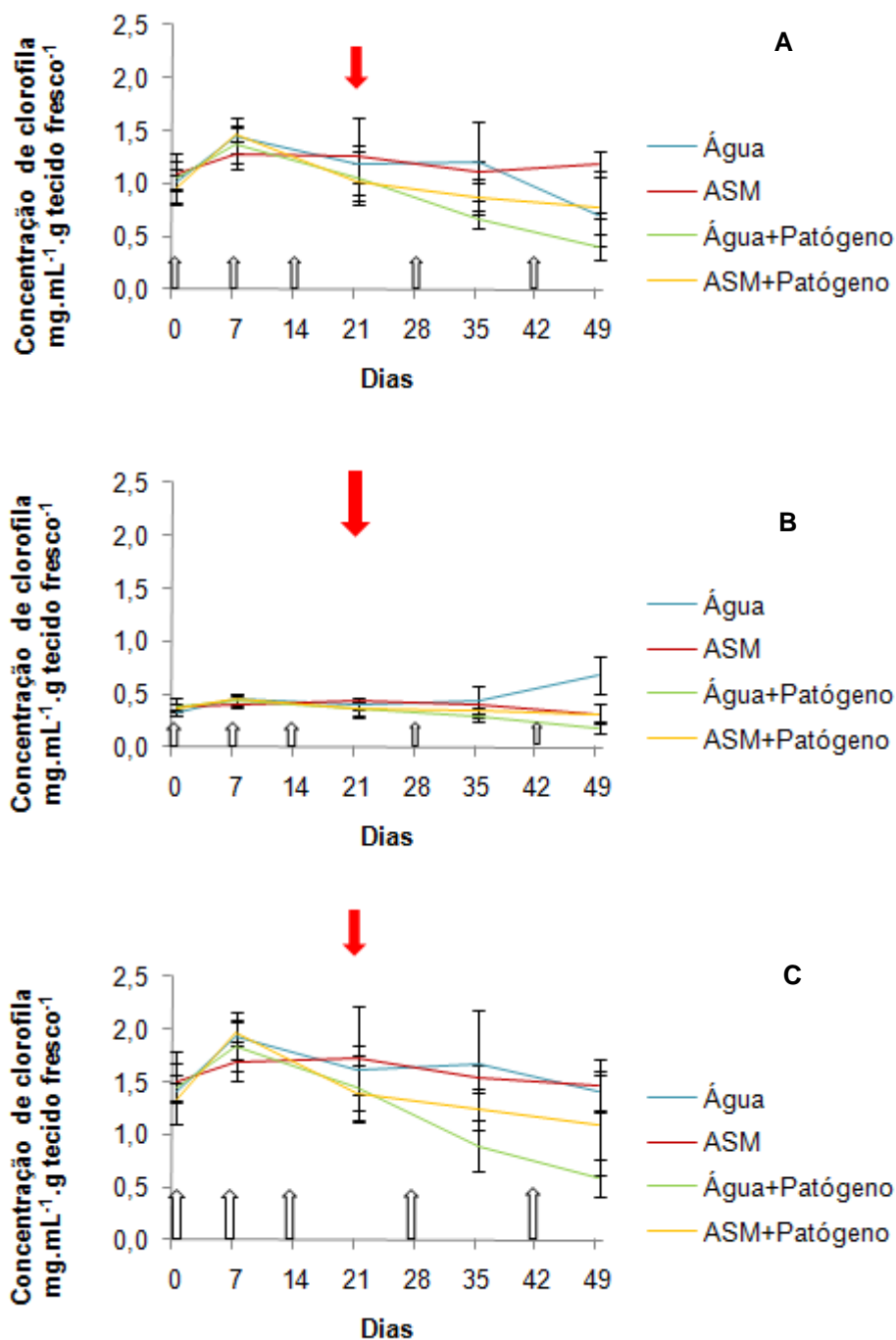


Figura 2 – Teor de clorofilas em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (⊥). Inoculação realizada ao 21º dae (↓). Barras indicam a média \pm erro padrão. A - clorofila a; B – clorofila b; C- clorofila total. ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

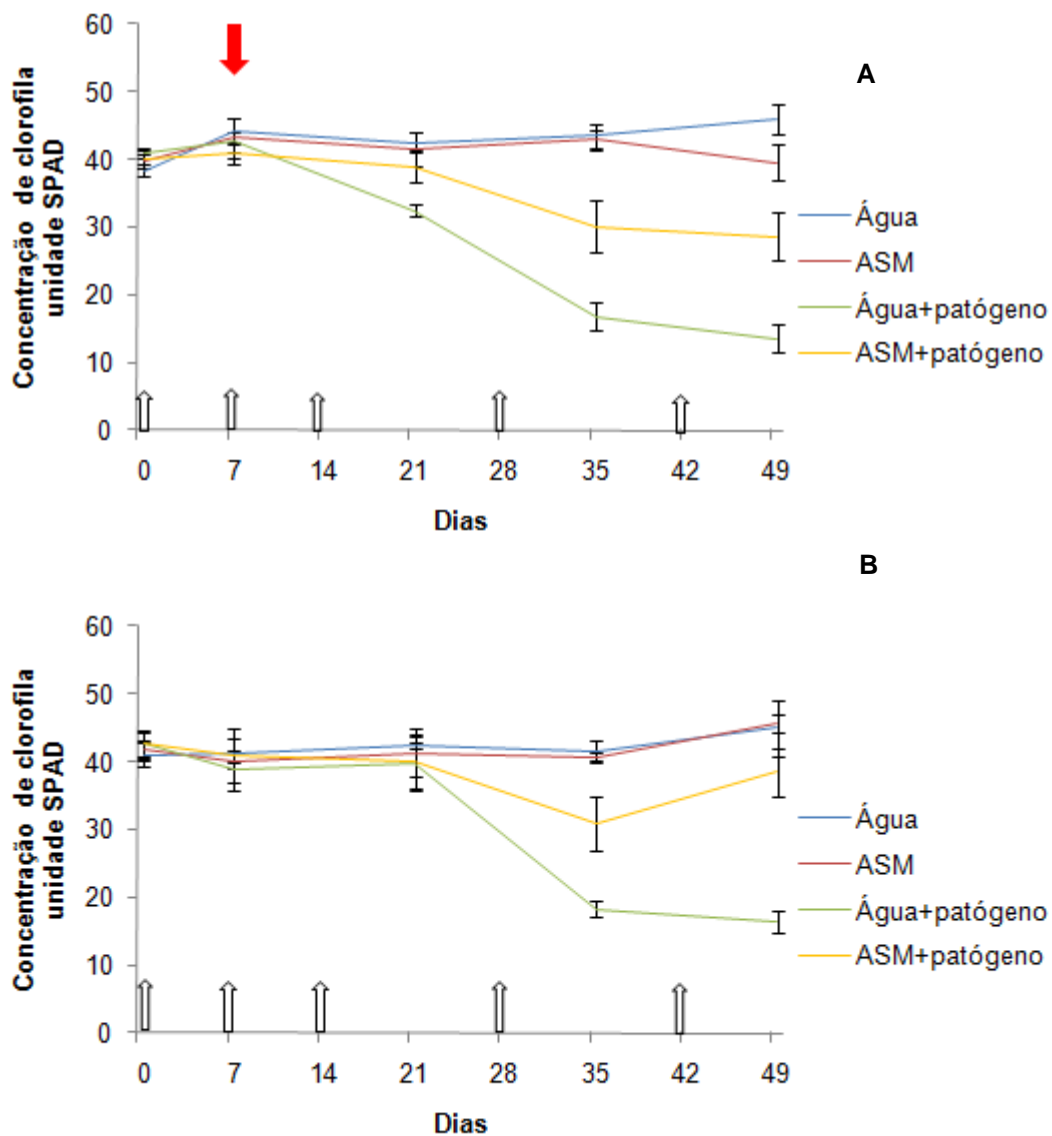


Figura 3 – Teor de clorofila total em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (∩) e inoculação realizada ao 7^o dae (↓); B - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (∩) e inoculação realizada ao 21^o dae (↓). ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

4.1.2 Quantificação de fenóis totais

A quantidade de fenóis totais nos dois experimentos conduzidos e em suas repetições variou significativamente nos três parâmetros avaliados, entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamento e épocas de coleta (Figura 4; ANEXOS I e J).

A maior concentração de fenóis totais foi encontrada nas plantas do tratamento ASM+patógeno, não diferindo do tratamento água+patógeno. Entretanto, no experimento 1, todos os tratamentos apresentaram maior teor de fenóis totais aos 21 dae, já no experimento 2, os maiores valores ocorreram 35 dae, com exceção do tratamento controle água que apresentou aos 21 dae.

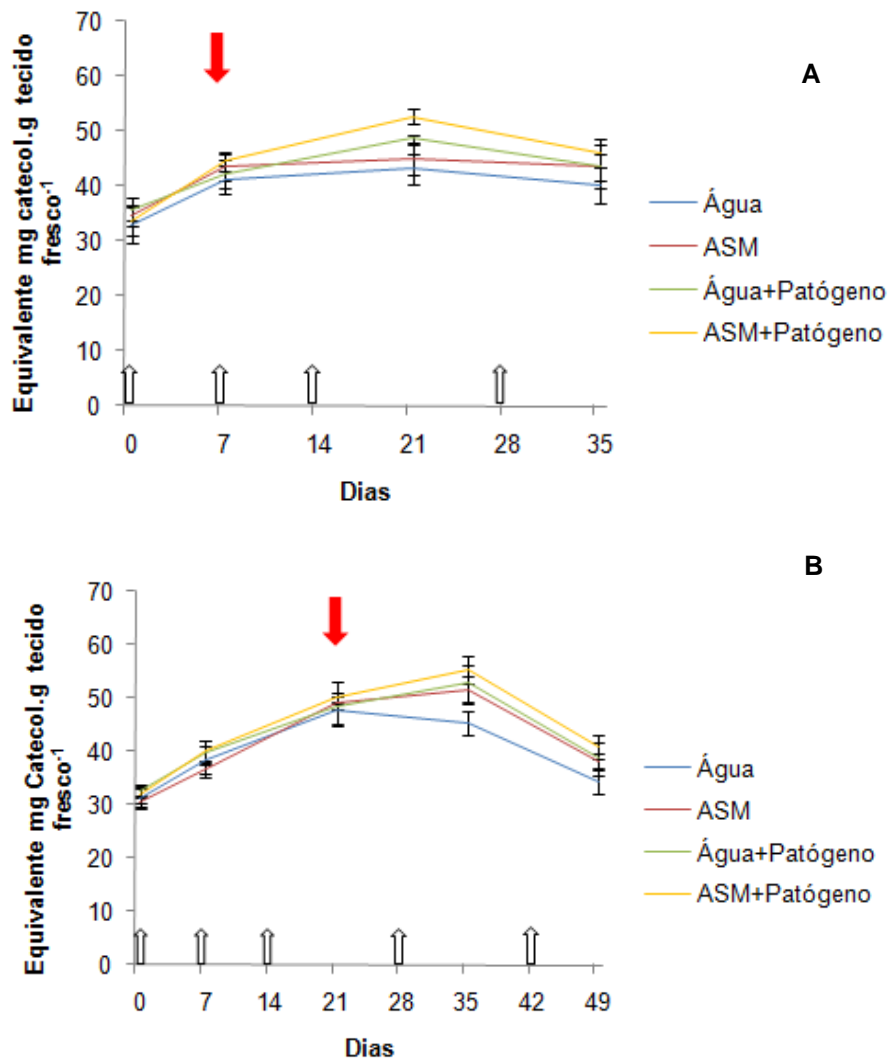


Figura 4 – Teor de fenóis totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (↑) e inoculação realizada ao 7º dae (↓); B - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (↑) e inoculação realizada ao 21º dae (↓). ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

4.1.3 Quantificação de proteínas totais

Da mesma maneira que fenóis, o teor de proteínas totais, nos dois experimentos, bem como em suas repetições variaram significativamente entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamento e épocas de coleta (Figura 5; ANEXOS K e L).

As maiores quantidades de proteínas totais, no experimento 1, ocorreram nos tratamentos onde foram aplicados o indutor, ASM+patógeno e ASM, respectivamente. Porém na última coleta (35^o dae) a quantidade em ASM diminuiu não diferindo das plantas controle água e do tratamento água+patógeno. Para o experimento 2, observa-se os tratamentos ASM+patógeno e ASM diferiram dos demais a partir dos 35 dae.

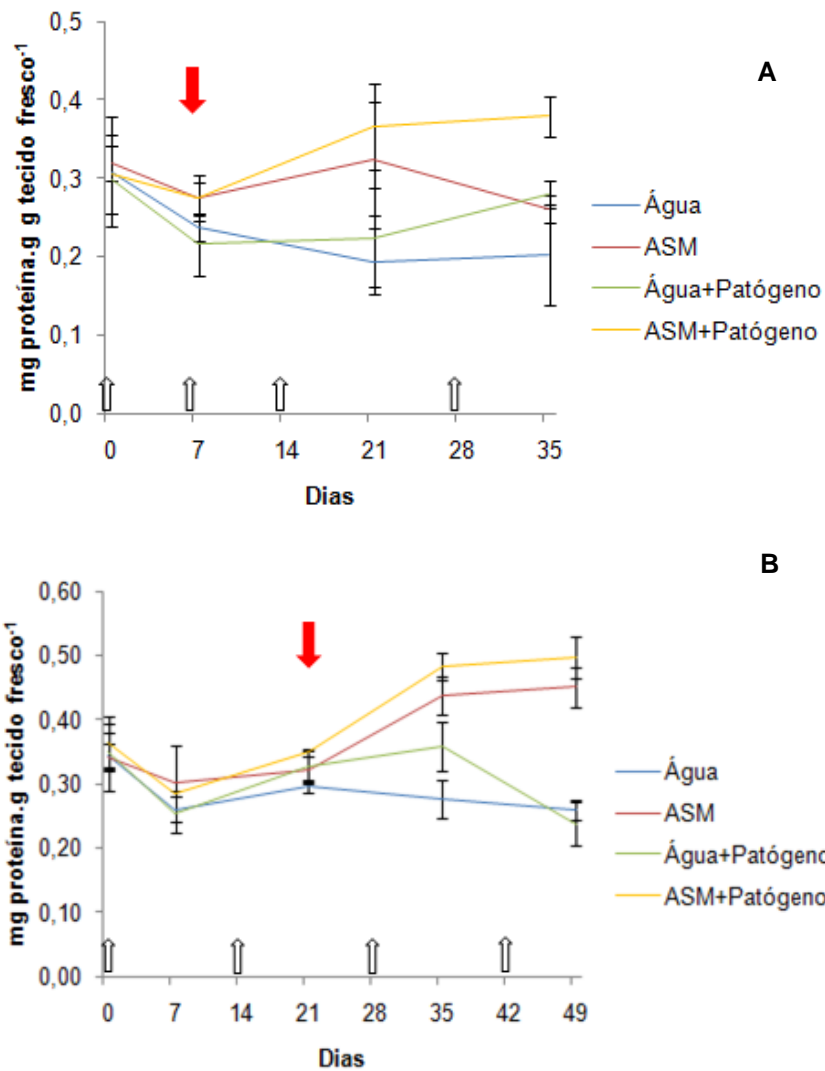


Figura 5 – Teor de proteínas totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (↑) e inoculação realizada ao 7^o dae (↓); B - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (↑) e inoculação realizada ao 21^o dae (↓). ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

4.1.4 Atividade da peroxidase

Para o experimento 1 e sua repetição, houve diferença significativa entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamento e épocas de coleta (Figura 6; ANEXO M).

Neste experimento, a maior atividade de peroxidase ocorreu aos 35 dae para todos os tratamentos. Sendo que o tratamento ASM+patógeno foi o que apresentou maior atividade, seguido do ASM, da mesma maneira que ocorreu na análise de proteínas totais.

O mesmo resultado do experimento 1 ocorreu no experimento 2, bem como em sua repetição, os quais variaram significativamente entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamento e épocas de coleta (Figura 6; ANEXO N), sendo a partir do 21^o dae entre os tratamentos.

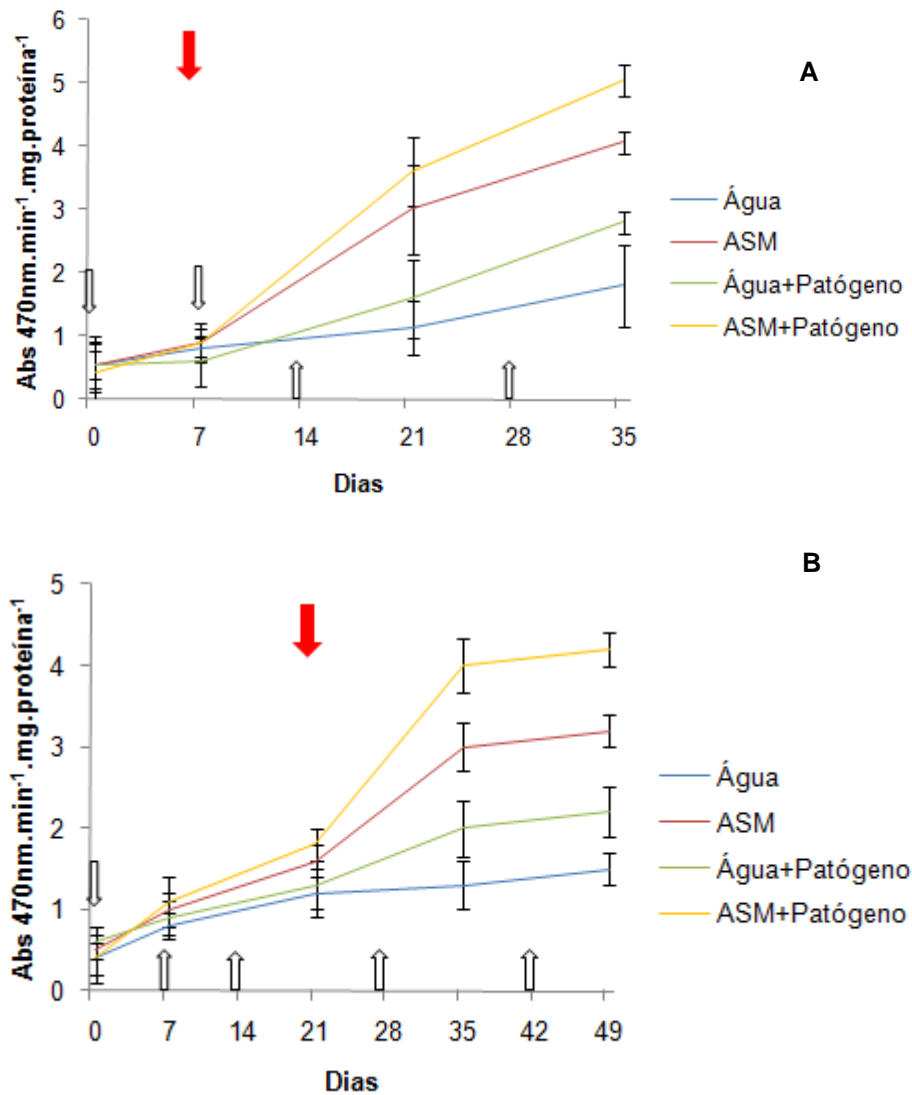


Figura 6 – Atividade de peroxidase em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (∩) e inoculação realizada ao 7^o dae (↓); B - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (∩) e inoculação realizada ao 21^o dae (↓). ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

4.1.5 Quantificação de carboidratos totais

Todos os experimentos, bem como suas repetições variaram os teores de carboidratos totais significativamente entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamento e épocas de coleta (Figuras 7; ANEXOS O e P).

O tratamento controle água foi o que apresentou maior quantidade de carboidratos totais nos dois experimentos. Entretanto, seu valor máximo ocorreu em 21 dae, para o experimento 1, e em 35 dae, para o experimento 2.

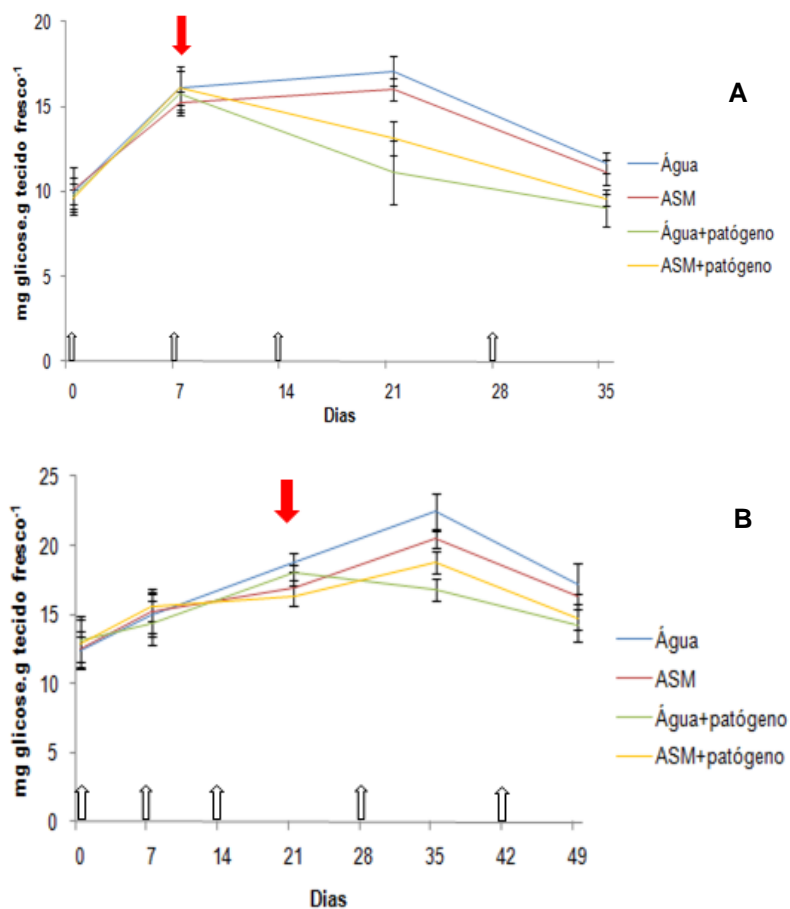


Figura 7 – Teor de carboidratos totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (∩) e inoculação realizada ao 7^o dae (↓); B - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (∩) e inoculação realizada ao 21^o dae (↓). ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

4.2 Cultivo do feijoeiro para análises da severidade e dos parâmetros da produção

4.2.1 Avaliação da severidade do crestamento bacteriano comum

Nas plantas de feijoeiro tratadas com o indutor ASM e desafiadas com a bactéria *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, ao 7^o dae e ao 21^o dae, houve redução na severidade da doença, tanto em casa de vegetação (Figura 8; ANEXOS Q e R), quanto em campo (Figura 9; ANEXO S e T). Houve diferença estatística entre os tratamentos e número de aplicações do indutor, sendo que o tratamento ASM+patógeno protegeu as plantas, em todas as aplicações, para o experimento 1. Entretanto, para experimento 2 houve diferença apenas após três aplicações.

Em relação ao número de aplicações, nos experimentos 1 (em casa de vegetação e em campo), na medida em que se aumentavam as aplicações a porcentagem da doença diminuía, havendo diferença estatística. Porém, três ou quatro aplicações não mostraram diferença significativa na severidade da doença em casa de vegetação, bem como três, quatro ou cinco para as plantas conduzidas em campo. Para o experimento 2, tanto em casa de vegetação quanto em campo, uma e duas aplicações não apresentaram diferença entre si, bem como três, quatro e cinco aplicações.

A porcentagem máxima de proteção das plantas com o uso do indutor foi de 78,4, 77,0, 83,7 e 82,7%, para os experimentos 1 e 2 em casa de vegetação e 1 e 2 em campo, respectivamente.

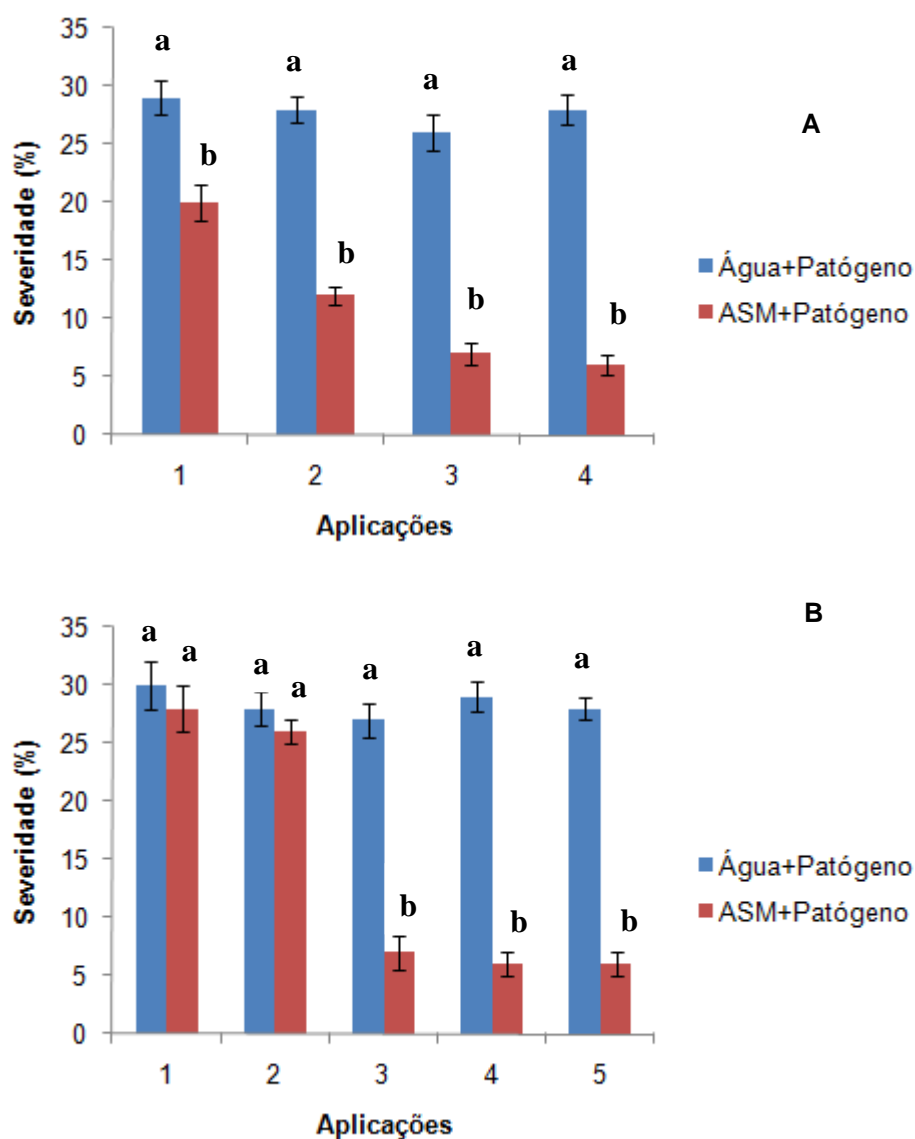


Figura 8 - Avaliação da severidade do crestamento bacteriano comum causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em plantas feijoeiro cv. IAC – carioca pré-tratadas com ASM (concentração 50 mg i.a. L⁻¹) ou água, uma, duas, três, quatro ou cinco vezes durante a condução do experimento em casa de vegetação. A – inoculação realizada ao 7^o dia após a emergência das plântulas e avaliação ao 35^o dae; B - inoculação realizada ao 21^o dae e avaliação ao 49^o. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%. Barras indicam a média ± erro padrão. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

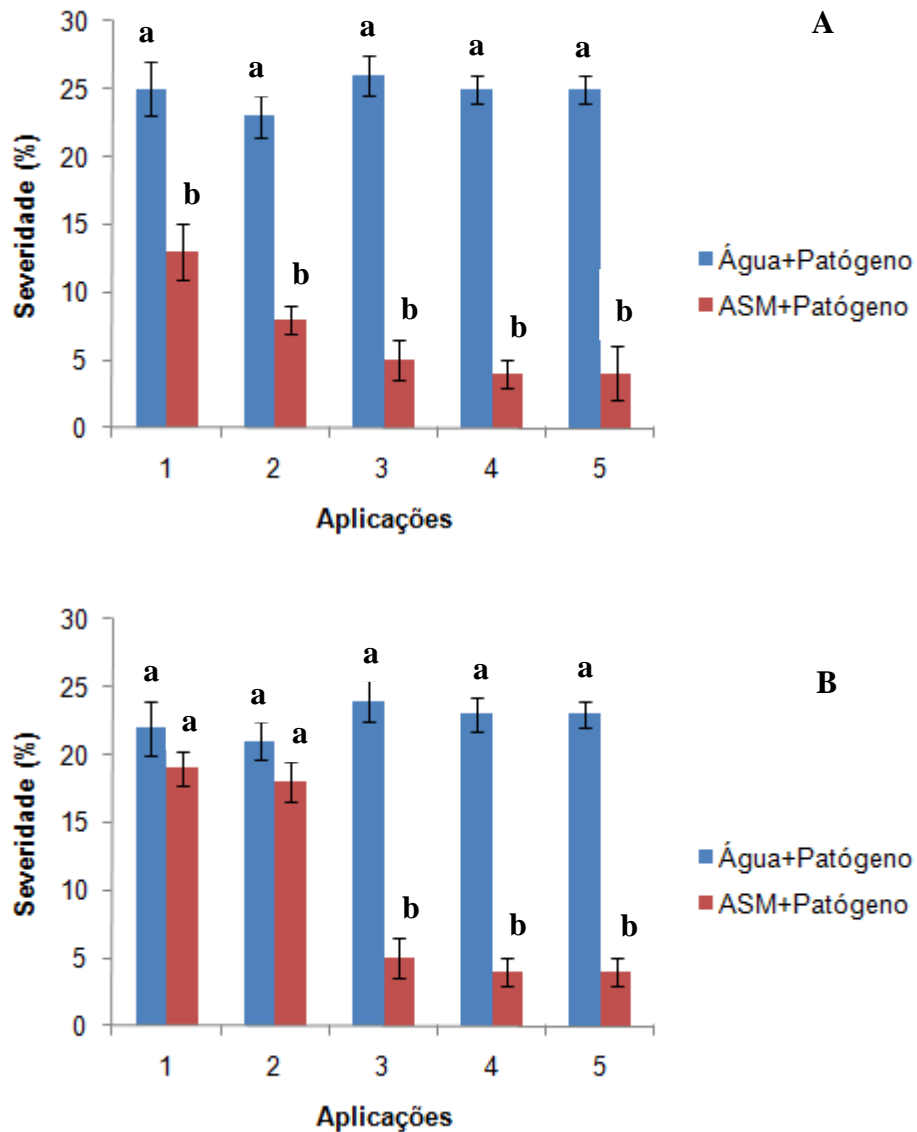


Figura 9 - Avaliação ao 49º dia após a emergência das plântulas, da severidade do crestamento bacteriano comum causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em plantas feijoeiro cv. IAC – carioca pré-tratadas com ASM (concentração 50 mg i.a. L⁻¹) ou água, uma, duas, três, quatro ou cinco vezes durante a condução do experimento em campo. A – inoculação realizada ao 7º dae; B - inoculação realizada ao 21º dae. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%. Barras indicam a média ± erro padrão. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

4.2.2 Potencial hídrico

Nos experimentos em casa de vegetação, o potencial hídrico das plantas do experimento 1 e da sua repetição mostraram diferença significativa entre tratamentos, épocas de coleta, bem como na interação tratamentos e épocas (Figura 10; ANEXO U). Houve uma tendência em apresentar valores de potencial hídrico mais negativos nas plantas induzidas quando comparadas com o controle água, sendo os valores mais negativos encontrados no tratamento ASM+patógeno, onde as plantas foram induzidas e desafiadas seguidas do tratamento água+patógeno, em que plantas foram apenas inoculadas com o patógeno. Por meio disto, pode-se verificar que o indutor ASM fez com que as plantas suportassem mais o estresse hídrico. Essa mesma tendência foi observada para o experimento 2 e sua repetição, nos quais houve diferença significativa apenas entre tratamentos e épocas de coleta (Figura 10; ANEXO V).

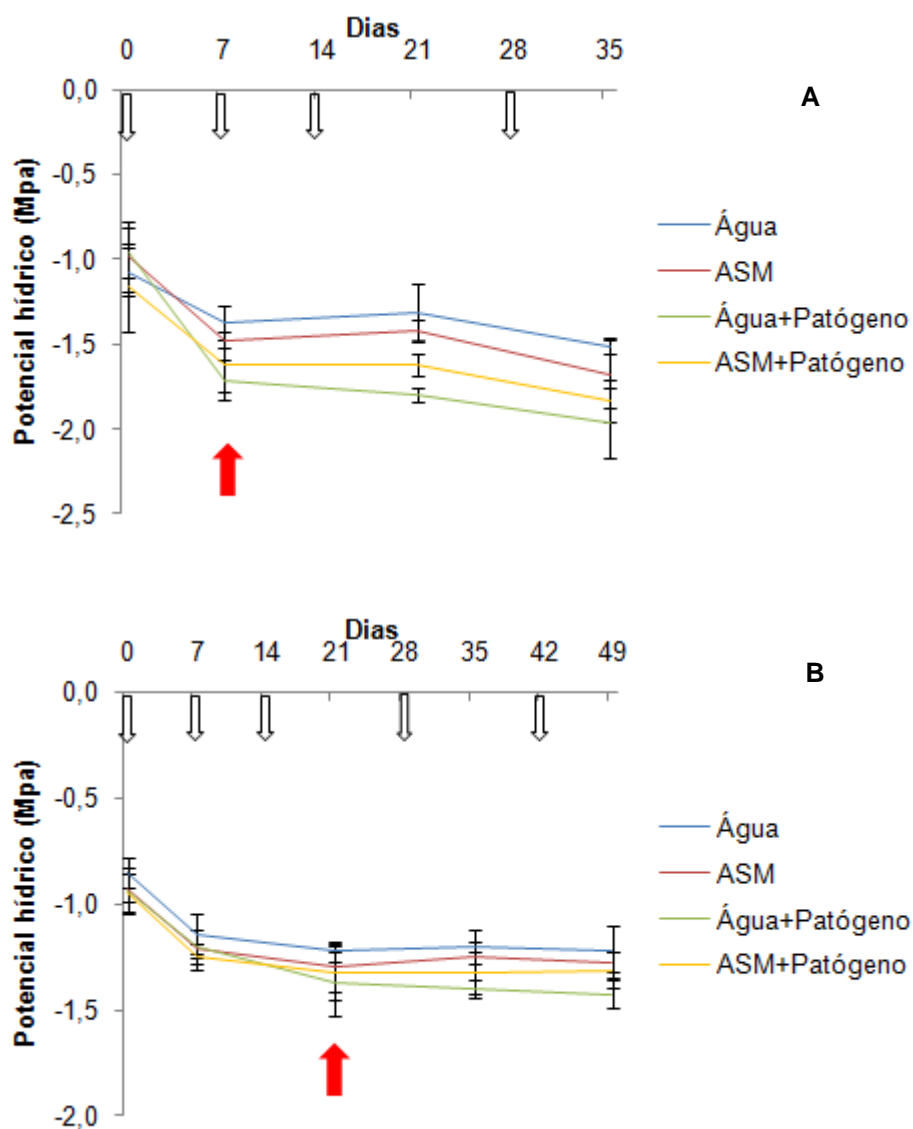


Figura 10 – Potencial hídrico de plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (\Downarrow) e inoculação realizada ao 7º dae (\Downarrow); B - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (\Downarrow) e inoculação realizada ao 21º dae (\Downarrow). ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

Em relação aos experimentos em campo, a tendência apresentada anteriormente também ocorreu e houve diferença significativa entre tratamentos e épocas de coleta no experimento com inoculação ao 7º dae (Figura 11; ANEXO W), bem como nas plantas inoculadas ao 21º dae (Figura 11; ANEXO X).

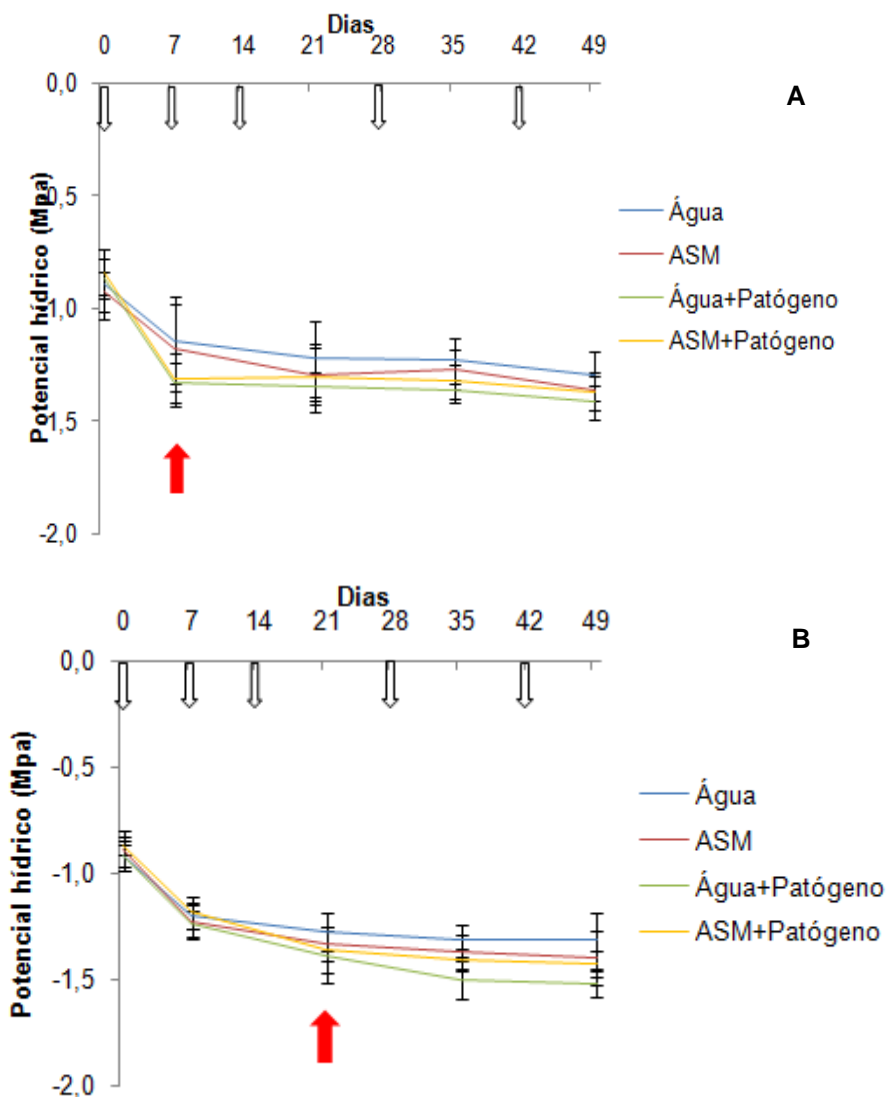


Figura 11 – Potencial hídrico de plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (↓) e inoculação realizada ao 7º dae (↑); B - tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae (↓) e inoculação realizada ao 21º dae (↑). ASM=acibenzolar-S-metil; Patógeno=*X. axonopodis* pv. *phaseoli*

4.2.3 Parâmetros da produção

4.2.3.1 Massa seca das plantas

Em casa de vegetação a massa seca das plantas do experimento 1 e da sua repetição apresentaram diferença significativa nos três parâmetros avaliados, entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamentos e épocas (Figura 12; ANEXO Y). O mesmo ocorreu no experimento 2 e sua repetição (Figura 12; ANEXO Z).

Houve diminuição do teor de massa seca entre o número de aplicações do indutor. Porém, no experimento 1, essa diferença ocorreu a partir da segunda aplicação e no experimento 2, somente após a terceira.

Para todos os experimentos conduzidos em campo, bem como para suas repetições, houve diferença significativa entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamentos e épocas (Figura 13; ANEXOS AA e AB). Houve uma diminuição nos valores de massa seca das plantas a partir da segunda aplicação de ASM para o experimento 1 e a partir da terceira, para o experimento 2. Porém, todas as plantas do tratamento ASM+patógeno tiveram maiores teores de massa seca do que plantas água+patógeno, mostrando uma vantagem naquelas plantas em função do indutor.

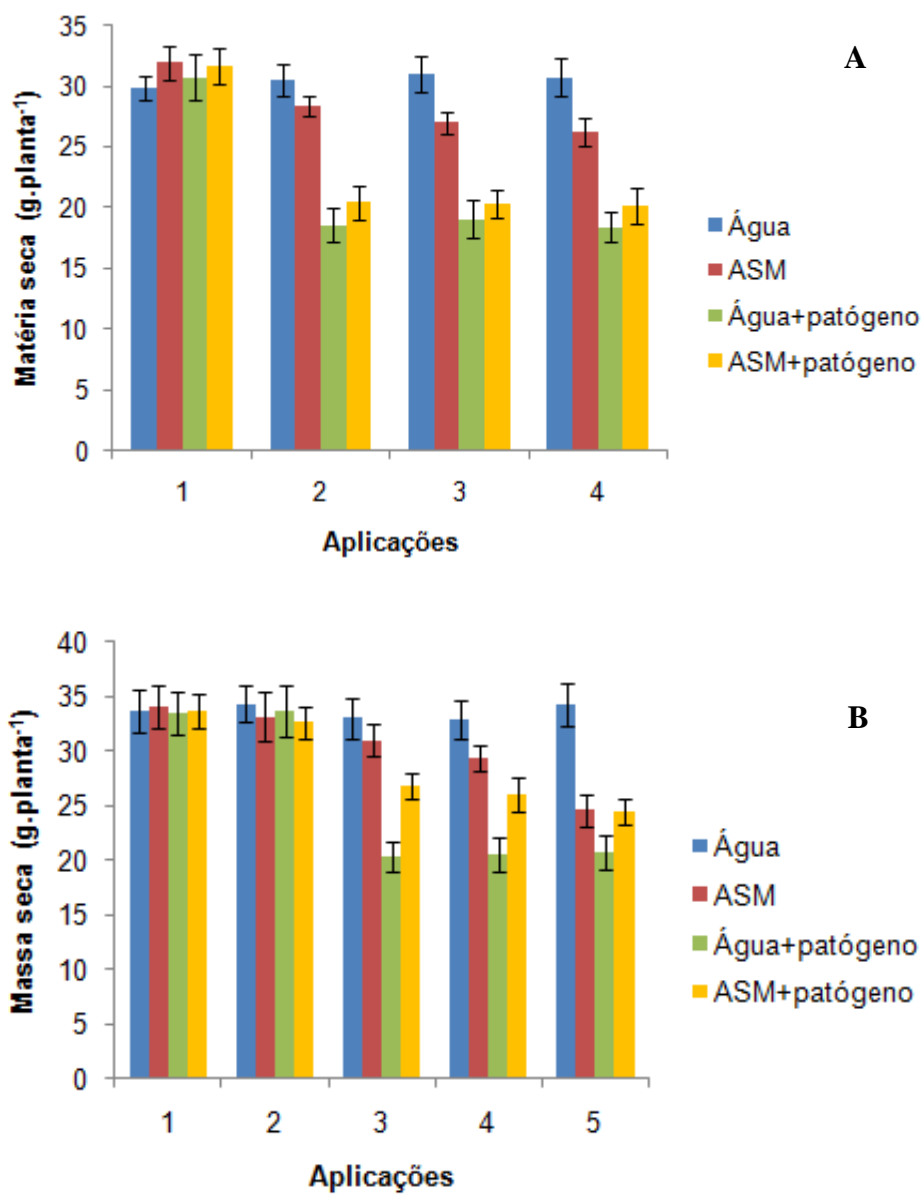


Figura 12 - Massa seca de plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivada em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados uma, duas, três, quatro ou cinco vezes. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - Inoculação realizada ao 7^o dae; B - Inoculação realizada ao 21^o dae. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

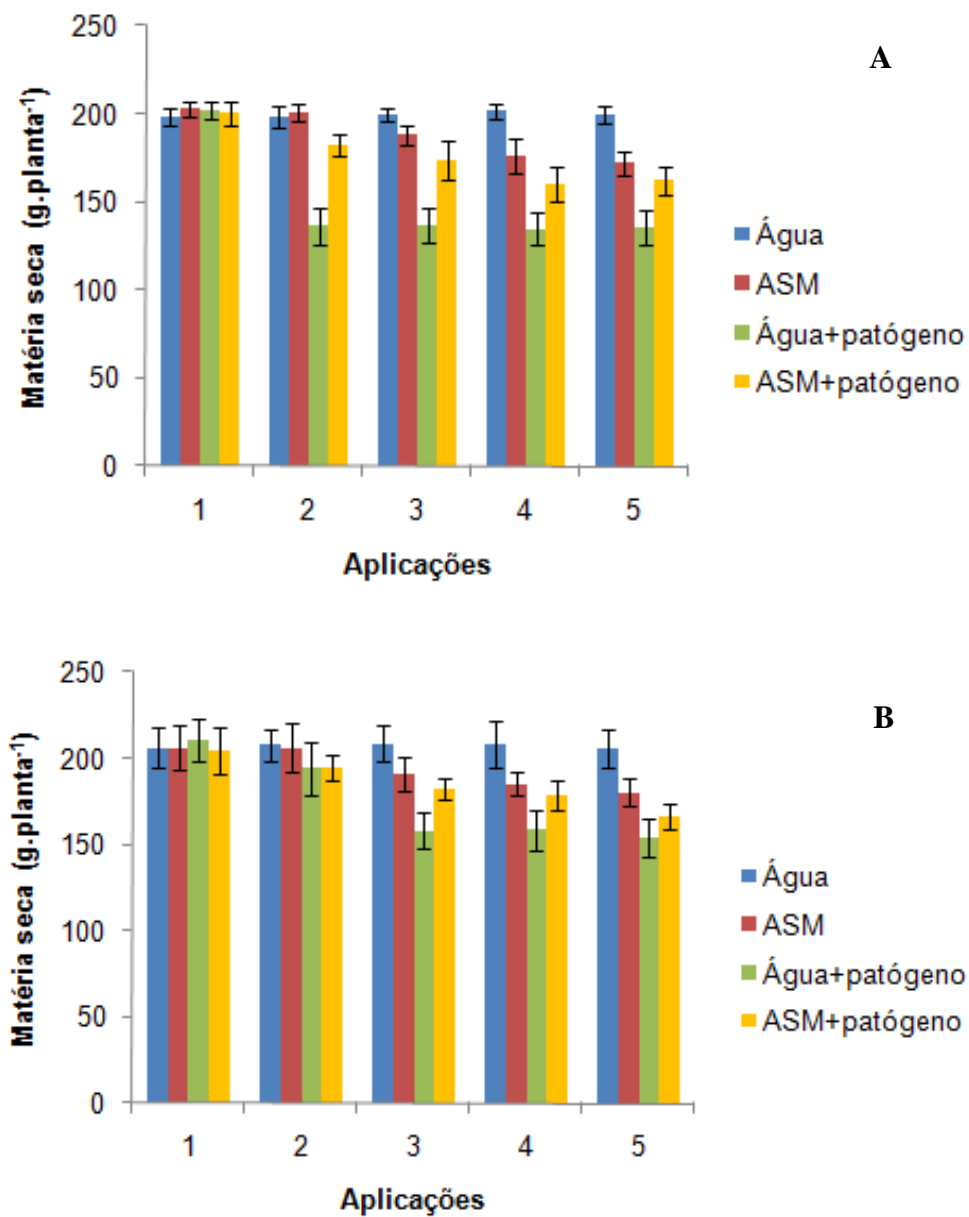


Figura 13 – Massa seca de plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivada em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados uma, duas, três, quatro e cinco vezes. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - Inoculação realizada ao 7^o dae; B - Inoculação realizada ao 21^o dae. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

4.2.3.2 Número de vagens por planta

A avaliação do número de vagens por planta em casa de vegetação e em campo mostrou diferença significativa em todos os experimentos e suas repetições. Houve diferença entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamentos e épocas (Figuras 14 e 15; ANEXOS AC, AD, AE e AF).

Esse parâmetro se mostrou igual aos dados de massa seca, sendo que o uso de ASM sem a inoculação do patógeno trouxe um aparente custo adaptativo, representado pela diminuição do número de vagens por planta. Porém, o uso desse indutor precedendo a inoculação com a bactéria fez com que estas plantas produzissem mais do que as plantas do tratamento água+patógeno, da segunda aplicação em diante.

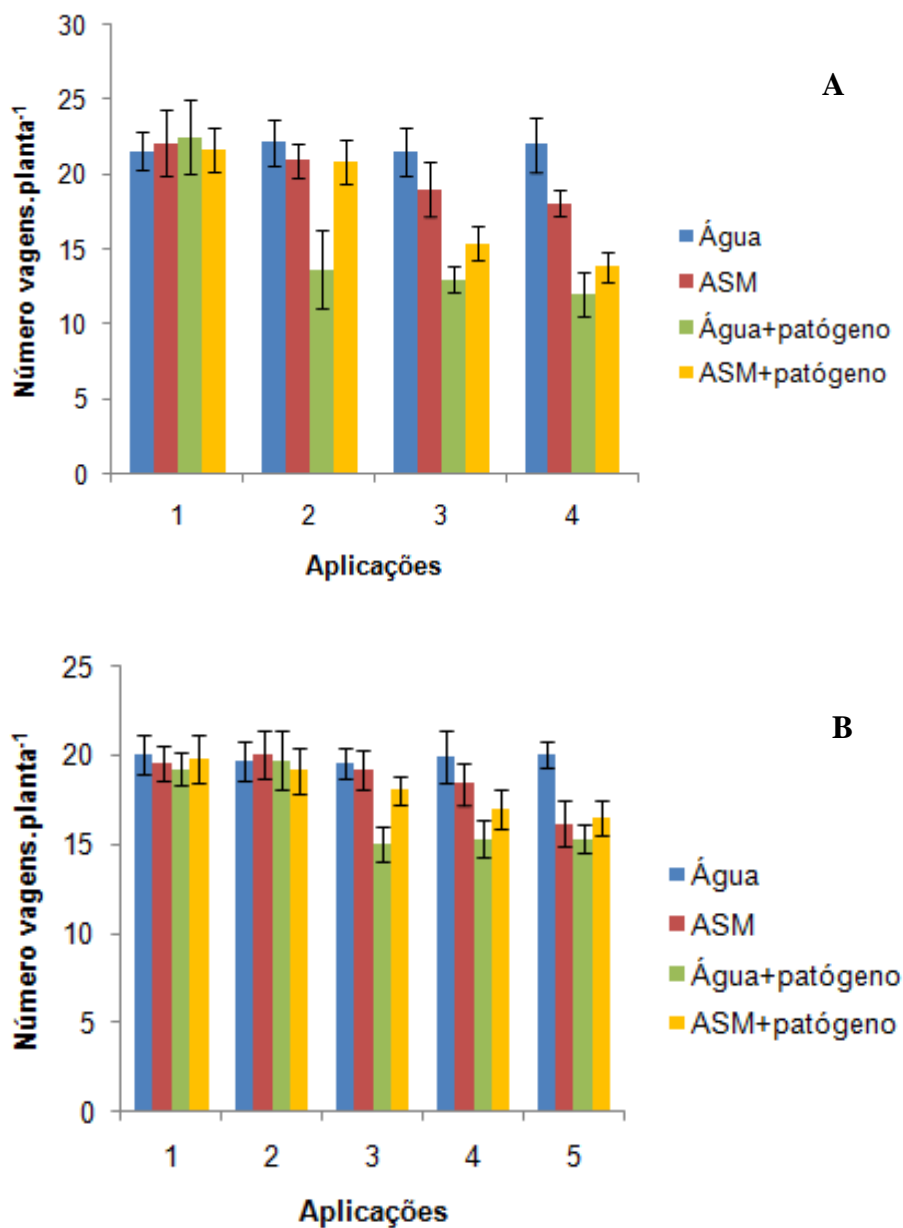


Figura 14 – Número de vagens por plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados uma, duas, três, quatro ou cinco vezes. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - Inoculação realizada ao 7º dae; B - Inoculação realizada ao 21º dae. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

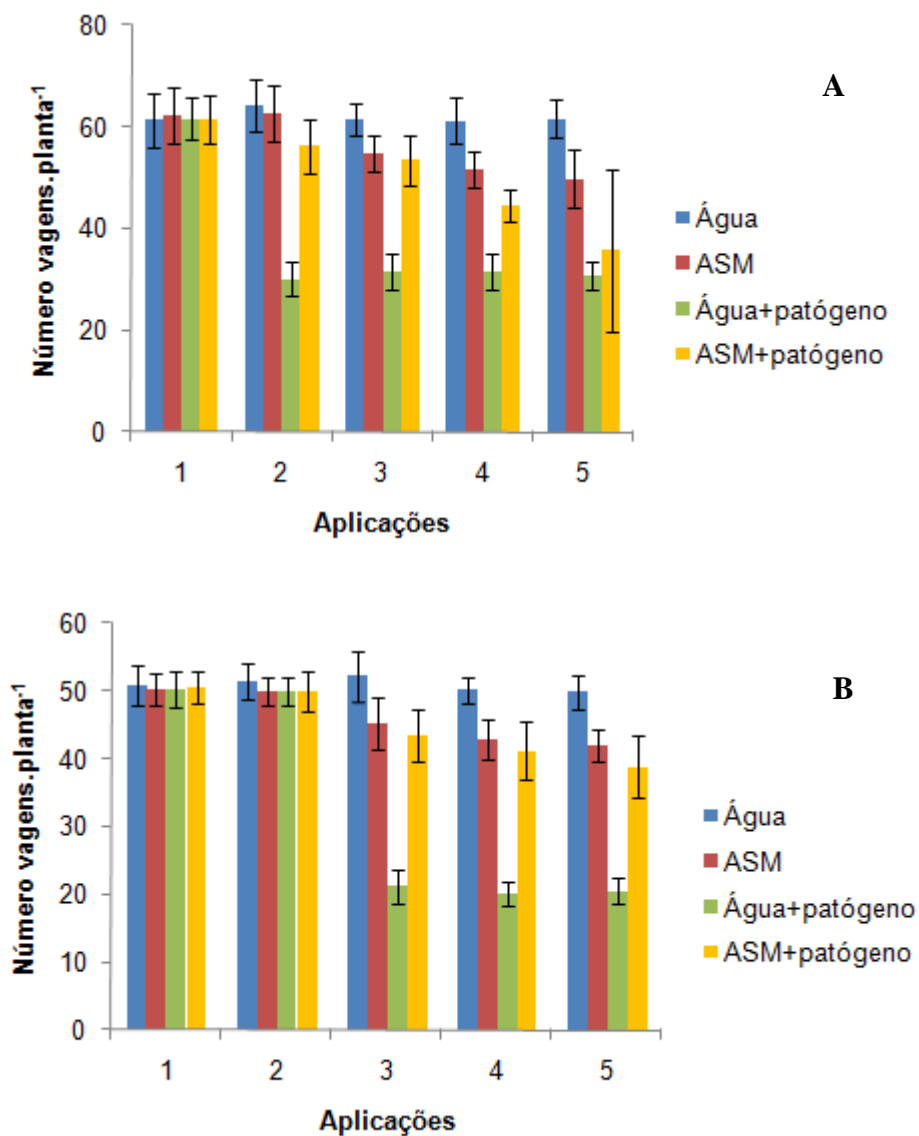


Figura 15 – Número de vagens por plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados uma, duas, três, quatro e cinco vezes. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - Inoculação realizada ao 7^o dae; B - Inoculação realizada ao 21^o dae. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

4.2.3.3 Número de grãos por vagem

Todos os experimentos e suas repetições, tanto em casa de vegetação quanto em campo, não apresentaram diferença significativa em nenhum dos parâmetros avaliados (tratamentos, épocas de coleta e interação tratamentos e épocas) (Figuras 16 e 17).

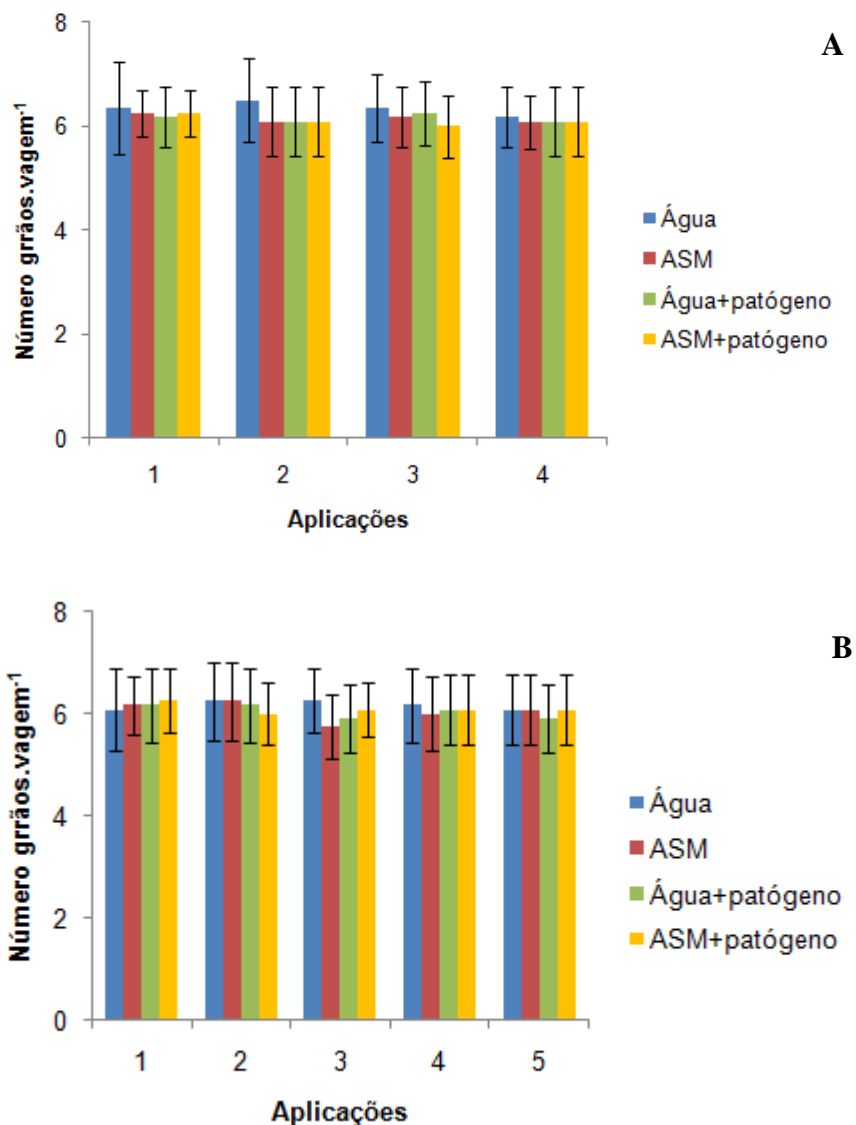


Figura 16 – Número de grãos por vagem de plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados uma, duas, três, quatro ou cinco vezes. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - Inoculação realizada ao 7º dae; B - Inoculação realizada ao 21º dae. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

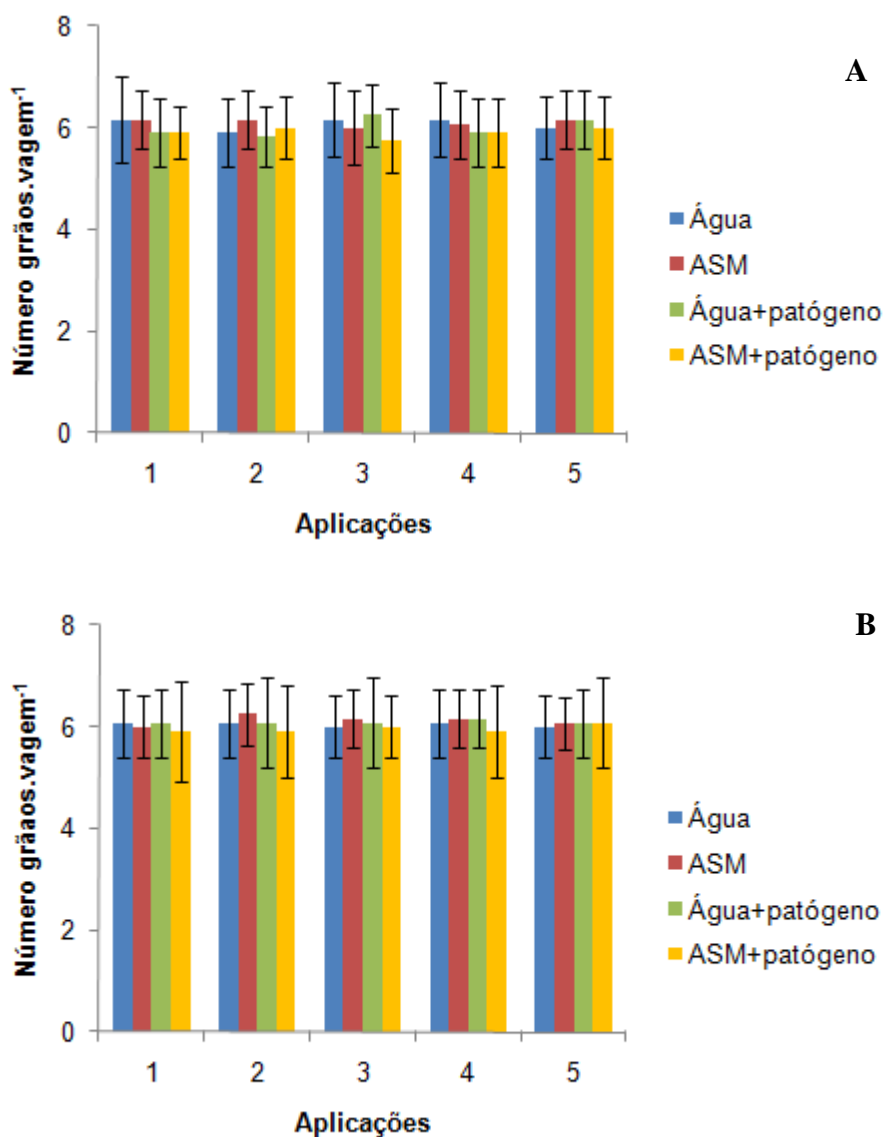


Figura 17 – Número de grãos por vagem de plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados uma, duas, três, quatro e cinco vezes. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - Inoculação realizada ao 7^o dae; B - Inoculação realizada ao 21^o dae. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

4.2.3.4 Peso 100 grãos

Quando foi estudado o peso de 100 grãos, observou-se em casa de vegetação e em campo, para todos os experimentos e suas repetições diferença significativa entre tratamentos, épocas de coleta e na interação tratamentos e épocas (Figuras 18 e 19; ANEXOS AG, AH, AI e AJ).

Aqui também houve diminuição do peso em plantas induzidas comparadas com plantas do tratamento controle água, porém quando as plantas induzidas eram desafiadas com o patógeno houve aumento do peso em relação às plantas do tratamento água+patógeno.

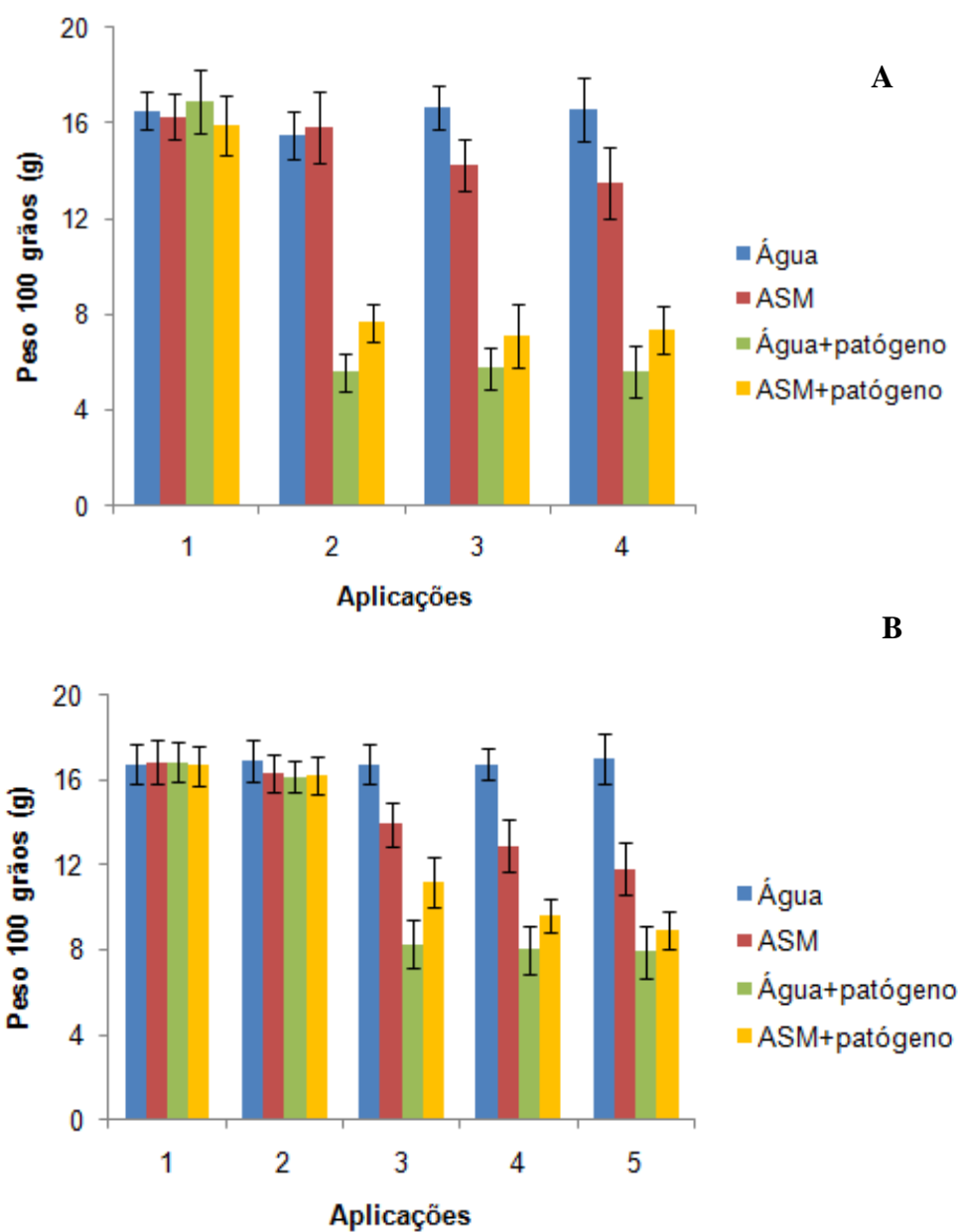


Figura 18 – Peso de 100 grãos de plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados uma, duas, três, quatro ou cinco vezes. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - Inoculação realizada ao 7^o dae; B - Inoculação realizada ao 21^o dae. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

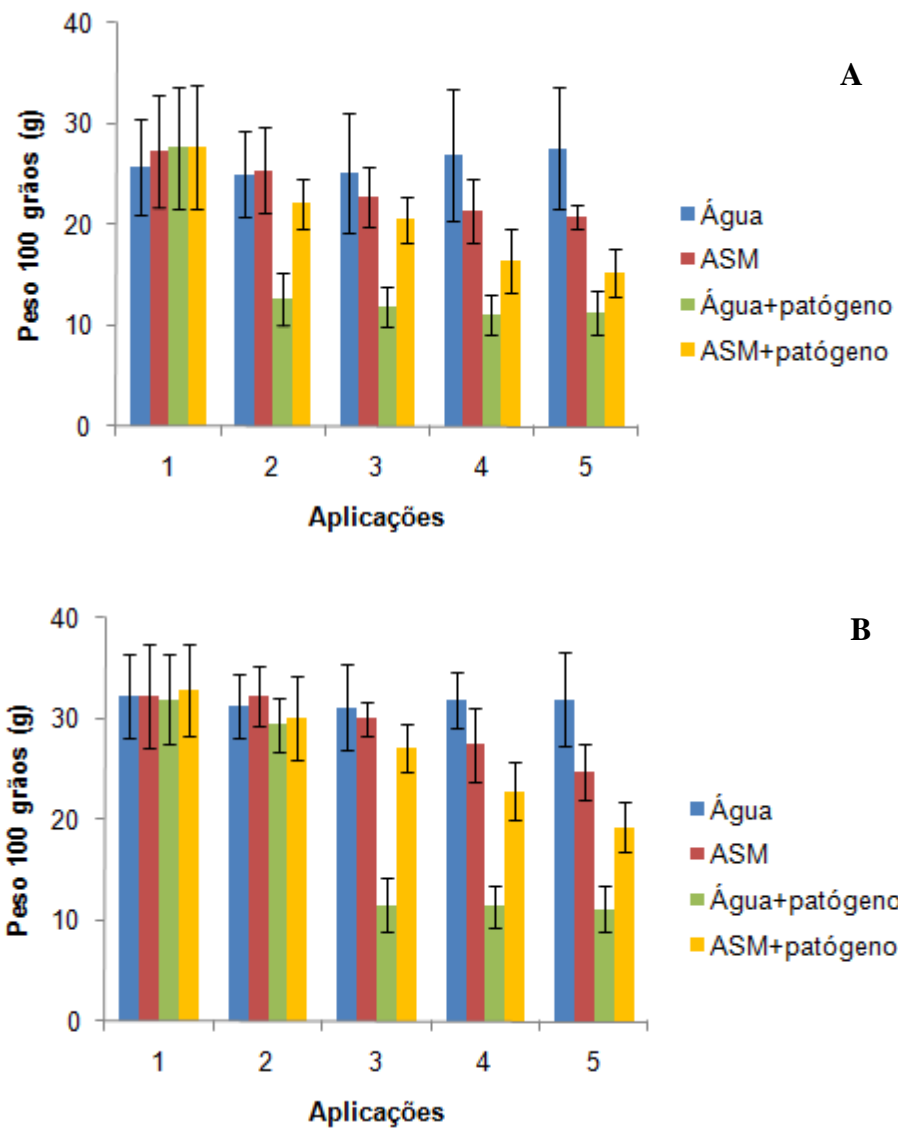


Figura 19 – Peso de 100 grãos de plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados uma, duas, três, quatro e cinco vezes. Barras indicam a média \pm erro padrão. A - Inoculação realizada ao 7^o dae; B - Inoculação realizada ao 21^o dae. Patógeno = *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. ASM = acibenzolar-S-metil

5 DISCUSSÃO

5.1 Cultivo do feijoeiro com aplicação dos tratamentos para análises bioquímicas

5.1.1 Quantificação de clorofilas *a*, *b* e total

De modo geral, as plantas de feijoeiro pré-tratadas com o indutor ASM e inoculadas com *X. axonopodis* pv. *phaseoli* apresentaram maior quantidade de clorofila do que plantas apenas inoculadas com a bactéria, o que pode ser correlacionado com o maior número e tamanho das lesões observados nestas plantas.

A redução do teor de clorofila das plantas pode estar algumas vezes relacionada à agressividade do isolado, uma vez que com o surgimento de sintomas como lesões e necrose foliar, a atividade fotossintética é reduzida, devido à destruição de moléculas de clorofila nos locais com sintomas (LEITE; PASCHOLATI, 1995). Todavia, a concentração de clorofila de plantas de feijão caupi foi significativamente menor em folhas de plantas infectadas pelo CSMV do que em folhas de plantas sadias (BARROS; 2007). Esses dados sugeriram que a redução na produtividade das plantas inoculadas pode ser consequência do dano ocasionado pelo vírus na área foliar (JADÃO et al., 2004).

As plantas em casa de vegetação tratadas com ASM apresentaram-se visualmente menores e com coloração verde mais vivo do que plantas representadas pelo tratamento controle água, porém a diferença do teor das clorofilas *a*, *b* e total entre estes tratamentos não foi significativa em nenhum dos experimentos conduzidos, bem como em suas repetições. Entretanto, o teor de clorofila *a* no experimento 2 foi maior nas plantas do tratamento ASM do que nas plantas tratadas apenas com água.

Entretanto, plantas de tomateiro tratadas com o indutor de resistência ASM diferiram da testemunha em experimento realizado por Silva (2006), onde segundo o autor, plantas tratadas com ASM retêm mais água nas folhas do que plantas não tratadas e isso pode estar relacionado com o menor teor de clorofila nos tratamentos com o indutor, pois pode ter ocorrido diluição da clorofila em maior volume de água.

Resultado contrário obteve Khodary (2004) induzindo plantas de milho com AS

(100mM), o qual observou aumento da atividade da Rubisco e da atividade fotossintética, bem como aumentos no conteúdo das clorofilas *a*, *b* e carotenóides do que nas plantas controle.

5.1.2 Quantificação de fenóis totais

Os tratamentos que apresentaram maiores quantidades de fenóis totais foram os tratamentos inoculados com a bactéria (água+patógeno e ASM+patógeno).

De maneira geral, o teor de compostos fenólicos aumentou no tempo, porém, na medida em que se aproximava da última coleta, o teor decresceu. Isso ocorre em função dos estádios fenológicos do feijoeiro, sendo que em média entre 20 e 30 dias após a emergência das plântulas ocorre o período de floração (HAAG et al., 1967). Porém, o modo de ação das substâncias fenólicas na floração não é claro, sendo sugerido que elas interfeririam em processos metabólicos, como a fosforilação oxidativa. Desta forma, seu efeito na floração seria o de regulador energético (BERNIER; KINET; SACHS, 1981). Outra hipótese é a de ação conjunta com substâncias de crescimento, uma vez que o metabolismo do ácido indol-3-acético (AIA) pode ser alterado pela presença de substâncias fenólicas (GRAMBOW; LANGENBECH-SCHWICH, 1983). Lagôa e Pereira (1991) sugerem que a ação das substâncias fenólicas na iniciação floral de *P. vulgaris* seja integrada com as auxinas, levantando-se a hipótese destas substâncias serem responsáveis pela indução floral nesta espécie.

Taiz e Zeiger (2004) relataram que no florescimento, portanto, fim do período vegetativo e início da fase reprodutiva, ocorre maior formação de paredes secundárias, e com isso, maior lignificação. Sendo assim, o teor dos compostos fenólicos reduziria, porém o processo de síntese de fenóis pode ser implementado pelo aumento na atividade da enzima FAL (KUHN, 2007).

Além disso, existe uma distinção entre cultivares e estádios de desenvolvimento das plantas no acúmulo de compostos fenólicos e a resposta aos ferimentos (MACHEIX; FLURIET; QUESSADA, 1986). A ativação do metabolismo de fenóis após uma infecção, segundo Macheix; Fluriet e Quessada (1986) pode levar mais ou menos tempo, dependendo da formação de moléculas mais simples e de sua integração com

estruturas químicas mais complexas, semelhantes a ligninas. Este fenômeno, de acordo com Bell (1981), pode ser interpretado como parte da indução de resistência de uma planta.

Essa característica pôde ser observada por Campos (2009), onde houve maior acúmulo de compostos fenólicos em feijoeiro (cultivar AB 136) tratado com ácido salicílico e desafiado com o patótipo virulento de *Colletotrichum lindemuthianum*, mesmo esta cultivar não tendo apresentado nenhuma lesão. Porém, o acúmulo de compostos fenólicos variou de acordo com a cultivar (CAMPOS, 2009).

Kuhn (2007) observou que o teor de compostos fenólicos não foi afetado quando plantas de feijão eram tratadas com o indutor biótico *Bacillus cereus*, enquanto que com ASM houve redução significativa após a segunda aplicação nas plantas tratadas com 3 e 4 aplicações.

5.1.3 Quantificação de proteínas totais

No presente trabalho, pôde ser observado que as plantas tratadas com água+patógeno apresentaram menores teores de proteínas totais, quando comparada com as plantas tratadas com ASM e ASM+patógeno. Resultado semelhante foi encontrado por Kuhn (2007) verificou redução no teor de proteínas em plantas de feijão quando tratadas com *B. cereus*, tendência contrária ao tratamento com ASM, demonstrando a especificidade na resposta fisiológica deste hospedeiro ao tratamento eliciador.

O aumento de proteínas em plantas induzidas com ASM pode envolver a síntese de proteínas-RP, além de outras proteínas relacionadas à defesa vegetal. Porém, o aumento dessas proteínas demanda substrato, que poderia ser o resultado da degradação de outras proteínas solúveis existentes no protoplasma, como a Rubisco, por exemplo (KUHNS, 2007). Além disso, essas proteínas podem desempenhar papel relevante na restrição do desenvolvimento de fitopatógenos nas plantas previamente tratadas com indutores de resistência, pois existem evidências tanto de sua ação antimicrobiana direta como indireta sobre fitopatógenos (MADAMANCHI; KUĆ, 1991).

Guzzo (2004) observou que plantas de cafeeiro, tratadas com ASM na concentração de 200 µg i.a./mL, aumentaram local e sistemicamente a atividade das

enzimas β -1,3-glucanases e quitinases. Resultado semelhante também foi observado em várias culturas. Em folhas, caules e tubérculos de batata, Bokshi; Morris; Deverall (2003) detectaram aumento da β -1,3-glucanase após tratamento foliar das plantas com 100 mg de i.a./L de ASM, em casa de vegetação e em campo.

Cavalcanti et al. (2006) observaram que ASM, Ecolife®, micélio de *Crinipellis pernicioso* (MCp) e preparado de ramos de lobeira (*Solanum lycocarpum*), arbusto hospedeiro silvestre de *C. pernicioso*, infectado e necrosado por esse fungo (VLA), quando pulverizados em plantas de tomateiro, quatro dias antes da inoculação de *X. vesicatoria*, promoveram aumento nas atividades de proteínas-RP (quitinases e β -1,3-glucanases), principalmente a partir das primeiras horas após a aplicação do produto.

O fenômeno da indução de resistência e acúmulo de várias proteínas extracelulares identificadas como proteínas-RP das famílias PR-1, PR-2 (β -1,3-glucanases), PR-3 (quitinases) e PR-5 (taumatinas) foram verificados em plantas de roseiras tratadas com ASM (SUO; LEUNG, 2002). Porém, embora essas proteínas tenham sido também induzidas em plantas após a infecção com *Diplocarpon rosea*, o acúmulo ocorreu mais rapidamente e de forma mais intensa nos tecidos foliares de plantas inoculadas com o patógeno, previamente tratadas com ASM. Suo e Leung (2002) sugeriram que essas proteínas-RP podem desempenhar um papel importante na restrição do desenvolvimento dos sintomas da doença causados por *D. rosae*.

5.1.4 Atividade da peroxidase

As peroxidases são hemoproteínas de oxidorreductase, específicas para aceptor de hidrogênio (ALFENAS et al, 1991 apud MAGALHÃES, 2002), e estão presentes em certas células animais, em microrganismos e em tecidos vegetais. Ocorrem em diversos componentes celulares, como núcleo, mitocôndrios, ribossomos, paredes celulares e membranas celulares (HOAGLAND, 1990). Além disso, as peroxidases participam da oxidação de compostos fenólicos, os quais se acumulam em resposta à infecção (FRY, 1986), podem produzir radicais livres, tóxicos para o patógeno, em explosões oxidativas (LAMB; DIXON, 1997), produzir moléculas sinalizadoras como o H₂O₂, que podem levar a expressão de genes relacionados a outros mecanismos de resistência (LAMB; DIXON, 1997), participam da biossíntese de lignina para reforçar a parede (ABELES;

BILES, 1991; IRITI; FAORO, 2003a), juntamente com a celulose e outros polissacarídeos, funcionando como uma barreira física à penetração do patógeno (CAVALCANTI et al., 2005).

Assumindo-se que a maior atividade da enzima peroxidase reflete uma condição de maior estresse (GASPAR et al., 1985), isto possivelmente ocorreu em todas as plantas do presente trabalho, com exceção das plantas do tratamento controle água, as quais não sofreram nenhum estresse artificial, mas sim àqueles vinculados ao ambiente e à fisiologia da cultura.

O mesmo ocorreu em experimentos realizados por Kuhn (2007), onde a atividade de peroxidase aumentou em plantas de feijão tratadas com ASM e *B. cereus*. O autor observou que quanto maior o número de aplicações dos indutores e na medida em que se aproximava o fim do ciclo da cultura, maior era a atividade da enzima. Porém, o indutor ASM promoveu aumento da atividade de forma mais acentuada e mais rápida do que o indutor biótico *B. cereus*.

Cools e Ishii (2002) demonstraram que quando plantas de pepino foram induzidas com ASM, as mesmas expressavam genes de peroxidase e de proteínas-RP, e que quando as plantas também eram desafiadas com o patógeno *Colletotrichum orbiculare*, havia aumento nas atividades de peroxidase e proteínas-RP em relação às plantas não tratadas e inoculadas.

5.1.5 Quantificação de carboidratos totais

As plantas tratadas com água e ASM, de maneira geral, mostraram uma tendência em aumentar a quantidade de carboidratos totais conforme o tempo avançava, porém próximo ao final do experimento esse teor diminuiu. As plantas tratadas com ASM apresentaram menores teores de carboidratos totais do que as plantas do tratamento controle. O mesmo ocorreu em relação às plantas inoculadas, onde as plantas do tratamento ASM+patógeno apresentaram depois da inoculação menores quantidades de carboidratos totais quando comparadas com plantas do tratamento água+patógeno. Sendo assim, as plantas do tratamento ASM+patógeno sofreram dois tipos de estresses, um quando da aplicação do ASM e outro na inoculação do patógeno.

A respiração de uma planta hospedeira infectada aumenta porque os tecidos doentes passam a utilizar suas reservas de carboidratos mais rapidamente do que os tecidos saudáveis utilizariam (STANGARLIN; LEITE, 2008). Isso ocorre devido à elevação nos níveis de atividade metabólica para suprir as demandas de energia (ATP) e de esqueletos de carbono dos processos biossintéticos, muitos deles diretamente ligados aos mecanismos de defesa da planta.

Kuhn (2007), avaliando a quantidade de açúcares solúveis, observou que houve uma pequena tendência de aumento do teor em plantas de feijão tratadas com o indutor ASM, o que poderia, evidenciar uma inversão no processo de armazenamento, visto que, para a planta manter um nível respiratório mais elevado há necessidade da disponibilidade de açúcares simples como glicose, frutose e sacarose.

5.2 Cultivo do feijoeiro para análises da severidade e dos parâmetros da produção

5.2.1 Avaliação da severidade do crestamento bacteriano comum

O crestamento bacteriano comum foi reduzido por meio da indução de resistência com o indutor químico ASM, visto que plantas não tratadas com ASM apresentaram maior severidade da doença. Houve redução da doença em torno de 80%, nas plantas tratadas. O efeito da aplicação do ASM na redução da severidade dos sintomas do crestamento bacteriano comum também foi verificado por Jesus Júnior et al. (1999).

A eficiência do uso do indutor de resistência ASM também tem sido descrita por vários autores para inúmeros patossistemas, sendo verificadas eficiências distintas conforme o patossistema estudado. Da mesma maneira que no presente trabalho e também estudando feijoeiro, houve indução de resistência em plantas pré-tratadas e inoculadas com os patógenos *Colletotrichum lindemuthianum*, *Bean Golden Mosaic Virus* (BGMV) e *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, pois houve redução da severidades das respectivas doenças (SYNGENTA [20__]). Kuhn (2007), estudando a indução de resistência pelo uso de ASM em vários processos metabólicos em feijoeiro, também verificou que houve redução na severidade do crestamento bacteriano comum.

Também foi verificada redução na severidade de outras doenças, por exemplo, Birigimana e Höfte (2002) observaram diminuição da severidade da antracnose em 47%. Os sintomas da ferrugem causada por *Uromyces appendiculatus* foram reduzidos em até 100 % (IRITI; FAORO, 2003a). Entretanto, resultados contrários foram obtidos por Soares e Maringoni (2002) ao estudarem a aplicação de ASM em tratamento foliar ou de sementes contra *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, agente causal da murcha de curtobacterium, onde não foi observada proteção. Fato semelhante foi observado no trabalho de Soares, Maringoni e Lima (2004) estudando diferentes cultivares de feijoeiro inoculadas com *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*. Para o patossistema feijoeiro x *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* a aplicação do ASM também não desencadeou o processo de indução de resistência (SIEGRIST et al., 1997).

O uso de ASM também foi avaliado em outras culturas, como por exemplo em plântulas de tomate, as quais pré-tratadas com ASM mostraram redução na severidade do cancro bacteriano causado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (BAYSAL; SOYLU; SOYLU, 2003). Também houve indução de resistência para requeima (*Phytophthora infestans*), pinta preta (*Alternaria solani*) e várias bacterioses (SYNGENTA [20__]). Silva et al. (2003) verificaram que houve proteção contra *Xanthomonas vesicatoria*, *Oidium lycopersici* e *Septoria lycopersici* de 77,78, 44,62 e 8,02% comparados com o controle, respectivamente. Entretanto, não houve proteção em algodão contra *Ramularia aréola* (mancha ramularia) e *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (mancha angular) (SYNGENTA [20__]).

Em frutos de melão houve redução da severidade da mancha aquosa (*Acidovorax avenae* subsp. *citulli*) (SYNGENTA [20__]), bem como redução da incidência em pós-colheita de *Phytophthora palmivora* (Qiu et al., 2004). A severidade de lesões de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de mamão em pós-colheita foi reduzida significativamente pelo tratamento de ASM+azoxistrobina, todavia a aplicação apenas de ASM nas doses de 50, 100 e 200 mg.L⁻¹ reduziu a incidência da antracnose em pós-colheita, porém não diferiu significativamente da testemunha, a qual foi tratada com fungicidas registrados para a cultura (CIA, 2005).

Em cafeeiro cv. Mundo Novo também houve indução de resistência contra

Hemileia vastatrix em plantas pré-tratadas com ASM, as quais apresentaram resistência local e sistêmica (GUZZO, 2004). A proteção de plantas contra patógenos também ocorreu em roseiras contra *Diplocarpon rosae* (SUO; LEUNG, 2002).

5.2.2 Potencial hídrico

O potencial hídrico das plantas tratadas apenas com água foi o menos negativo, enquanto que as plantas tratadas com ASM e posteriormente desafiadas com *X. axonopodis* pv. *phaseoli* apresentaram os valores mais negativos, mostrando que estas plantas sofriam maior estresse hídrico do que aquelas, tanto em casa de vegetação quanto em campo nos dois experimentos.

Resultado semelhante foi observado por Macagnan et al. (2006), os quais verificaram que plantas de laranja (*Citrus sinensis* var. Valência) enxertadas sobre limão cravo apresentando diferentes níveis de severidade da “morte súbita dos citros” apresentavam potencial hídrico diferente de plantas assintomáticas. Os autores observaram que plantas mais severamente atacadas pela doença, especialmente aquelas apresentando nível 3 de severidade, apresentavam um déficit hídrico maior em comparação com as plantas assintomáticas. A diferença de potencial hídrico tornou-se mais evidente nos horários de maior demanda hídrica. Essas observações suportam a hipótese de que, em plantas acometidas pela referida doença, o porta-enxerto não consegue repor a perda de água que ocorre nos tecidos da copa (MACAGNAN et al., 2006).

5.2.3 Parâmetros da produção

Pode-se observar que as plantas do tratamento ASM+patógeno produziram mais massa seca do que as plantas do tratamento água+patógeno, principalmente quando a inoculação foi tardia (21^o dae).

A massa seca das plantas reflete a quantidade de carbono incorporado ao sistema, e conseqüentemente mostra o crescimento das plantas (KUHN, 2007). Se levarmos em consideração que a quantidade de clorofila também foi afetada em função dos tratamentos, podemos considerar que a fotossíntese foi afetada, produzindo menos

metabólitos para a planta, conseqüentemente, menos incorporação de carbono ocorreu refletindo em redução no crescimento.

Outro fator que pode colaborar para a redução no crescimento das plantas é a quantidade de nitrogênio disponível para a planta, visto que este macronutriente participa de todos os processos bioquímicos das plantas como constituinte de enzimas e proteínas (MALAVOLTA, 2006). Sendo assim, um adequado fornecimento de nitrogênio é essencial para o pleno funcionamento dos processos da planta sem interferir no crescimento (MALAVOLTA, 2006), porém devemos lembrar a lei de Liebig ou do mínimo onde todos os fatores necessários à sobrevivência da planta devem estar presentes, de nada adiantando haver excesso de todos se um estiver em falta, incluindo nutrientes, água, temperatura, luminosidade, entre outros. Entretanto, se a ativação de defesa demanda síntese de novas proteínas e/ou enzimas específicas, de alguma forma a planta precisa de mais nitrogênio, assim, se o que está vindo da absorção do solo não for suficiente, a planta deixa de investir em crescimento para investir em defesa (SUZUKI et al., 2006).

No presente trabalho também se observou uma redução da massa seca em função da aplicação do ASM nas plantas que não foram desafiadas. O mesmo foi observado por Kuhn (2007), onde a aplicação de ASM em plantas de feijão causou redução na massa seca, inferindo no crescimento das plantas, acentuando-se, na medida em que se aumentou o número de aplicações. A redução no crescimento também foi observada por Godard et al. (1999), ao induzirem resistência em plantas de couve-flor pré-tratadas com ASM em diferentes concentrações uma única vez e desafiadas com *Peronospora* sp. Os autores relataram que o crescimento foi reduzido de forma dependente da dose utilizada, no entanto, todas as doses reduziram o crescimento das plantas.

Provavelmente isso tenha ocorrido pelo fato dessas plantas pré-tratadas investirem em defesa mesmo na ausência do patógeno, o que representa um custo, que ocorre quando o produto de interesse envolve os tecidos de reserva da planta, a inversão ou mesmo o fato da planta priorizar outros processos e não conduzir os assimilados disponíveis para reserva. Dessa maneira, há o que chamamos de custo adaptativo, com conseqüente redução na produtividade (GAYLER et al., 2004).

Também se pôde observar, de maneira geral, que na medida em que se aumentou o número de aplicações de ASM, houve uma pequena tendência para a redução do número de vagens por planta. Além disso, plantas do tratamento ASM+patógeno produziram o mesmo número de vagens que plantas tratadas com ASM para a maioria das aplicações, sendo esse resultado semelhante ao observado por Kuhn (2007).

Em relação ao número de grãos por vagem, Kuhn (2007) observou redução na produtividade de plantas de feijoeiro tratadas com ASM, porém o autor atribuiu esse fato principalmente pela redução do número de grãos, pois naquele trabalho não houve alteração no tamanho dos grãos. Porém, no presente trabalho, a redução na produtividade se deu devido à redução do número de vagens, bem como no tamanho dos grãos.

Para peso de 100 grãos, observou-se a presença de sementes chochas e mal formadas nas plantas que receberam a inoculação do patógeno (dados não mostrados). O mesmo já havia sido observado por Saetler (2005), o qual menciona que sementes chochas e mal formadas são obtidas com facilidade em plantas infectadas.

Pôde-se observar que a partir da terceira aplicação de ASM houve redução no peso dos grãos e que plantas do tratamento ASM+patógeno apresentam maior peso, de maneira geral, do que plantas tratadas com água+patógeno. Em várias culturas houve aumento da produtividade em função da aplicação de ASM em plantas de algodão, feijão, melão, tomate e batata (SYNGENTA [20__]).

Kuhn (2007) verificou que a produtividade do feijoeiro com resistência induzida por ASM foi reduzida na medida em que se aumentava o número de aplicações. O autor observou que esta redução deveu-se principalmente pela redução do número de grãos por vagem, embora não apresentasse diferença estatística significativa, o número de vagens por planta apresentou tendência de redução, contudo não afetando o tamanho do grão, o que não ocorreu no presente trabalho, onde houve redução do número de vagens por planta, da massa seca das plantas e do peso de 100 grãos, não havendo redução no número de grãos por vagens. Entretanto, redução semelhante foi observada por Iriti e Faoro (2003b) onde houve uma sensível diferença na produção devido ao menor número de vagens e menor peso seco dos grãos de plantas de feijão

tratadas com ASM, porém por não haver diferença estatística os autores consideraram que o indutor não apresentava evidências de custo associado. Porém, é preciso considerar que, Iriti e Faoro (2003b) efetuaram apenas uma aplicação do ASM, o que protegeu a planta por 14 dias.

Trabalhos conduzidos por Rios, Neves e Carvalho (1982) e Rios (1984) indicaram que em condições naturais, plantas de feijão caupi inoculadas com *Cerotoma* e com o vírus do mosaico severo até os 20 dias após a germinação apresentaram perdas de até 80% na produção de grãos, podendo estas perdas serem reduzidas a 40% quando a infecção acontece em plantas com 30 dias de cultivo. Na Costa Rica, também estudando feijão caupi e CSMV sob condições naturais de infecção em campo, Valverde, Moreno e Gamez (1982) observaram que houve perdas de 84,8%, 82,1% e 55,6% na produção de grãos, quando a infecção ocorreu, respectivamente, antes, durante e depois da floração. Em casa de vegetação os danos na produção podem reduzir a produtividade em até 81 % de plantas de feijão-de-corda inoculadas com CSMV dependendo da época de infecção (GONÇALVES; LIMA, 1982).

6 CONCLUSÕES

1. Plantas tratadas com o indutor ASM apresentam um custo, pois houve alterações em sua bioquímica e perdas nos parâmetros da produção;
2. Houve indução de resistência em plantas pré-tratadas com ASM e desafiadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, pois as mesmas obtiveram menor severidade da doença, sendo vantajoso o custo adaptativo quando na presença do patógeno.

REFERÊNCIAS

ABELES, F.B.; BILES, C.L. Characterization of peroxidases in lignifying peach fruit endocarp. **Plant Physiology**, Rockville, v. 85, p. 269-273, 1991.

ALFENAS, A.C.; PETERS, I.; BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1991.

AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.

ALVAREZ, M.E.; PENNELL, R.I.; MEIJER, P.-J.; ISHIKAWA, A.; DIXON, R.A.; LAMB, C. Reactive oxygen intermediates mediate a systemic signal network in the establishment of plant immunity. **Cell**, Cambridge, v. 92, p. 773-784, 1998.

ANFOKA, G. H. Benzo-(1,2,3)-thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester induces systemic resistance in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill vc. Vollendung) to Cucumber Mosaic Virus. **Crop Protection**, Guildford, v. 19, p. 401-405, 2000.

ANWAR, M.N.; MAJUMDER, S.K.; SHETTY, H.S. Changes in phenolic acids in sorghum and maize leaves infected with *Peronoclespora sorghi*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 48, p. 21-26, 1995.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Lancaster, v.24, p. 1-15, 1949.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 85, p. 235-241, 1992.

BACH, E.E.; BARROS, B.C.; KIMATI, H. Induced resistance against *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* in wheat leaves by xanthan gum and heat-inactivated conidial suspension. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, p. 411-418, 2003.

BARROS, M.C.S. **Efeito do Cowpea severe mosaic virus na taxa fotossintética e na produtividade de plantas de caupi *Vigna unguiculata* L. (Walp) e avaliação da eficiência do acibenzolar-S-metil na indução de resistência ao mosaic severo**. 2007. 43 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2007.

BASSANEZI, R.B.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Análise das trocas gasosas em feijoeiro com ferrugem, mancha angular e antracnose. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 643-650, 2000.

- BASSANEZI, R.B.; MARTINS, M.C.; GODOY, C.V.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Efeito da antracnose na eficiência fotossintética do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 520-524, 1997.
- BASTIAANS, L. Ratio between virtual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of Rice due to leaf blast. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 81, p. 611-615, 1991.
- BASTOS FILHO, G.S. Safra de inverno: um sinal para o governo. **Agroanalysis**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 8, p. 39, 1995.
- 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**, Blackwell, v. 52, n. 6, p.747-753, 2003.
- BÉCOT, S.; PAJOT, E.; LE CORRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Fitogard® (K₂HPO₃) induces localized resistance in cauliflower to downy of crucifers. **Crop Protection**, Guildford, v. 19, p. 417-425, 2000.
- BELL, A.A. Biochemical mechanisms of disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology**, Texas, v. 32, p. 21-81, 1981.
- BELTRAME, A.B. **Efeito de cianobactérias e algas eucarióticas na resistência de plantas de fumo contra o Tobacco mosaic virus (TMV)**. 2005. 88 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R.R. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. **Plant Physiology**, Rockville, v. 118, p. 1203-1212, 1998.
- BENHAMOU, N.; THERIAULT, G. Treatment with chitosan resistance of tomato plants to the crown and root rot pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 41, p. 33-52, 1992.
- BENHAMOU, N.; LAFONTAINE, P.J.; NICOLE, M. Induction of systemic resistance of *Fusarium* crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 84, p. 1432-1444, 1994.
- BERNIER, G.; KINET, J.M.; SACHS, R.M. **The physiology of flowering II**. Boca Raton: CRC Press, 1981. p.188.
- BESSER, K.; JAROSH, B.; LANGEN, G.; KOGEL, K.H. Analysis of gene induced in barley after chemical activation reveals distinct disease resistance pathways. **Molecular Plant Pathology**, London, v. 1, p. 277-286, 2000.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 333-349.

BIGIRIMANA, J.; HÖFTE, M. Induction of systemic resistance to *Colletotrichum lindemuthianum* in bean by a benzothiadiazole derivative and rhizobacteria. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 30, p. 154-168, 2002.

BOKSHI, A.I.; MORRIS, S.C.; DEVERALL, B.J. Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on β -1,3-glucanase activity and disease resistance in potato. **Plant Pathology**, Blackwell, v. 52, n. 1, p. 22-27, 2003.

BOL, J.F.; LINTHORST, H.J.M.; CORNELISSEN, B.J.C. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 28, p. 113-138, 1990.

BONALDO, S.M. **Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na síntese de fitoalexinas em sorgo, na germinação e formação de apressórios por fungos fitopatogênicos e na proteção de pepino a *Colletotrichum lagenarium* e sorgo a *Colletotrichum sublineolum***. 2005. 166 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L. S.; 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: FEALQ, 2005. p. 11-28.

BORÉM, A.; CARNEIRO, J.E.S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J.; BORÉM, A. **Feijão: aspectos gerais e cultura no Estado de Minas**. Viçosa: UFV, 1998. p. 13-17.

BOSTOCK, R.M. Signal conflicts and synergies in induced resistance to multiple attackers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, p. 99-109, 1999.

_____. Signal crosstalk and induced resistance: Straddling the line between cost and benefit. **Annual Review of Phytopathology**. Palo Alto, v. 42, p. 545-580. 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**, Dordrecht, v. 107, p. 103-111, 2001.

BOUDJEKO, T.; OMOKOLO, N.A., DRIOUICH, A.; BALANGÉ, A.P. Peroxidase and pectin methylesterase activities in cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium* L. Schott) roots upon *Pythium myriotylum* inoculation. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 153, p. 409-416, 2005.

BOWDEN, R.L.; ROUSE, D.I.; SHARKEY, T.D. Mechanism of photosynthesis decrease by *Verticillium dahliae* in potato. **Plant Physiology**, Rockville, v. 94, p. 1048-1055, 1990.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Maryland Heights, v. 72, p. 248-54. 1976.

BRANDALIZZE, V. Mercado de feijão. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. (Ed.). **Feijão: estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba: ESALQ, LPV, 2007. cap. 1, p. 1-8.

BUSAM, G.; KASSEMAYER, H.H.; MATERN, U. Differential expression of chitinases in *Vitis vinifera* L. responding to systemic acquired resistance activators or fungal challenge. **Plant Physiology**, Rockville, v. 115, p. 1029-1038, 1997.

BUZI, A.; CHILOSI, G.; DE SILLO, D.; MAGRO, P. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-S-methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, n. 1, p. 34-42, 2004.

CAMPA, A. Biological roles of plant peroxidases: known and potential function. In: EVERSE, J.; EVERSE, K.E.; GRISHAM, M.B. **Peroxidases in chemistry and biology**. Boca Raton: CRC Press, 1991. v. 2, p. 25-50.

CAMPOS, A.D. **Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose**. Disponível em: < <http://br.monografias.com/trabalhos901/resistencia-feijao-antracnose/resistencia-feijao-antracnose.shtml> > Acesso em 11 out. 2009.

CAMPOS, A.D.; FERREIRA, A.G.; HAMPE, M.M.V.; ANTUNES, I.F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E.P.; SILVA, J.B.; OSÓRIO, V.A. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 15, p. 129-134, 2003.

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**, Saint Paul, v. 87, n.1, p. 39-44, 2003.

CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A.; PERES, L.E.P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005. 640 p.

CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V.; PEREIRA, R.B.; COSTA, J.C.B.; CARVALHO, C.P.S. Atividades de quitinases e β -1,3-glucanase após eliciação das defesas do tomateiro contra a mancha-bacteriana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 12, p. 1721-1730, 2006.

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.; ROMERO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 81-124.

CHEN, C.T.; SU, Y.-S.; KAO, C.H. Changes in soluble sugar content and respiration rate in methyl jasmonate-treat rice leaves. **Botanical Bulletin Academic Sinica**, Taipei, v. 45, p. 197-202, 2004.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defense response induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* sp. **Phytopathology**, Lancaster, v. 84, p. 236-242, 1994.

CHESTER, K.S. The problem of acquired physiological immunity in plants. **Quarterly Review of Biology**, Chicago, v. 8, p. 275-324, 1933.

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

CIPOLLINI, D.F. Does competition magnify the fitness costs of induced responses in *Arabidopsis thaliana*? A manipulative approach. **Oecologia**, Berlin, v. 131, p. 515-520, 2002.

COHEN, Y.; GISI, U.; MÖSINGER, E. Systemic resistance of potato plants against *Phytophthora infestans* induced by unsaturated fatty acid. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 38, p. 255-263, 1991.

COHEN, Y.; REUVENI, M.; BAIDER, A. Local and systemic activity of BABA (DL-3-aminobutyric acid) against *Plasmopara viticola* in grapevines. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 105, n. 4, p. 351-361, 1999.

COLEY, P.D.; BRYANT, J.P.; CHAPIN, F.S. Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science**, Washington, v. 230, p. 895-899. 1985.

CONN, E.E.; STUMPF, P.K. **Introdução à bioquímica**. São Paulo: Edgard Blücher, 1990. 525 p.

CONRATH, U.; PIETERSE, C.M.J.; MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 7, n. 5, p. 210-216, 2002.

COOLS, H.J.; ISHII, H. Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes a phenylalanine ammonia lyase gene (PAL1) for enhanced expression upon attack with a pathogenic fungus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 61, p. 273-282, 2002.

COSTA, H.S.; RIOS-RUIZ, W.; LAMBAIS, M.R. Ácido silicílico inibe a formação de micorrizas arbusculares e modifica a expressão de quitinases e β -1,3 glucanases em raízes de feijoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 57, p. 1-14, 2000.

CRUICKSHANK, I.A.M.; MANDRYK, A. The effect of stem infestations of tobacco with *Peronospora tabacina* Adam on foliage reaction to blue mold. **Journal of Australian Agricultural Science**, Sidney, v. 26, p. 369-372, 1960.

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**, London, v. 49, n. 5, p. 307-319, 1996.

DEAN, R.; KUĆ, J. Induced systemic protection in cucumber: the source of the "signal". **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 28, p. 227-233, 1986.

DÍAZ, C.G.; BASSANEZI, R.B.; GODOY, C.V.; LOPES, D.B.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação do efeito do cretamento bacteriano comum na eficiência fotossintética e na produção do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 71-76, 2001.

DI PIERO, R.M. **Potencial dos cogumelos *Lentinula edodes* (shiitake) e *Agaricus blazei* (cogumelo-do-sol) no controle de doenças em plantas de pepino, maracujá e tomate, e a purificação parcial de compostos biologicamente ativos**. 2003. 171 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

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**, Berlin, v. 119, p. 232-239, 1987.

DUBERY, I.A.; SLATER, V. Induced defence responses in cotton leaf disks by elicitors from *Verticillium dahliae*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 44, p. 1429-1434, 1997.

DUBOIS, M.; HAMINTON, K.; REBERS, P.; SMITH, C. Colorimetric methods for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 167, p. 350-356, 1956.

EGEA, C.; AHMED, A.S.; CANDELA, M; CANDELA, M.E. Elicitation of peroxidase activity and lignin biosynthesis in pepper suspension cells by *Phytophthora capsici*. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 158, n. 2, p. 151-158, 2001.

EMBRAPA. **Doenças bacterianas: cretamento bacteriano comum**. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/feijao/pragasedoencas/cretamento.htm>>. Acesso em: 24 jul. 2009.

ETIENNE, P.; PETITOT, A.-S.; HOUOT, V.; BLEIN, J.-P.; SUTY, L. Induction of *tc1 7*, a gene encoding a β -subunit of proteasome, in tobacco plants treated with elicitors salicylic acid or hydrogen peroxide. **FEBS Letters**, Heidelberg, v. 466, n. 2/3, p. 213-218, 2000.

FARRAR, F.J. Beyond photosynthesis: the translocation and respiration of disease, leaves. In: AYRES, P.G. (Ed.). **Pest and pathogens: plant responses to foliar attack**. Lancaster: Bios Scientific, 1992. p. 107-128.

FERNANDEZ, F.; GEPTS, P.; LOPES, M. **Etapas de desarrollo de la planta de frijol comum**. Cali: Centro Nacional de Agricultura Tropical, 1982. 26 p.

FIELDER, M.A.; GERHARDT, K.E. Flax guaiacol peroxidases can be used to illustrate the possibility of misinterpreting the effects of stress on the activity of developmentally regulated enzymes. **Plant Science**, Clare, v. 132, p. 89-99, 1998.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Feijão. In: _____. **AGRIANUAL 2006: anuário de agricultura brasileira**. São Paulo, 2006. p. 301-309.

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

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**, Oxford, v. 10, p. 61-70, 1996.

FRITIG, B.; HEITZ, T.; LEGRAND, M. Antimicrobial proteins in induced plant defense. **Current Opinion in Immunology**, London, v. 10, p. 16-22, 1998.

FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell wall of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 37, p. 165-186, 1986.

GASPAR, T.; PENEL, C.; CASTILHO, J.F.; GREPPIN, H. A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. **Physiologia Plantarum**, Blackwell, v. 64, p. 418-423, 1985.

GASPAR, T.H.; PENEL, C.L.; THORPE, T.; GREPPIN, H. **Peroxidases: a survey of their biochemical and physiological roles in higher plants**. Genève: Université de Genève, 1982. 324 p.

GAYLER, S.; LESER, C.; PRIESACK, E.; TREUTTER, D. Modelling the effect of environmental factors on the "trade off" between growth and defensive compounds in young apple trees. **Trees**, Berlin, v. 8, p. 363-371, 2004.

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**, Guildford, v. 18, p. 397-405, 1999.

GOLDBERG, R.; IMBEERTY, A.; LIBERMAN, M.; PRAT, R. Relationship between peroxidase activities and cell wall plasticity. In: GREEPIN, H.; PENEL, C.; GASPER JR, T. (Ed.). **Molecular and physiological aspect of plant peroxidases**. Geneva: University of Geneva, 1986. p. 208-220.

GOMES, M.M.A.; LAGOA, A.M.M.A.; MEDINA, C.L.; MACHADO, E.C.; MACHADO, M.A. Interactions between leaf water potential, stomatal conductance and abscisic acid content of orange trees submitted to drought stress. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 16, n. 3. p. 155-161, 2004.

GONÇALVES, M.F.B.; LIMA, J.A.A. Efeitos do "Cowpea severe mosaic vírus" sobre a produtividade do feijão-de-corda cv. pitiúba. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 7, p. 549, 1982. Suplemento.

GOODMAN, R.N.; KIRALY, Z.; WOOD, K.R. **The biochemistry and physiology of plant disease**. Columbia: University of Missouri Press, 1986. 433 p.

GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.H.; OOSTERNDORP, 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. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 8, p. 629-643, 1996.

GRAHAM, P.H.; RANALLI, P. Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 53, n. 1, p. 131-146, 1997.

GRAWBOW, H.J; LANGENBECK-SCHWICH, B. The relationship between oxidase activity, hydrogen peroxide and phenolic compounds in the degradation of indole-3-acetic acid *in vitro*. **Planta**, Heidelberg, v. 157, p. 131-137, 1983.

GRIESEBACH, H. Lignins. In: CON, E.E.; STUMPEF, P.K. (Ed.) **The biochemistry of plants: a comprehensive treatise**. New York: Academic Press, 1981. chap. 15, p. 457-479.

GUIMARÃES, N.C.C.; TEIXEIRA, J.E.C.; PAIVA, L.V.; dos SANTOS, C.D. Quantificação de carboidratos presentes em tecidos condutores de laranjeira 'Pêra' sobre limoeiro 'Cravo' afetada pelo declínio dos citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 24, n. 1, p. 113-124, 2003.

GULLINO, L.M.; LEROUX, P.; SMITH, C.M. Uses and challenges of novel compounds for plant disease control. **Crop Protection**, Guildford, v. 19, p. 1-11, 2000.

GUZMÁN-MALDONADO, S.H.; MARÍN-JARILLO, A.; CASTELLANOS, J.Z.; GONZÁLES DE MEJÍA, E.; ACOSTA-GALLEGOSC, J.A. Relationship between physical and chemical characteristics and susceptibility to *Zabrotes subfasciatus* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) and *Acanthoscelides abtectus* (Say) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. **Journal of Stored Products Research**, Elmsford, v. 32, n. 1, p. 53-58, 1996.

GUZZO, S.D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. 2004. 256 p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

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**, Berlin, v. 144, n. 9/10, p. 449-454, 1996.

GUZZO, S.D.; CASTRO, R.M. DE; KIDA, K.; MARTINS, E.M.F. Ação protetora do acibenzolar-S-methyl em plantas de cafeeiro contra ferrugem. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 89-94, 2001.

HAAG, H.P.; MALAVOLTA, E.; GARGANTINI, H.; BLANCO, H.G. Absorção de nutrientes pela cultura do feijoeiro. **Bragantia**, Campinas, v. 26, n. 30, p. 380-391, 1967.

HAMMERSCHMIDT, R. To challenge or not to challenge: determining the cost of induced resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 66, p. 1-2, 2005.

HAMMERSCHMIDT, R. Phytoalexin accumulation: response or defense. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. London, v. 62, p. 125-126, 2003.

HAMMERSCHMIDT, R.; NICHOLSON, R.L. Resistance of maize to anthracnose: Changes in host phenols and pigments. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, p. 251-258, 1977.

HAMMERCCHMIDT, R.; MÉTRAUX, J.-P.; VAN LOON, L.C. Inducing resistance summary of papers presented at the first international symposium on induced resistance to plant diseases, Corfu, May 2000. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 1-6, 2001.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 8, p. 1773-1791, 1996.

HANCOCK, J.F. Protein plants. In: _____. **Plant evolution and the origin of crop species**. 2nd ed. Cambridge: CABI Publ., 2004. chap. 9, p. 195-208.

HARTLEB, H.; HEITEFUUS, R.; HOPPE, H.H. **Resistance of crops plants against fungi**. Munique: Gustav ischer Verlag Jena, 1997. 544 p.

HE, C.Y.; HSIANG, T.; WOLYN, D.J. Induction of systemic disease resistance and pathogen defence responses in *Asparagus officinalis* inoculated with nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. **Plant Pathology**, Blackwell, v. 51, n. 2, p. 225-230, 2002.

HEIL, M. The ecological concept of costs of induced systemic resistance (ISR). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 137-146, 2001.

_____. Ecological costs of induced resistance. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 5, p. 1-6, 2002.

HEIL, M.; BALDWIN, I.T. Fitness costs of induced resistance: emerging experimental support for a slippery concept. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 7, p. 61-67, 2002.

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

HOAGLAND, R.E. Biochemical responses of plants to pathogens. In: HOAGLAND, R.E. (Ed.). **Microbes and microbial products as herbicides**. Washington, American Chemical Society, 1990. p. 87-113.

HUANG, T.T.; CARLSON, E.J.; GILLESPIE, A.M.; SHI, Y.; EPSEIN, C.J. Ubiquitous overexpression of CuZn superoxide dismutase does not extend life span in mice. **Journal of Gerontology: Biological Sciences and Medical Sciences**, Oxford, v. 55, B5-B9, 2000.

HUTCHESON, S.W.; BUCHANAN, B. Bioenergetic and metabolic disturbances in diseased plants. In: CALLOW, J.A. **Biochemical plant pathology**. Chichester: John Wiley, 1983. p. 327-345.

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

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**, New York, 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**, Berlin, v. 151, p. 171-180, 2003a.

_____. Does benzothiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean? **Journal of Plant Pathology**, Bari, v. 85, n. 4, p. 265-270. 2003b. Special issue.

ISAAC, S. **Fungal-plant interactions**. Cambridge: Chapman and Hall, 1992. 418 p.

ISHERWOOD, F.A. Lignification. In: PRIDHAM, J.B. (Ed.). **Phenolics in plants in health and disease**. London: Pergamon Press, 1960. chap. 2, p. 45-72.

JACOBS, A.K.; DRY, I.B.; ROBINSON, S.P. Induction of different pathogenesis-related cDNAs in grapevine infected with powdery mildew and treated with ethefon. **Plant Pathology**, London, v. 48, p. 325-336, 1999.

JADÃO, A.S.; PAVAN, M.A.; KRAUSE-SAKATE, R.; ZERBINI, F.M. Efeitos na fotossíntese e área foliar de cultivares de alface inoculadas mecanicamente com patótipos do *Lettuce mosaic virus* e *Lettuce mottle virus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 11-15, 2004.

JAKAB, G.; COTTIER, V.; TOQUIN, V.; RIGOLI, G.; ZIMMERLI, L.; MÉTRAUX, J.-P.; MAUCH-MANI, B. β -Aminobutyric acid-induced resistance in plants. **European Journal of Plant pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 29-37, 2001.

JANG, J.C.; SHEEN, J. Sugar sensing in higher plants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 6, p. 1665-1679, 1994.

JESUS JÚNIOR, W.C.; ROMEIRO, R.S.; RODRIGUES, F.A.; PEREIRA, J.L.A. Um derivado benzotiadiazólico como ativador químico de mecanismos de defesa em feijoeiro contra patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 293, 1999. Suplemento.

KELLER, H.; BLEIN, J-P.; BONNET, P.; RICCI, P. Physiological and molecular characteristics of elicitor-induced systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Physiology**, Rockville, v. 110, p. 365-375, 1996.

KERBY, K.; SOMERVILLE, S. Purification of an infection-related, extracellular peroxidase from barley. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, p. 397-402, 1992.

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**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, 1994.

KHANAM, N.N.; KIHARA, J.; HONDA, Y.; TSUKAMOTO, T.; ARASE, S. studies on red light-induced resistance of broad bean to *Botrytis cinerea*: I. Possible production of suppressor and elicitor by germinating spore of pathogen. **Journal of General Plant Pathology**, Sapporo, v. 71, p. 285-288, 2005.

KHODARY, S.E.A. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. **International Journal of Agriculture & Biology**, Pakistan, v. 6, p. 5-8, 2004.

KLUTHCOUSKI, J.; AIDAR, H.; THUNG, M. Principais problemas da cultura do feijoeiro no Brasil. In: FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. (Ed.). **Feijão: estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba: ESALQ, LPV, 2007. cap. 3, p. 53-102.

KNUDSEN, G. R.; SPURR, H. W. Field persistence and efficacy of five bacterial preparations for control of peanut leaf spot. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 71, p. 442-445, 1987.

KOHLER, A.; SCHWINDLING, S.; CONRATH, U. Benzothiadialole-induced priming for potentiated responses to pathogen infection, wounding, and infiltration of water into leaves requires the *NPR1/NIM1* gene in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 128, n. 3, p. 1046-1056, 2002.

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

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

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

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**. 2007. 140 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

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.

LAGÔA, A.M.M.A.; PEREIRA, H.F.D.A. Efeito de substâncias de crescimento na iniciação floral de *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 14, p. 115-119, 1991.

LAMB, C.; DIXON, R.A. The oxidative burst in plant disease resistance, **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 4, p. 251-275, 1997.

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

LAWTON, K.; RIEDRICH, 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**, Oxford, v. 10, p. 71-82, 1996.

LEITE, B.; PASCHOLATI, S.F. Hospedeiro: alterações fisiológicas induzidas por fitopatógenos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, cap. 21, p. 393-416.

LIVNE, A.; DALY, J.M. Translocation in healthy and rust-affected leaves. **Phytopathology**, St. Paul, v. 39, p. 614-621, 1966.

LOBO JUNIOR, M. **Análise de risco para pragas não quarentenárias regulamentadas do feijoeiro comum**. Embrapa Arroz e feijão. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=15151>> Acesso em: 24 jul. 2009.

LOGEMANN, E.; WU, S-C.; SCHRÖDER, J.; SCHMELZER, E.; SOMSSICH, I.E.; HAHNBROCK, K. Gene activation by UV light, fungal elicitor or fungal infection in *Petroselinum crispum* is correlated with repression of cell cycle-related genes. **Plant Journal**, Oxford, v. 8, p.865-878, 1995.

LUCAS, J.A. The physiology of plant disease. In: _____. (Ed.) **Plant pathology and plant pathogens**. Cambridge: Blackwell Science, 1998. chap. 7, p. 209-218.

LUSSO, M.F.G.; PASCHOLATI, S.F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 25, p. 244-249, 1999.

MACAGNAN, D.; PASCHOLATI, S.F.; WULFF, N.A.; GARCIA, E.O. Potencial hídrico em plantas de laranja (*Citrus sinensis* var. *Valência*) com diferentes níveis de severidade da "morte súbita dos citros". **Fitopatologia Brasileira** - suplemento. Brasília : Sociedade Brasileira de Fitopatologia, v. 3, p. 347-347, 2006.

MACHEIX, J.J.; FLEURIET, A.; QUESSADA, M.P. Involvement of phenols and peroxidases in wound healing and grafting. In: GREPPIN, H.; PENEL, C.; GASPAR, T. (Ed.). **Molecular and physiological aspects of plant peroxidases**. Geneva: University of Geneva, 1986. p. 267-286.

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, 1991. p. 347-362.

MADEIRA, A.C.; CLARK, J.A. The principles of resource capture in relation to necrotrophic infection. In: WALTERS, D.R.; SCHOLE, J.D.; BRYSON, R.J.; PAUL, N.D.; MCROBERTS, N. (EDS). **Physiological responses of plants to pathogens**: Warwick: AAB, 1995. p. 19-31. (Aspects of Applied Biology, 42).

MAGALHÃES, G.C. **Análise da atividade de algumas enzimas antioxidantes em plantas de soja (*Glycine max* L. Merr.) sob níveis de manganês, em função da micorriza arbuscular**. 2002. 122 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 631 p.

MARCHI, C.E; BORGES, M.F; RESENDE, M.L.V. Proteção induzida por benzotiadiazole contra a ferrugem-alaranjada (*Hemileia vastatrix*) em cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, p. 1103-1106, 2002.

MAUCH, F.; MEEHL, J.B.; STAEHELIN, L.A. Ethylene-induced chitinase and β -1,3-glucanase accumulate specifically in the lower epidermis and along vascular strands of vean leaves. **Planta**, Berlin, v. 186, p. 367-375, 1992.

MAUCH-MANI, B; MÉTRAUX, J.-P. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica*. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 8, p. 203-212, 1996.

MOHAN, R.; KOLATTUKUDY, P.E. Differential activation of expression of a suberization-associated anionic peroxidase gene in near-isogenic resistant and susceptible tomato lines by elicitors of *Verticillium albo-atrum*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 92, p. 276-280, 1990.

NARUSAKA, Y.; NARUSAKA, M.; HORIO, T.; ISHII, H. Comparison of local and systemic induction of acquired disease resistance in cucumber plants treated with benzothiadiazoles or salicylic acid. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 40, n. 4, p. 388-395, 1999.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, 1992.

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

ORBER, M.; SIEGRIST, J.; BUCHENAUER, H. Mechanisms of phosphate-induced disease resistance in cucumber. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 108, n. 4, p. 345-353, 2002.

PAN, S.Q.; YE, X.S.; KUĆ, J. Association of β -1,3-glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mould in tobacco induced by stem injection with *Peronospora tabacina* or leaf inoculation with tobacco mosaic virus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 39, p. 25-39, 1991.

PANABIÈRES, F.; PONCHET, M.; ALLASIA, V.; CARDIN, L.; RICCI, P. Characterization of border species among Pythiaceae: several *Pythium* isolates produce elicitors, typical proteins from *Phytophthora* spp. **Mycological Research**, Oxford, v. 101, p. 1459-1468, 1997.

PASCHOLATI, S.F. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos**. 1998.132 p. Tese (Livro-Docência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismo de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, cap. 22, p. 417-454.

PASCHOLATI, S.F.; STANGARLIN, J.R.; HOTO, F.V.; PICCININ, E.; OSSWALD, W. Efeito *in vitro* do ativador de defesa vegetal “BION” no crescimento micelial e na germinação de conídios de *Colletotrichum graminicola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 266, 1998. Suplemento.

PASCUAL, S.; NOMBELA, G.; AVILES, M.; MUÑIZ, M. Induced resistance in tomato to whitefly *Bemisia tabaci* by Bion. **International Organization for Biological Control IOBC/WPRS Bulletin**, Darmstadt, v. 26, n. 10, p. 61-64, 2003.

PAULA JUNIOR, T.J. de; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.J. de; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006. p. 359-414.

PESSANHA, G.G.; FRANCO, A.A.; DÖBEREINER, J.; GROSZMANN, A.; BRITO, D.P.P.S. Correlação negativa da nodulação com a produção de feijão (*Phaseolus vulgaris*) em solos onde nitrogênio não é fator limitante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 7, p. 49-56, 1972.

PIERO, R. M.; GARCIA JUNIOR, D.; TONUCCI, N. M. Indutores bióticos. In: CAVALCANTI, L. S.; 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: FEALQ, 2005. p. 29-50.

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**, Dordrecht, v. 107, p. 51-61, 2001.

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT, J.A.; VAN WEES, S.C.M.; TON, J.; VERHAGEN, B.W.M.; LÉON-KLOOSTERZIEL, K.M.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENT, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN-JÚNIOR, A.; RESENDE, M.L.V.; VAN LOON, L.C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Annual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 13, p. 277-295, 2005.

QIU, X.; GUAN, P.; WANG, M.L.; MOORE, P.H.; ZHU, Y.J.; HU, J.; BORTH, W.; ALBERT, H.H. Identification and expression analysis of BTH induced genes in papaya. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 65, p. 21-30, 2004.

REGLINSKY, T.; POOLE, P.R.; WHITAKER, G.; HOYTE, S.M. Induced resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in kiwifruit leaves. **Plant Pathology**, Blackwell, v. 46, p.716-721, 1997.

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 pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology**, Blackwell, v. 51, n. 5, p. 621-628, 2002.

RICCI, P.; BONNET, P.; HUET, J.; SALLANTIN, M.; BEAUVAIS-CANTE, F.; BRUNETEAU, M.; BILLARD, V.; MICHEL, G.; PERNOLLET, J. Structure and activity of proteins from pathogenic fungi *Phytophthora* eliciting necrosis and acquired resistance in tobacco. **European Journal of Biochemistry**, Weinheim, v. 183, p.555-563, 1989.

RIOS, G.P. Resistência ao vírus do mosaico severo do caupi. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 9, n. 2, p. 309-310, 1984.

RIOS, G.P.; NEVES, B.P. das.; CARVALHO, J.R.P. de. Efeito da população de *Ceratomyxa* e do mosaico severo nos fatores de produção de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI, 1., 1982, Goiânia. **Resumos...** Goiânia: EMBRAPA, CNPAF, 1982. p. 110.

RODRIGUES, F.A.; JURICK II, W.M.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; ROLLING, J.A. Silicons influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice – *Magnaporthe grisea* interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 66, p. 144-159, 2005.

ROMERO, A.M.; KOUSIK, C.S.; RITCHIE, D.F. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-S-methyl. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, p. 189-194, 2001.

RONCATO, 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**, Piraciaba, v.55, n. 3, p. 395-402, 1998.

ROSS, F.A. Systemic acquired resistance induced by localized virus infection in plants. **Virology**, Oxford, v. 14, p. 340-358, 1961.

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

SAETTLER, A.W. Common bacterial blight. In: SCHWARTZ, H.F.; STEADMAN, J.R.; HALL, R.; FOSTER, R.L. (Ed.). **Compendium of bean diseases**. 2nd ed. Saint Paul: APS PRESS, 2005. p. 46-47.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology**. Belmont: Wadsworth, 1992. 628 p.

SALLES, I.I.; BLOUNT, J.W.; DIXON, R.A.; SCHUBERT, K. Phytoalexin induction and β -1,3-glucanase activities in *Colletotrichum trifolii* infected leaves of alafa (*Medicago sativa* L.) **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 61, p. 89-101, 2002.

SANTOS, J.B.; GAVILANES, M.L. Botânica. In: VIEIRA, C.; PAULA JUNIOR, T.L.; BORÉM, A. **Feijão**. 2. ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006. p. 41-65.

SARTORATO, A.; RAVA, C.A. Mancha angular. In: _____. (Ed.). **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle**. Brasília. EMBRAPA, SPI, 1994. p. 41-68.

SATHIYABAMA, M.; BALASUBRAMANIAN, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**, Guildford, v. 17, p. 307-313, 1998.

SCHOLER, J.D. Photosynthesis: cellular and tissue aspects in disease leaves. In: AYRES, P.G. (Ed.) **Pests and pathogens: plant responses to foliar attack**. Lancaster: Bios Scientific Publ., 1992. p. 85-106.

SCHRÖDER, M.; HAHLBROCK, K.; KOMBRINK, E. Temporal and spatial patterns of β -1,3-glucanase and chitinase induction in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. **Plant Journal**, Oxford, v. 2, p. 161-172, 1992.

SEKI, H.; NAGASUGI, Y.; SHIRAISHI, T.; YAMADA, T. Changes *in vivo* DNA-protein interactions in pea phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase gene promoter induced by fungal signal molecules. **Plant Cell Physiology**, Oxford, v. 40, p. 88-95, 1999.

SHEPPARD, J.W. Detection of seed-borne bacterial blights of bean. **Seed Science and Technology**, Bassersdorf, v. 11; p. 561-567, 1983.

SIEGRIST, L.; GLENEWINKEL, D.; KOLLE, C.; SCHMIDTKE, M. Chemical induced resistance in green bean against bacterial and fungal pathogens. **Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Jahrgang, v. 104, p. 559-610, 1997.

SILUÉ, D.; PAJOT, E.; COHEN, Y. Induction of resistance to downy mildew (*Peronospora parasitica*) in cauliflowew by DL- β -amino-n-butanoic acid (BABA). **Plant Pathology**, Saint Paul, v. 51, n.1., p. 97-102, 2002.

SILVA, A.S. **Comportamento do tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) aos indutores de resistência à seca**. 2006. 65 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SILVA, L.H.P.; RESENDE, M.L.V.; SOUZA, R.M.; CAMPOS, J.R. Efeito do indutor de resistência acibenzolar-S-metil na proteção contra *Xanthomonas vesicatoria*, *Oidium lycopersici* e *Septoria lycopersici* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 3, p. 244-248, 2003.

SMEDEGAARD-PETERSEN, V. The role of respiration and energy generation in diseased and disease-resistance plants. In: JELLIS, J.G.; WOOD, K.R.S. (Ed.). **Plant diseases: infection, damage, and loss**. Oxford: Blackwell Scientific Publ., 1984. p. 73-85.

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**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 373-377, 2004.

SOBRINHO, C. A.; FERREIRE, P. T. O.; CAVALCANTI, L. S. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L. S.; 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: FEALQ, 2005. p. 51-80..

SOMSSICH, I.E.; HAHLBROCK, K. Pathogen defense in plants: a paradigm of biological complexity. **Trends in Plant Science**, Kidlington, v. 3, p. 86-90, 1998.

SOUZA, C.V.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 704 p.

STADNIK, M.J. Indução de resistência a oídios. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.26, p. 175-177, 2000.

STADNIK, M.J.; BUCHENAUER, H. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 57, p. 25-34, 2000.

STANGARLIN, J.R, LEITE, B. Alterações fisiológicas na suscetibilidade. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 177-283.

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F.; LABATE, C.A. Efeito de *Phaeoisariopsis griseola* na atividade de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase, clorofilase, β -1,3-glucanase e quitinase em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 59-66, 2000.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E. S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Piracicaba, v. 2, p. 16-21, 1999.

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

STINTIZI, A.; HEITZ, T; PRASAD, V., WIEDEMANN-MERDINOGLUS, S.; KAUFFMAN, S.; GEOFFROY, P; LEGRAND, M; FRITIG, B. Plant pathogenesis-relate proteins and their role in defense against pathogens. **Biochimie**, Paris, v. 75, p. 687-706, 1993.

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

SUO, Y.; LEUNG, D.W.M. ASM-induced accumulation of extracellular proteins and blackspot disease in rose. **Biologia Plantarum**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 273-279, 2002.

SUZUKI, K.; NISHIUCHI, T.; NAKAYAMA, Y; ITO, M. SHINSHI, H. Elicitor-induced down-regulation of cell cycle-related gene in tobacco cells. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 29, p. 183-191, 2006.

SYNGENTA, **Bion**: ativa a autodefesa da planta. Syngenta, [20__]. 18 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Trad. de E.R. Santarém et al. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

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, 1999. p. 357-369.

- TAR'AN, B.; MICHAELS, T.E.; PAULS, K.P. Mapping genetic factors affecting the reaction to *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in *Phaseolus vulgaris* L. under field conditions. **Genome**, Ottawa, v. 44, p. 1046-1056, 2001.
- THALER, J.S.; STOUT, M.J.; KARBAN, R.; DUFFEY, S.S. Jasmonate-mediated induced plant resistance affects a community of herbivores. **Ecological Entomology**, Oxford, v. 26, n. 3, p. 312-324, 2001.
- THOMMA, B.P.H.J.; NELISSEN, I.; EGGERMONT, K.; BROEKAERT, W.F. Deficiency in phytoalexin production causes enhanced susceptibility of *Arabidopsis thaliana* to the fungus *Alternaria brassicicola*. **Plant Journal**, Oxford, v. 19, p. 163-171, 1999.
- VALARINI, P.J.; MENTEN, J.O.M. *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* em sementes de feijão: detecção por inoculação em planta indicadora. **Revista Brasileira de Sementes**, São Paulo, v. 14, p. 171-179, 1992.
- VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.I.; LIBERATO, J.R. **Quantificação de doenças:** Quant v.1.0.1. Viçosa: UFV, 2001. CD-ROM.
- VALVERDE, R.A.; MORENO, R.; GAMEZ, R. Yield reductions in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) infected with cowpea severe mosaic virus in Costa Rica. **Turrialba**, Coronado, v. 32, p. 89-90, 1982.
- VAN LOON, L.C. Pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 4, p. 11-116, 1985.
- VAN LOON, L.C.; VAN KAMMEN, A. Polyacrylamide disc eletrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. "Samsun" and "Samsun NN" II. Changes in protein constitution after infection with tobacco mosaic virus. **Virology**, Oxford, v. 40, p. 199-211, 1970.
- VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E.A The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, p. 85-97, 1999,
- VAN WEES, S.C.M.; LUIJENDIJK, M.; SMOORENBURG, I.; VAN LOON, L.C.; PIETERSE, C.M.J. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* is not associated with direct effect on expression of known defense related gene but stimulates the expression of the jasmonate inducible genes *Atvsp* upon challenge. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 41, p. 537-549, 1999.
- WALLEN, V.R.; SUTTON, M.D. *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* (Burkh.) Starr & Burkh. on field bean in Ontario. **Canadian Journal of Botanic**, Guelph, v. 43, p. 437-446, 1965.

WALTERS, D.; WALSH, D.; NEWTON, A.; LYON, G. Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 95, n. 12, p. 1368-1373, 2005.

WALTERS, D.R.; BOYLE, C. Induced resistance and allocation cost: what is the impact of pathogen challenge? **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 66, p. 40-44, 2005.

WARD, E.R.; UKNES, S.J.; WILLIAMS, S.C.; DINCHER, S.S.; WIEDERHOLD, D.L.; ALEXANDER, D.C.; AHL GOY, P.; MÉTRAUX, J.-P.; RYALS, J.A. Coordinate genes activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v. 3, p. 1085-1094, 1991.

WELLER, D.M.; SAETTLER, A.W. Estimation of seedborn of *Xanthomonas phaseoli* and *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* as primary inocula in bean blights. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 70, p. 148-152, 1980 a.

_____. Colonization and distribution of *Xanthomonas phaseoli* and *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* in field-grown navy beans. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 70, p. 500-506, 1980 b.

YOKOYAMA, L.P.; BANNO, K.; KLUTHCOSKI, J. Aspectos socioeconômicos da cultura. In: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMANN, M.J.O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996. p. 1-21.

YOSHIKAWA, M.; TSUDA, M.; TAKEUCHI, Y. Resistance to fungal disease in transgenic tobacco plants expressing the phytoalexin elicitor-releasing factor, β -1,3-glucanase, from soybean. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 80, p. 417-420, 1993.

ZAVALA, J.A.; PAANKAR, A.G.; GASE, K.; BALDWIN, I.T. Constitutive and inducible trypsin proteinase inhibitor production incurs large fitness costs in *Nicotiana attenuate*. **Proceedings of the National Academy of Science United States of America**, v. 101, p. 1607-1612, 2004.

ZIMMERLI, L.; JAKAB, G.; MÉTRAUX, J.-P.; MAUCH-MANI, B. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in *Arabidopsis* by β -aminobutyric acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America**, Washington, v. 97, n. 23, p. 12920-12925, 2000.

ANEXOS

ANEXO A - Teor de clorofila *a* em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em $\text{mg.mL}^{-1}.\text{g tecido fresco}^{-1}$

Tratamento	Dias após emergência das plântulas			
	0 A	7 A	21 A	35 A
Controle água A	1,01 b I	1,22 b I	1,04 b I	1,16 a I
Controle ASM AB	1,15 a I	1,24 a I	1,07 a I	0,98 a I
Água+patógeno B	0,99 a I	1,06 a I	0,37 b II	0,32 b II
ASM +patógeno AB	0,99 a I	1,23 a I	0,99 a I	0,76 a II

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO B - Teor de clorofila *b* em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em $\text{mg.mL}^{-1}.\text{g tecido fresco}^{-1}$

Tratamento	Dias após emergência das plântulas			
	0 AB	7 A	21 AB	35 B
Controle água A	0,32 b I	0,40 b I	0,42 b I	0,42 b I
Controle ASM AB	0,37 a I	0,39 a I	0,44 a I	0,35 a II
Água+patógeno AB	0,31 a I	0,39 a I	0,18 a I	0,11 a II
ASM +patógeno B	0,31 a I	0,39 a I	0,29 a I	0,29 a II

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO C - Teor de clorofila total em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7^o dae. Valores expressos em mg.mL⁻¹.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas			
	0 AB	7 A	21 BC	35 C
Controle água A	1,26 a I	1,64 a I	1,51 a I	1,61 a I
Controle ASM A	1,55 a I	1,66 a I	1,54 a I	1,35 a I
Água+patógeno B	1,32 a I	1,47 a I	0,56 b II	0,44 b II
ASM +patógeno A	1,33 a I	1,64 a I	1,30 a I	1,07 a I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO D - Teor de clorofila *a* em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em mg.mL⁻¹.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 B	7 A	21 B	35 B	49 C
Controle água AB	1,01 bc I	1,45 a I	1,19 ab I	1,21 ab I	0,70 c I
Controle ASM A	1,08 a I	1,27 a I	1,26 a I	1,11 a I	1,18 a I
Água+patógeno C	1,05 a I	1,38 a I	1,05 a I	0,66 b I	0,40 b I
ASM +patógeno BC	0,97 b I	1,46 a I	1,02 b I	0,88 b I	0,77 b I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO E - Teor de clorofila *b* em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em mg.mL⁻¹.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 A	7 A	21 A	35 A	49 A
Controle água A	0,33 b I	0,45 b I	0,41 b I	0,43 b I	0,68 a I
Controle ASM AB	0,39 a I	0,40 a I	0,44 a I	0,40 ab I	0,31 b II
Água+patógeno B	0,38 a I	0,43 a I	0,36 a I	0,28 a I	0,18 a II
ASM +patógeno B	0,37 a I	0,46 a I	0,35 a I	0,34 a I	0,31 a II

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO F - Teor de clorofila total em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em mg.mL⁻¹.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 B	7 A	21 B	35 BC	49 C
Controle água A	1,40 a I	1,94 a I	1,62 a I	1,66 a I	1,41 a I
Controle ASM A	1,49 a I	1,70 a I	1,73 a I	1,53 a I	1,47 a I
Água+patógeno B	1,45 a I	1,84 a I	1,44 a I	0,89 b II	0,59 b II
ASM +patógeno AB	1,33 b I	1,96 a I	1,40 ab I	1,24 b I II	1,09 b I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO G - Teor de clorofila total em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 7^o dae. Valores expressos em mg.mL⁻¹.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 B	7 A	21 B	35 C	49 D
Controle água A	38,38 b I	44,19 a I	42,56 a I	43,53 a I	45,86 a I
Controle ASM A	39,73 a I	43,26 a I	41,63 a I	42,88 a I	39,59 a II
Água+patógeno C	40,97 a I	42,61 a I	32,51 b II	16,81 c III	13,52 c III
ASM +patógeno B	40,05 a I	41,04 a I	38,98 a I	30,12 b II	28,65 b IV

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO H - Teor de clorofila total em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em mg.mL⁻¹.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 A	7 A	21 A	35 B	49 C
Controle água A	41,01 a I	41,21 a I	42,42 a I	41,52 a I	44,98 a I
Controle ASM A	41,69 ab I	40,02 b I	41,36 ab I	40,77 b I	45,63 a I
Água+patógeno C	42,59 a I	38,79 a I	39,83 a I	18,31 b III	16,33 b II
ASM +patógeno B	42,59 a I	40,93 a I	39,93a I	30,84 b II	38,46 a III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO I - Teor de fenóis totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7^o dae. Valores expressos em mg catecol.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas			
	0 C	7 B	21 A	35 B
Controle água C	32,82 b I	41,31 a I	43,11 a III	40,18 a II
Controle ASM B	34,77 b I	43,46 a I	44,90 a II III	43,46 a I II
Água+patógeno AB	35,85 c I	42,30 b I	48,72 a I II	43,71 b I II
ASM +patógeno A	33,77 c I	44,54 b I	52,74 a I	46,05 b I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO J - Teor de fenóis totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em mg catecol.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 C	7 B	21 A	35 A	49 B
Controle água C	31,22 c I	38,41 b I	47,60 a I	45,32 a II	34,29 c II
Controle ASM BC	30,56 c I	36,67 b I	49,15 a I	51,62 a I	38,20 b I
Água+patógeno AB	32,64 c I	39,94 b I	48,51 a I	52,81 a I	38,63 b I
ASM +patógeno A	32,06 d I	40,07 c I	50,04 b I	55,39 a I	40,92 c I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO K - Teor de proteínas totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em mg proteína.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas			
	0 A	7 B	21 AB	35 AB
Controle água B	0,31 a I	0,24 ab I	0,19 b II	0,20 b II
Controle ASM A	0,32 a I	0,27 a I	0,32 a I	0,26 a II
Água+patógeno B	0,30 a I	0,22 b I	0,22 ab II	0,28 ab II
ASM +patógeno A	0,30 ab I	0,27 b I	0,37 a I	0,38 a I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO L - Teor de proteínas totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21º dae. Valores expressos em mg proteína.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 BC	7 D	21 C	35 A	49 AB
Controle água B	0,34 a I	0,26 b I	0,29 ab I	0,28 b III	0,26 b II
Controle ASM A	0,34 b I	0,30 b I	0,32 b I	0,44 a I	0,45 a I
Água+patógeno B	0,35 a I	0,25 b I	0,33 a I	0,36 a II	0,24 b II
ASM +patógeno A	0,36 b I	0,28 c I	0,35 b I	0,48 a I	0,50 a I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO M - Teor de peroxidase em plantas em feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em $\text{Abs.min}^{-1}.\text{mg proteína}^{-1}$

Tratamento	Dias após emergência das plântulas			
	0 C	7 C	21 B	35 A
Controle água B	0,53 c I	0,80 bc I	1,14 ab II	1,80 a IV
Controle ASM A	0,53 d I	0,90 c I	3,00 b I	4,07 a II
Água+patógeno B	0,56 c I	0,60 c I	1,59 b II	2,80 a III
ASM +patógeno A	0,42 d I	0,90 cd I	3,60 b I	5,05 a I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO N - Teor de peroxidase em plantas em feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21º dae. Valores expressos em $\text{Abs.min}^{-1}.\text{mg proteína}^{-1}$

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 D	7 C	21 B	35 A	49 A
Controle água C	0,40 c I	0,80 bc I	1,20 ab II	1,30 IVa	1,50 a IV
Controle ASM AB	0,50 c I	1,00 c I	1,60 b I II	3,00 a II	3,20 a II
Água+patógeno BC	0,60 c I	0,90 bc I	1,30 b I II	2,00 a III	2,20 a III
ASM +patógeno A	0,40 d I	1,10 c I	1,80 b I	4,00 a I	4,20 a I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO O - Teor de carboidratos totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em mg glicose.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas			
	0 B	7 A	21 A	35 B
Controle água A	9,92 c I	16,10 a I	17,11 a I	11,67 b I
Controle ASM B	10,12 b I	15,26 a I	16,02 a I	11,14 b I
Água+patógeno B	9,71 b I	15,77 a I	11,11 b II	9,04 b II
ASM +patógeno AB	9,58 b I	16,15 a I	13,12 a II	9,55 b II

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO P - Teor de carboidratos totais em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21º dae. Valores expressos em mg glicose.g tecido fresco⁻¹

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 D	7 C	21 B	35 A	49 C
Controle água A	12,43 d I	14,91 cd I	18,77 b I	22,48 a I	17,24 bc I
Controle ASM AB	12,51 c I	15,24 b I	16,88 b I	20,46 a I II	16,33 b I II
Água+patógeno B	13,07 c I	14,40 bc I	18,05 a I	16,80 ab III	14,23 bc II
ASM +patógeno B	12,92 c I	15,60 b I	16,34 ab I	18,78 a II III	14,75 bc I II

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO Q - Avaliação ao 35^o dae da severidade do crestamento bacteriano comum causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* inoculada ao 7^o dae em plantas feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e pré-tratadas com ASM (concentração 50 mg i.a.L⁻¹) ou água, uma, duas, três ou quatro vezes durante a condução do experimento

Aplicação	Severidade (%)		Proteção (%)
	Tratamento água+patógeno (controle)	Tratamento ASM+patógeno	
Uma A	29,1,0 a	20,0 b	31,27
Duas B	28,0 a	12,1 b	56,79
Três C	26,1 a	7,1 b	72,80
Quatro C	27,8 a	6,0 b	78,42

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Aplicações na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 5%.

ANEXO R - Avaliação ao 49^o dae da severidade do crestamento bacteriano comum causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* inoculada ao 21^o dae em plantas feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e pré-tratadas com ASM (concentração 50 mg i.a.L⁻¹) ou água, uma, duas, três, quatro ou cinco vezes durante a condução do experimento

Aplicação	Severidade (%)		Proteção (%)
	Tratamento água+patógeno (controle)	Tratamento ASM+patógeno	
Uma A	30,0 a	28,1 a	6,33
Duas A	27,9 a	26,3 a	5,73
Três B	27,2 a	6,8 b	75,00
Quatro B	28,8 a	5,9 b	79,51
Cinco B	27,8 a	6,2 b	77,70

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Aplicações na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 5%.

ANEXO S - Avaliação ao 49º dae da severidade do crestamento bacteriano comum causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* inoculada ao 7º dae em plantas feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e pré-tratadas com ASM (concentração 50 mg i.a.L⁻¹) ou água, uma, duas, três, quatro ou cinco vezes durante a condução do experimento

Aplicação	Severidade (%)		Proteção (%)
	Tratamento água+patógeno (controle)	Tratamento ASM+patógeno	
Uma A	25,2 a	12,9 b	48,81
Duas B	23,3 a	8,1 b	65,24
Três C	26,2 a	5,9b	77,48
Quatro C	25,1 a	4,1 b	83,67
Cinco C	25,1 a	4,2 b	83,27

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Aplicações na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 5%.

ANEXO T - Avaliação ao 49º dae da severidade do crestamento bacteriano comum causado pela bactéria *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* inoculada ao 21º dae em plantas feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e pré-tratadas com ASM (concentração 50 mg i.a.L⁻¹) ou água, uma, duas, três, quatro ou cinco vezes durante a condução do experimento

Aplicação	Severidade (%)		Proteção (%)
	Tratamento água+patógeno (controle)	Tratamento ASM+patógeno	
Uma A	22,2 a	19,1 a	13,96
Duas A	20,7 a	18,0 a	13,04
Três B	23,9 a	5,0 b	79,08
Quatro B	23,2 a	4,2 b	81,90
Cinco B	23,1 a	4,0 b	82,68

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Aplicações na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 5%.

ANEXO U – Potencial hídrico em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em Mpa

Tratamento	Dias após emergência das plântulas			
	0 C	7 B	21 B	35 A
Controle água B	-1,08 b I	-1,38 a II	-1,31 ab III	-1,51 a II
Controle ASM B	-0,99 b I	-1,48 a I II	-1,43 a II III	-1,68 a I II
Água+patógeno A	-0,96 b I	-1,71 a I	-1,80 a I	-1,96 a I
ASM +patógeno A	-1,16 b I	-1,63 a I II	-1,63 a I II	-1,83 a I

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 5%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO V – Potencial hídrico em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21º dae. Valores expressos em Mpa

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 C	7 B	21 A	35 A	49 A
Controle água C	-0,85	-1,15	-1,23	-1,20	-1,23
Controle ASM BC	-0,93	-1,21	-1,30	-1,25	-1,28
Água+patógeno A	-0,94	-1,20	-1,38	-1,40	-1,43
ASM +patógeno AB	-0,95	-1,25	-1,33	-1,33	-1,31

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO W – Potencial hídrico em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 7^o dae. Valores expressos em Mpa

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 C	7 B	21 AB	35 AB	49 A
Controle água B	-0,89	-1,14	-1,23	-1,23	-1,30
Controle ASM AB	-0,93	-1,18	-1,30	-1,28	-1,37
Água+patógeno A	-0,87	-1,33	-1,35	-1,37	-1,42
ASM +patógeno AB	-0,84	-1,32	-1,31	-1,33	-1,38

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO X – Potencial hídrico em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em Mpa

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	0 D	7 C	21 B	35 AB	49 A
Controle água B	-0,92	-1,20	-1,28	-1,32	-1,32
Controle ASM B	-0,89	-1,23	-1,33	-1,37	-1,40
Água+patógeno A	-0,92	-1,24	-1,39	-1,50	-1,53
ASM +patógeno B	-0,87	-1,18	-1,38	-1,41	-1,43

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Dias seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO Y – Teor de massa seca em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7^o dae. Valores expressos em g

Tratamento	Número de aplicações			
	Uma A	Duas B	Três B	Quatro B
Controle água A	29,83 a II	30,50 a I	31,00 a I	30,75 a I
Controle ASM B	31,92 a I	28,33 b II	27,00 bc II	26,25 c II
Água+patógeno D	30,75 a I II	18,58 b IV	19,08 b IV	18,42 b IV
ASM +patógeno C	31,67 a I	20,42 b III	20,33 b III	20,17 b III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO Z – Teor de massa seca em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em g

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas A	Três B	Quatro B	Cinco C
Controle água A	33,67 a I	34,33 a I	33,00 a I	32,92 a I	34,33 a I
Controle ASM B	34,08 a I	33,17 a I	31,00 b II	29,33 b II	24,58 c II
Água+patógeno D	33,42 a I	33,67 a I	20,25 b IV	20,50 b IV	20,75 b III
ASM +patógeno C	33,58 a I	32,58 a I	26,75 b III	26,00 bc III	24,50 c II

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AA – Teor de massa seca em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em g

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas B	Três C	Quatro D	Cinco D
Controle água A	198,17 a I	198,17 a I	199,42 a I	201,50 a I	199,50 a I
Controle ASM B	202,92 a I	200,33 a I	188,00 b II	176,08 c II	171,83 c II
Água+patógeno D	202,08 a I	136,17 b III	136,67 b IV	134,75 b IV	135,17 b IV
ASM +patógeno C	200,25 a I	182,25 II	173,08 c III	159,83 d III	162,00 d III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AB – Teor de massa seca em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21º dae. Valores expressos em g

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas A	Três B	Quatro B	Cinco C
Controle água A	206,17 a I	207,58 a I	208,50 a I	208,67 a I	206,17 a I
Controle ASM B	205,92 a I	206,17 a I II	190,58 b II	184,83 b II	180,42 b II
Água+patógeno D	210,75 a I	194,50 b III	157,83 c III	158,67 c III	154,25 c IV
ASM +patógeno C	204,50 a I	195,08 a III	182,17 b II	178,42 b II	166,33c III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AC – Número de vagens por plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em unidade

Tratamento	Número de aplicações			
	Uma A	Duas B	Três B	Quatro B
Controle água C	21,58 a I	22,17 a I	21,50 a I	22,00 a I
Controle ASM A	22,08 a I	20,92 b I	19,00 bc II	18,08 c II
Água+patógeno D	22,50 a I	13,67 b II	13,00 b III	12,00 b III
ASM +patógeno C	21,67 a I	20,83 b I	15,42 b III	13,83 b III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AD – Número de vagens por planta de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21º dae. Valores expressos em unidade

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas A	Três B	Quatro B	Cinco C
Controle água A	20,08 a I	19,67 a I	19,58 a I	19,92 a I	20,00 a I
Controle ASM B			19,17 ab I		
Água+patógeno D	19,58 ab I	20,08 a I	II	18,42 b II	16,17 c II II
ASM +patógeno C	19,25 a I	19,75 a I	15,00 b IV	15,33 b IV	15,33 b III
	19,83 a I	19,17 ab I	18,08 bc II	17,00 cd III	16,50 d II

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AE – Número de vagens por plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 7^o dae. Valores expressos em g

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas B	Três C	Quatro D	Cinco D
Controle água A	61,42 a I	64,33 a I	61,33 a I	61,17 a I	61,67 a I
Controle ASM B	62,33 a I	62,67 a I	54,92 b II	51,67 bc II	49,83 c II
Água+patógeno D	61,67 a I	30,08 b III	31,50 b III	31,42 b IV	30,58 b IV
ASM +patógeno C	61,42 a I	56,17 b II	53,42 b II	44,50 c III	35,67 c III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AF – Número de vagens por plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em g

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas A	Três B	Quatro C	Cinco C
Controle água A	50,92 a I	51,33 a I	52,25 a I	50,17 a I	49,83 a I
Controle ASM B	50,25 a I	49,92 a I	45,17 b II	42,75 b II	42,00 b II
Água+patógeno C	50,25 a I	49,92 a I	21,17 b III	20,08 b III	20,50 b IV
ASM +patógeno B	50,50 a I	49,92 a I	43,50 b II	41,17 bc II	38,75 c III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AG – Peso de 100 grãos em plantas de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14 e 28 dae. Inoculação realizada ao 7º dae. Valores expressos em g

Tratamento	Número de aplicações			
	Uma A	Duas B	Três B	Quatro B
Controle água A	16,50 a I	15,50 a I	16,67 a I	16,58 a I
Controle ASM B	16,25 a I	15,83 a I	14,25 b II	13,50 b II
Água+patógeno D	16,92 a I	5,58 b III	5,75 b IV	5,58 b IV
ASM +patógeno C	15,92 a I	7,67 b II	7,08 b III	7,33 b III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AH – Peso de 100 grãos em planta de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em casa de vegetação e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21º dae. Valores expressos em g

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas A	Três B	Quatro C	Cinco C
Controle água A	16,75 a I	16,92 a I	16,75 a I	16,75 a I	17,00 a I
Controle ASM B	16,83 a I	16,33 a I	13,92 b II	12,92 bc II	11,83 c II
Água+patógeno D	16,83 a I	16,17 a I	8,25 b IV	8,00 b IV	7,92 b IV
ASM +patógeno C	16,67 a I	16,25 a I	11,17 b III	9,58 c III	8,92 c III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AI – Peso de 100 grãos em planta de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 7^o dae. Valores expressos em g

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas B	Três B	Quatro B	Cinco B
Controle água A	25,75 a I	25,00 a I	25,17 a I	26,92 a I	27,58 a I
Controle ASM A	27,25 a I	25,42 a I	22,83 a I	21,42 a I II	20,83 a I II
Água+patógeno C	27,67 a I	12,58 b II	11,92 b II	11,17 b III	11,33 b II
ASM +patógeno B	27,67 a I	22,08 ab I	20,58 abc I	16,42 bc II	15,25 c II

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

ANEXO AJ – Peso de 100 grãos em planta de feijoeiro cv. IAC – carioca cultivadas em campo e submetidas aos diferentes tratamentos aplicados aos 0, 7, 14, 28 e 42 dae. Inoculação realizada ao 21^o dae. Valores expressos em g

Tratamento	Dias após emergência das plântulas				
	Uma A	Duas A	Três B	Quatro BC	Cinco C
Controle água A	32,25 a I	31,25 a I	31,17 a I	31,92 a I	31,92 a I
Controle ASM B			30,00 ab I		
Água+patógeno D	32,33 a I	32,25 a I	II	27,50 bc II	24,75 c II
ASM +patógeno C	31,92 a I	29,42 a I	11,58 b III	11,42 b IV	11,17 b IV
	32,83 a I	30,17 ab I	27,17 b II	22,83 c III	19,25 d III

Valores na mesma linha seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Valores na mesma coluna seguidos pelos mesmos algarismos romanos não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey a 1%.

Tratamentos na mesma coluna seguidos pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

Aplicações seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente entre si, ao teste de Tukey a 1%.

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](#)