**DISTINÇÃO MORFOLÓGICA E ISOENZIMÁTICA
DE *Bipolaris* spp. E *Drechslera tritici-repentis* DO
TRIGO; ASPECTOS BIOQUÍMICOS DAS
INTERAÇÕES E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA.**

ERNA ELISABETH BACH

Lic. e Bel . Química

Mestre em Agronomia- Fitopatologia

Orientador: Prof. Dr. HIROSHI KIMATI

**Tese apresentada à Escola Superior
de Agricultura “Luiz de Queiroz”, da
Universidade de São Paulo, para a
obtenção do título de Doutor em
Agronomia - Área de concentração:
Fitopatologia.**

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Janeiro-1997

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Bach, Erna Elisabeth

Distinção morfológica e isoenzimática de *Bipolaris* spp. e *Drechslera tritici-repentis* do trigo; aspectos bioquímicos nas interações e indução de resistência / Erna Elisabeth Bach. - - Piracicaba, 1997.

150 p. : il.

Tese (doutorado) -- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1997.
Bibliografia.

1. Fungo fitopatogênico 2. Helmintosporiose do trigo (doença) 3. Imunização induzida 4. Relação planta-patógeno I. Título.

CDD 632.44
633.11

**DISTINÇÃO MORFOLÓGICA E ISOENZIMÁTICA
DE *Bipolaris* spp. E *Drechslera tritici-repentis* DO
TRIGO; ASPECTOS BIOQUÍMICOS DAS
INTERAÇÕES E INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA.**

ERNA ELISABETH BACH

Aprovada em: 20.03.97

Comissão julgadora:

Prof. Dr. HIROSHI KIMATI

ESALQ/USP

Prof. Dr. SÉRGIO FLORENTINO PASCHOLATI

ESALQ/USP

Prof. Dr. LUIS EDUARDO ARANHA CAMARGO

ESALQ/USP

Prof. Dr. NILTON LUIZ DE SOUZA

UNESP

Prof. Dr. BENEDITO DE CAMARGO BARROS

I.BIOLÓGICO

Prof. Dr. HIROSHI KIMATI
Orientador

**Aos meus filhos Edgar e Eric,
durante minha ausência.**

**Ao meu marido,
pelo apoio e carinho.**

**À minha mãe,
pela compreensão.**

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Meus sinceros agradecimentos,

Ao Prof. Hiroshi Kimati, pela orientação, apoio e incentivo dispensados a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Sergio Florentino Pascholati, pelas sugestões e apoio dispensados em Bioquímica e Fisiologia do Parasitismo.

Ao Dr. Benedito Barros, Pesquisador Científico do Instituto Biológico, pelo apoio no projeto e, colaboração prestada no fornecimento de sementes.

A Lucia Baldassi, Pesquisadora Científica do Instituto Biológico, pelo apoio e colaboração prestada na revisão dos originais.

A Elaine F. Andrade, Pesquisadora Científica do Instituto de Pesca, pelo auxílio prestado na confecção das fotos.

A Gilberto C. Grosso, Liza P. Segolin, estagiários da Seção de Bioquímica Fitopatológica do Instituto Biológico, pelo auxílio durante a execução dos trabalhos.

Aos colegas de Pós-graduação Antonio De Goes, Gisele Fantin, Edson Furtado, Antonio Carlos Maringoni e à memória de Lianna Teixeira pelo apoio e companheirismo durante os anos de curso.

A todo Corpo Docente e demais colegas do curso de Pós-graduação em Fitopatologia do Departamento de Fitopatologia da ESALQ pela acolhida.

Aos colegas da Seção de Bioquímica Fitopatológica do Instituto Biológico e a todos que, diretamente ou indiretamente, colaboraram para a execução deste trabalho.

Ao DSE (Deutsche Stiftung für Internationale Entwicklung - Fundação Alemã) representado por Dr. Bruno Schüler pela oportunidade de visitar Institutos da Alemanha trabalhando com trigo bem como para a participação no curso “Principios de planificação de atividades para a proteção vegetal integrada” realizado na Alemanha em 1996 com docentes Prof. Dr. Jürgen Kranz e Dr. Wolfgang Heyer.

Ao meu esposo, aos meus filhos e a minha mãe, pelos momentos de alegria, sacrifício, estima e dedicação que tornaram possível este trabalho.

A DEUS e a toda FORÇA OCULTA, pelo apoio em todos os momentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. Taxonomia e nomenclatura do fungo	04
2.2. Patogenicidade	04
2.3. Aspectos bioquímicos	07
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1. Patógeno	26
3.2. Plantas	26
3.3. Isolamentos de <i>Bipolaris</i> sp./ <i>Drechslera</i> sp.	27
3.4. Estudos sobre alguns aspectos da fisiologia e identificação dos fungos	28
3.4.1. Determinação do diâmetro médio da cultura e esporulação	28
3.4.2. Tamanho dos conídios	29
3.4.3. Eletroforese	30
3.5. Testes de patogenicidade	30
3.5.1. Preparação da suspensão de conídios	30
3.5.2. Inoculação das plantas	31
3.5.3. Extração e quantificação de proteínas, fenóis e enzimas	31
3.5.4. Extração de açúcares	33
3.6. Indução de resistência	34
3.6.1. Indutores	34
3.6.2. Patógenos	34
3.6.3. Indução de resistência em plantas de trigo IAC-24 e BH-1146	35
3.6.4. Indução de resistência sistêmica em plantas de trigo IAC-24 (suscetível aos fungos)	36
3.6.5. Avaliação da porcentagem de proteção induzida	36
3.6.6. Germinação de conídios nas folhas de trigo suscetíveis tratadas com indutor goma xantana	37
3.6.7. Germinação dos fungos “ <i>in vitro</i> ”	37
3.6.8. Extração e dosagem da clorofila total em plantas de trigo tratadas com goma xantana, infectadas e controles	38
3.7. Análise estatística	39

4. RESULTADOS	40
4.1. Estudos sobre alguns aspectos da fisiologia e identificação dos fungos	40
4.1.1. Observação dos isolados sobre as sementes	40
4.1.2. Determinação do diâmetro médio da cultura e esporulação	40
4.1.3. Tamanho dos conídios	40
4.1.4. Eletroforese	41
4.2. Testes de patogenicidade	42
4.3. Quantificação de proteínas totais, fenóis, atividade enzimática e identificação de isoenzimas presentes nos extratos de plantas de trigo sadias e infectadas	43
4.4. Quantificação de açúcares de plantas sadias e infectadas	44
4.5. Indução de resistência em plantas de trigo	44
4.5.1. Efeito da concentração da goma xantana	44
4.5.2. Efeito da proteção sistêmica em plantas de trigo por goma xantana	45
4.5.3. Efeito do conídio inativado na indução de proteção em plantas de trigo	45
4.5.4. Germinação dos conídios nas folhas de trigo tratadas com goma xantana	46
4.5.5. Germinação dos fungos “ <i>in vitro</i> ”	46
4.5.6. Quantificação de proteínas totais, fenóis, atividade enzimática e identificação de isoenzimas presentes nos extratos foliares das plantas de trigo controle, inoculada e induzida à resistência	46
5. DISCUSSÃO	88
5.1. Estudos sobre alguns aspectos da fisiologia e identificação dos fungos	88
5.2. Testes de patogenicidade	90
5.3. Alterações bioquímicas em plantas de trigo após infecção e, após tratamentos com goma xantana ou conídios inativados	92
5.4. Indução de resistência	101
6. CONCLUSÕES	104
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
Apêndice	133

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1- Observação dos isolados de <i>Bipolaris bicolor</i> (Bb) e <i>Bipolaris sorokiniana</i> (Bs) nas sementes.....	49
2-Crescimento de diferentes isolados dos fungos em meio de BDA - A) <i>Bipolaris bicolor</i> (Bb), B) <i>D. tritici-repentis</i> (Dtr), C) <i>B.sorokiniana</i> (Bs).....	50
3- Esporulação dos diferentes isolados fúngicos em meio BDA - <i>Bipolaris bicolor</i> (Bb), <i>D. tritici-repentis</i> (Dtr) e, <i>B.sorokiniana</i> (Bs).....	51
4- Dimensões dos conídios (µm) dos isolados de <i>Bipolaris bicolor</i> (Bb), <i>D. tritici-repentis</i> (Dtr) e, <i>B.sorokiniana</i> (Bs), desenvolvidos no meio BDA, após 10 dias.....	52
5-Eletroforese-esterase dos isolados <i>Bipolaris bicolor</i> (Bb), , <i>B.sorokiniana</i> (Bs) e, <i>D. tritici-repentis</i> (Dtr).....	53
6-Densitometria da eletroforese-esterase dos isolados <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i>	54
7- Diagrama eletroforético em gel de poliacrilamida dos isolados <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i>	55
8- Lesões em plantas de trigo variedade IAC-24 (suscetível), inoculadas com os isolados de <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i> , nas concentrações de 10^5 e 10^3 conídios/mL.	56
9- Lesões em plantas de trigo variedade BH-1146 (resistente), inoculadas com isolados de <i>Bipolaris bicolor</i> (Bb), , <i>B.sorokiniana</i> (Bs) e, <i>D. tritici-repentis</i> (Dtr).....	57
10-Quantificação de proteínas, fenóis e atividade enzimática da beta-1,3-glucanase em extratos foliares de plantas de trigo das variedades IAC-24 e BH-1146, sadias (S) ou inoculadas com <i>B. bicolor</i> (Bb), <i>B.sorokiniana</i> (Bs) e <i>Drechslera tritici-repentis</i> (Dtr).....	59
11-Atividade da peroxidase e da polifenoloxidase em extratos de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias (S) e inoculadas com <i>B. bicolor</i> (Bb), <i>B.sorokiniana</i> (Bs) e <i>Drechslera tritici-repentis</i> (Dtr).....	60

Figura	Página
12- Quantidade de glicose presente nos extratos de plantas de trigo das variedades IAC-24 e BH-1146 sadias (S) e inoculadas com <i>B. bicolor</i> (Bb), <i>B. sorokiniana</i> (Bs) e <i>Drechslera tritici-repentis</i> (Dtr).....	61
13- Expressão dos sintomas em plantas de trigo, variedade IAC-24, controle (inoculada com 10^3 conídios/mL) e tratadas com goma xantana (X), conídio inativado (Ci) e Tilt (T), 48 horas antes da aplicação do inóculo de isolados de <i>Bipolaris bicolor</i> na concentração de 10^3 conídios/mL.....	63
14- Expressão dos sintomas em plantas de trigo, variedade IAC-24, controle (inoculada com 10^3 conídios/mL) e tratadas com goma xantana (X), conídio inativado (Ci) e Tilt (T), 48 horas antes da aplicação do inóculo de isolados de <i>Bipolaris sorokiniana</i> na concentração de 10^3 conídios/mL.....	64
15- Expressão dos sintomas em plantas de trigo, variedade IAC-24, controle (inoculada com 10^3 conídios/mL) e tratadas com goma xantana (X), conídio inativado (Ci) e Tilt (T), 48 horas antes da aplicação do inóculo de isolados de <i>Drechslera tritici-repentis</i> na concentração de 10^3 conídios/mL.....	65
16- Quantificação de proteína presente nos extratos foliares de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e com resistência induzida por goma xantana (X), em vários intervalos de tempo ou suspensão de conídios inativado (CI).....	70
17- Quantificação de glicose presente nos extratos foliares de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e com resistência induzida por goma xantana (X), em vários intervalos de tempo ou suspensão de conídios inativado (CI).....	71
18- Quantificação de fenóis presente nos extratos foliares de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e com resistência induzida por goma xantana (X), em vários intervalos de tempo ou suspensão de conídios inativado (CI).....	72
19- Atividade da polifenoloxidase em plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas com Bb(<i>B. bicolor</i>), Bs (<i>B. orokiniana</i>), Dtr (<i>Drechslera tritici-repentis</i>) e, tratadas com goma xantana no intervalo de tempo (0h até 96 horas) e depois o patógeno, sendo as amostras colhidas 72 horas após a inoculação.....	73
20- Atividade da peroxidase em plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas com Bb(<i>B. bicolor</i>), Bs (<i>B. orokiniana</i>), Dtr (<i>Drechslera tritici-repentis</i>) e, tratadas com goma xantana no intervalo de tempo (0h até 96 horas) e depois o patógeno, sendo as amostras colhidas 72 horas após a inoculação.....	74

21- Atividade da enzima beta-1,3-glucanase em plantas de trigo IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas com Bb(<i>B. bicolor</i>), Bs (<i>B. orokiniana</i>), Dtr (<i>Drechslera tritici-repentis</i>) e, tratadas com goma xantana e conídio inativado (CI), no intervalo de tempo de 24,48 e 72 horas entre indutor e provocador, sendo as amostras colhidas 72 horas após a inoculação.....	75
22- Eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade IAC-24 sadia, infectadas com <i>Bipolaris bicolor</i> (Bb), <i>Bipolaris sorokiniana</i> (Bs), <i>Drechslera tritici-repentis</i> (Dt) e, tratadas com goma xantana (X-Bb, X-Bs, X-Dt) e com conídio inativado (Ci-Bb, Ci-Bs, Ci-Dt).	77
23 - Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade IAC- 24 sadias, inoculadas com <i>Bipolaris bicolor</i> e, tratadas com goma xantana ou conídio inativado.	78
24- Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade IAC- 24 sadias, inoculadas com <i>Bipolaris sorokiniana</i> e, tratadas com goma xantana ou conídio inativado.	79
25- Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade IAC- 24 sadias, inoculadas com <i>Drechslera tritici-repentis</i> e, tratadas com goma xantana ou conídio inativado.	80
26- Eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade BH-1146 sadia, infectadas com <i>Bipolaris bicolor</i> (Bb), <i>Bipolaris sorokiniana</i> (Bs), <i>Drechslera tritici-repentis</i> (Dt) e, tratadas com goma xantana (X-Bb, X-Bs, X-Dt). Setas indicam posição das bandas.....	81
27- Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade BH-1146 sadias, inoculadas com <i>Bipolaris bicolor</i> ou tratadas com goma xantana	82
28- Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade BH-1146 sadias, inoculadas com <i>Bipolaris sorokiniana</i> ou tratadas com goma xantana	83
29- Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade BH-1146 sadias, inoculadas com <i>Drechslera tritici-repentis</i> ou tratadas com goma xantana	84
30- Atividade da esterase (absorbância das bandas x área) de géis de poliacrilamida de plantas de trigo variedade IAC-24 sadia e inoculadas com <i>B. bicolor</i> (Bb), <i>B. sorokiniana</i> (Bs), <i>D.tritici-repentis</i> (Dtr), previamente tratadas com goma xantana (X) ou conídio inativado (CI).....	85
31- Atividade da esterase (absorbância das bandas x área) de géis de poliacrilamida de plantas de trigo variedade BH-1146 sadia e inoculadas com <i>B. bicolor</i> (Bb), <i>B. sorokiniana</i> (Bs), <i>D.tritici-repentis</i> (Dtr), previamente tratadas com goma xantana (X) ou conídio inativado (CI).....	86

LISTA DAS TABELAS

Tabela	Página
1) Relação dos isolados de <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i> obtidos de sementes e folhas de trigo, segundo a procedência.....	27
2) Observações resultantes das inoculações dos isolados <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i> em plantas de trigo resistentes (BH-1146) e suscetível (IAC-24).....	58
3) Indução de proteção em plantas de trigo (IAC-24) contra isolados de <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i> usando como indutor goma xantana em diferentes concentrações e diferentes intervalos de tempo.	62
4) Porcentagem de proteção em folhas de plantas de trigo IAC-24, com indução de resistência sistêmica por goma xantana, aplicada 48 horas antes da inoculação dos isolados de <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i>	66
5) Porcentagem de proteção em folhas de plantas de trigo IAC-24 com indução de resistência usando conídios inativados (CI) de <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i> aplicados 48 horas antes da inoculação dos mesmos patógenos não-inativados.....	67
6) Efeito da aplicação prévia da goma xantana na germinação de conídios, formação de apressórios e papilas em folhas de plantas de trigo variedade IAC-24, após a inoculação dos patógenos de <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i>	68
7) Porcentagem de germinação <i>in vitro</i> dos conídios de <i>Bipolaris bicolor</i> , <i>Bipolaris sorokiniana</i> e <i>Drechslera tritici-repentis</i> , tratados previamente com goma xantana ou propiconazole (Tilt).	69
8) Atividade da enzima β -1,3-glucanase em plantas de trigo IAC-24 sadias, inoculadas ou tratadas com goma xantana na primeira folha e provocador (patógeno) na segunda folha, após 48 horas.	76

Distinção morfológica e isoenzimática de *Bipolaris* spp. e *Drechslera tritici-repentis* do trigo; aspectos bioquímicos das interações e indução de resistência.

Autora: ERNA ELISABETH BACH
Orientador: Prof. Dr. HIROSHI KIMATI

Resumo

As doenças do trigo causadas por *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* têm sido as causas mais importantes da baixa produtividade, acarretando consideráveis perdas no rendimento e redução de proteínas nos grãos utilizados para produção de farinhas. O objetivo do presente trabalho foi diferenciar os isolados com base na morfologia e bioquímica, estudar os sintomas e analisar as alterações bioquímicas nas diferentes interações planta-patógeno, bem como a indução de resistência como método alternativo de controle das mesmas.

Morfologicamente os conídios dos isolados de *D. tritici-repentis* apresentaram-se significativamente maiores, em comprimento, do que os dos isolados de *B. sorokiniana*. Por sua vez, os isolados de *B. bicolor* apresentaram conídios mais largos do que os de *D. tritici-repentis* e *B. sorokiniana*. Análises eletroforéticas envolvendo esterases permitiram diferenciar os isolados de *Drechslera* sp. dos de *Bipolaris* sp.

Testes de patogenicidade em casa-de-vegetação demonstraram que o cultivar BH-1146 foi suscetível a todos os patógenos, na concentração de 10^5 conídios/mL e resistente na concentração de 10^3 conídios/mL. O cultivar IAC-24 foi suscetível a todos os patógenos, em ambas as concentrações, e para os isolados de *B. bicolor*, um patógeno de raiz, foram observadas manchas foliares.

Em plantas de trigo, a expressão da suscetibilidade pode ser alterada após o tratamento com indutores, antes da inoculação com o patógeno. Assim, plantas de trigo tratadas com conídios inativados pelo calor ou goma xantana, 48 e 72 horas antes da aplicação do patógeno, exibiram resistência induzida sistêmica.

O tratamento não afetou a germinação e nem a formação de apressório pelos conídios, sugerindo assim uma inibição após o processo de penetração. Sob condições de casa-de-vegetação foi obtido mais de 90% de proteção.

As atividades da peroxidase, polifenoloxidase, beta-1,3-glucanase e a concentração de proteínas e teor de fenóis foram analisados e quantificados nos extratos foliares de plantas de trigo inoculadas com todos os isolados fúngicos. A atividade da peroxidase e a quantidade de fenóis nos extratos de plantas infectadas do cultivar suscetível, foram maiores do que das plantas sadias. Em relação a atividade da polifenoloxidase, beta-1,3-glucanase e concentração de proteínas, os valores foram menores do que os encontrados nas plantas sadias.

Foram observadas também alterações metabólicas em plantas suscetíveis após a indução de resistência. Em relação as isoenzimas de esterase, atividades de beta-1,3-glucanase e polifenoloxidase e a concentração de proteínas estas tiveram aumento em relação as plantas sadias e infectadas. Os fenóis nas plantas tratadas tiveram redução em sua concentração. Essas alterações metabólicas induzidas nas plantas suscetíveis foram equivalentes as observadas nas plantas resistentes.

Finalmente, os resultados sugerem que a resistência é devida a um grupo de substâncias e enzimas envolvidas na defesa da planta.

Morphological and isoenzymatic distinction of *Bipolaris* spp. and *Drechslera tritici-repentis* isolated from wheat; biochemical aspects of interaction and induction of resistance.

Author: ERNA ELISABETH BACH

Adviser: Prof. Dr HIROSHI KIMATI

SUMMARY

Wheat diseases caused by *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici-repentis* are the most important causes for reduction in productivity and protein concentration level in grain used for meal. This work was developed to distinguish the isolates based upon morphological and biochemical analyses, symptoms on wheat plants and to study the biochemical changes in the host-pathogen interaction, as well as possible alternative methods of disease control.

Regarding fungal morphology, it was observed that the length of conidia of *D. tritici-repentis* isolates was significantly longer than those of *B. sorokiniana*. *B. bicolor* isolates exhibited larger conidia than *D. tritici-repentis* and *B. sorokiniana*. Based on electrophoretic analysis of esterase isoenzymes it was possible to differentiate isolates of *Bipolaris* sp. from *Drechslera* sp.

Under greenhouse conditions, wheat plants from cultivar BH-1146 were susceptible at a concentration of 10^5 conidia/mL and resistant at 10^3 conidia/mL. The cultivar IAC-24 was susceptible at both concentrations. The *B. bicolor*, a root pathogen, was able to cause tan spot in wheat leaves.

The expression of susceptibility could be changed in wheat plants after treatment with inducers before inoculation. Thus, plants treated with suspension of heat-killed conidia or xanthan gum, 48 or 72 hours before the challenger inoculation, exhibited a remarkable decrease in susceptibility, showing systemic induced resistance. The treatment with the inducers did not affect germination neither appressoria formation on the leaf, suggesting that inhibition occurred after the penetration process. Under greenhouse conditions, more than 90% protection was obtained in the plants.

The activities of peroxidases, polyphenol oxidases and beta-1,3-glucanases, and the concentration of proteins and phenols were observed in leaf extracts of wheat plants inoculated with the fungi. The content of phenols and peroxidase activity in extracts from infected plants of a susceptible cultivar were found to be higher than those of healthy plants. The activity of polyphenol oxidase, beta-1,3-glucanase and protein concentration decreased when compared with those of healthy plants.

Susceptible plants exhibiting induced resistance, changes in isoenzymes, activities of polyphenol oxidases, beta-1,3-glucanases and protein concentration. For phenols, the concentration was reduced when compared to healthy and infected plants. These metabolic changes in induced susceptible plants induced were equal to those observed in resistant plants.

The results suggest that resistance is due to a group of substances and enzymes involved in defense.

1.INTRODUÇÃO

No Brasil, várias doenças atacam a cultura do trigo, sendo a maioria dos patógenos veiculados pelas sementes, sobrevivendo na ausência do hospedeiro, sendo disseminados pela população de plantas e constituindo-se em focos primários de doenças (FORCELINI, 1991; MACHADO, 1982; MEHTA, 1978; REIS, 1982).

A doença mais prejudicial no trigo é conhecida como helmintosporiose, causada por fungos originariamente denominados genericamente de *Helminthosporium*. Existem diferentes espécies do gênero *Helminthosporium* Link. associadas a sementes de trigo (REIS, 1987) porém, no Brasil, *Helminthosporium tritici-repentis* (Died) Sham e, *Helminthosporium sativum* Pamn, King & Bakke são as duas espécies relatadas como patogênicas à cultura (LUZ, 1987; REIS & FORCELINI, 1993).

A helmintosporiose, ou mancha marrom do trigo causada por *Bipolaris sorokiniana* (Sacc) Shoem, originariamente denominado de *Helminthosporium sativum*, tem sido a doença mais prejudicial a essa cultura. A mancha amarela causada por *Drechslera tritici-repentis* (Died) Shoem. (originariamente como *Helminthosporium tritici-repentis*) também tem sido relatada ultimamente como problema à cultura, principalmente em cultivos de plantio direto onde a palhada na superfície do solo tem favorecido a sua sobrevivência. Sobre as manchas verifica-se micélio com abundante esporulação, cujos esporos são removidos facilmente pela chuva ou levados pelo vento (PICININI, 1990).

Dessa maneira, esses patógenos apresentam duas formas distintas de ataque: a primeira, ao afetar a absorção de nutrientes e água, que constitui a fase da doença em órgãos subterrâneos como raízes e coroa da planta, causando podridão; a segunda ao interferir no processo fotossintético, quando a infecção ocorre nos órgãos verdes como folhas, bainhas, colmos, glumas e sementes em formação onde, os grãos, ficam enrugados e chochos, apresentando mancha marron-escura, típica na região do embrião, denominada de “ponta-preta” (PICININI, 1990; REIS et alii., 1988; SANTOS et alii, 1990).

Estas doenças causam perdas econômicas que podem atingir até 30% da produção, além de infectar sementes que dependendo das condições climáticas em que foram produzidas, podem apresentar de 10 a 100% de infecção pelo fungo (NASSER, 1987). Em relação a sementes infectadas por *B. sorokiniana*, estas apresentam elevada taxa de transmissão que varia de 60 a 90% sendo, desta forma, responsável pelo estabelecimento de inúmeros focos iniciais da doença a campo (FORCELINI, 1991).

Outro fungo recentemente encontrado também sobre sementes de trigo foi o *Bipolaris bicolor* ou *Helminthosporium bicolor* (Mitra) Shoem causador do apodrecimento do coleóptile e escurecimento das raízes (MOREJON & MORAES, 1993).

Através de uma política agrícola e econômica com muitos incentivos, a área tritícola no Brasil passou de 977,8 mil ha em 1994/1995 para 1669,2 mil ha em 1995/1996 com expectativa de produção de 2981,3 mil toneladas para 1996 contra 1436,5 mil toneladas de 1994 (J.OESP.,1996). O incremento na produção é devido não só ao aumento da área cultivada, como também pelo cultivo das variedades de inverno e primavera, deixando

de se proceder uma rotação de cultivos (SANTOS et alii, 1996). Diante disso, a preocupação dos pesquisadores tem aumentado no tocante a disseminação de doenças devido a falta de rotação de culturas além, da qualidade do trigo para fins industriais, uma vez que, 70% do trigo é consumido na alimentação humana (EDER, 1994; EVERY et alii, 1995; MASCARENHAS, 1992; NG & BUSHUK, 1987).

Para o controle destas doenças diversas medidas são recomendadas, sendo uma delas o tratamento com fungicidas, que podem vir a provocar riscos para o meio ambiente e para a saúde do homem. Visando eliminar estes inconvenientes, um dos métodos preconizados é o da utilização de indutores de resistência.

Diante do exposto, o presente trabalho foi desenvolvido no sentido de contribuir para a diferenciação morfológica e bioquímica desses patógenos, estudar os sintomas e analisar as alterações bioquímicas nas diferentes interações trigo-*Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*, bem como verificar a possibilidade de indução de resistência como método de controle.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Taxonomia e nomenclatura do fungo

O fungo *Helminthosporium* foi descrito pela primeira vez por LINK em 1809 que se baseou na observação do *Helminthosporium velutinum*, sendo o gênero confirmado em 1821 por S.F. GRAY (SHOEMAKER, 1959).

HUGHES (1953) observou uma clara distinção na formação de conídios de algumas espécies do fungo que parasitavam espécies de gramíneas sendo formados no ápice do conidióforo enquanto que o tipo genérico produzia conídios no ápice e na lateral. Mais tarde, HUGHES (1958) apresentou uma relação de algumas espécies que foram mantidas no gênero de *Helminthosporium*, excluindo as espécies graminícolas.

SHOEMAKER (1959) estudando a taxonomia de alguns fungos graminícolas propôs uma distinção em relação à germinação de conídios em *Drechslera*, *Bipolaris* e *Helminthosporium*. O *Bipolaris* foi diferenciado do *Drechslera* por exibir germinação bipolar e conídios fusóides, enquanto que o *Drechslera* germina por um dos polos apresentando conídios cilíndricos. Dessa maneira, ambos os gêneros produziam conídios no ápice diferindo do *Helminthosporium* “sensu strictu” cujos conídios eram formados no ápice e nos lados dos conidióforos.

MUCHOVEJ et alii (1988) apresentaram em sua revisão os critérios para separar os gêneros *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*, através de chaves fornecendo características dos conídios. Em relação a *B. sorokiniana*, este foi assim classificado por possuir conídios curvos, fusiformes e elipsoidais, escuros, arredondados no ápice com aproximadamente 75 µm de comprimento, septos sem listras pretas e conidióforos usualmente sem ramificações. O fungo *B. bicolor* foi assim classificado por possuir conídios cilíndricos, com centro marrom-escuro, com hilo bastante visível, com células terminais mais claras, com diâmetros variáveis até 21µm e, conidióforos não-ramificados. Em relação a *Drechslera tritici-repentis*, recebeu esta classificação por apresentar conídios retos ou curvos, cilíndricos e célula basal truncada até o hilo. Em 1962, SHOEMAKER descreveu este fungo como *Drechslera tritici-vulgaris*, que mais tarde passou a ser denominado *D. tritici-repentis* (Died) Shoemaker.

ALCORN (1988) também descreve os critérios para a diferenciação de *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum* segundo tipo de conídio, hilo, germinação, tubo germinativo, e ontogenia do septo os quais vem de encontro com MUCHOVEJ et alii (1988).

Em relação a *Bipolaris sorokiniana*, a fase perfeita do fungo pertence a *Cochliobolus sativus* enquanto que do fungo *Drechslera tritici-repentis* é *Pyrenophora tritici-repentis* (PICININI, 1990).

2.2. Patogenicidade

Em trigo, as espécies do gênero *Helminthosporium* mais encontradas em sementes são *Helminthosporium tritici-repentis* (Died) Sham e, *Helminthosporium sativum* Pamm, King & Bakke, segundo LUZ (1987) e REIS & FORCELLINI (1993). O fungo *Helminthosporium sativum* também denominado *Bipolaris sorokiniana* é o principal patógeno encontrado nas sementes de trigo associados à podridão-comum-das-raízes e às manchas foliares (REIS et alii, 1988). O patógeno sobrevive, de uma safra a outra, nas sementes e nos restos de culturas de trigo, triticales e centeio, entre outras (NILSEN et alii, 1979; OLIVEIRA & BAIER, 1993, SANTOS et alii, 1996).

As folhas apresentam manchas que variam conforme a espécie infectante. A mancha marrom, mancha negra ou cinzenta é causada por *B. sorokiniana* e, na fase perfeita pelo fungo *Cochiliobolus sativus* enquanto que, a mancha amarela pela *D. tritici-repentis* e, na fase perfeita pelo fungo *Pyrenophora tritici-repentis*, sendo a mancha foliar mais importante em determinadas regiões (PICININI, 1990).

Em relação a *B. bicolor*, MOREJON & MORAES (1993) descreveram o aparecimento da espécie em sementes oriundas do Brasil. Entretanto, aqui desconhece-se o sintoma, porém em outros países foi observado o apodrecimento do coleóptile e escurecimento das raízes em diversas gramíneas e sobrevivência em sementes e restos de cultura.

O fungo *D. tritici-repentis* vem causando mancha foliar no trigo caracterizada por lesões necróticas circundadas com halo clorótico. As lesões vão desde pontos pequenos a grandes áreas (HOSFORD, 1971). O patógeno causa também lesão em outros cereais e gramíneas em adição ao

trigo (HOWARD & MORRALL, 1975; LINHARES & LUZ, 1996; PLATT et alii, 1977; SANTOS et alii, 1996).

LAREZ et alii (1986) e LOUGHMAN & DEVERALL (1986) demonstraram a infecção, do trigo suscetível, por *D. tritici-repentis* através da histologia e citologia. A penetração nas células epidérmicas do hospedeiro, ocorreu pela formação da hifa de penetração e do apressório sendo que, após a penetração, ocorreu a formação da vesícula e hifa secundária invadindo o mesófilo intercelular. A formação de papila foi observada em variedades resistentes e suscetíveis não sendo assim um mecanismo de defesa como ocorre com as gramíneas em geral (SHERWOOD & VANCE, 1980). Os mesmos autores sugeriram que um mecanismo molecular influencia a resistência ao patógeno, impedindo o seu desenvolvimento na planta resistente. Por outro lado, a resposta de suscetibilidade pode ser determinada pela produção de toxina, à partir do fungo, que coloniza o hospedeiro a partir do mesófilo intercelular (LOUGHMAN & DEVERALL, 1986).

2.3. Aspectos bioquímicos

Toda e qualquer planta se defende do ataque de um microrganismo invasor seja fungo, bactéria ou vírus. Na natureza, cada espécie vegetal tenta impedir o estabelecimento e o desenvolvimento da maioria dos organismos invasores, podendo assim mesmo, ser infectada por alguns deles. Daí, surge o conceito de resistência como regra e suscetibilidade como exceção.

Quando o sistema de defesa de uma planta está inoperante, o microrganismo se instala nos tecidos e se desenvolve, causando nos mesmos uma disfunção bioquímica e fisiológica traduzida pelo aparecimento dos

sintomas de uma doença. Neste caso, a planta é dita suscetível e o microrganismo invasor é patogênico. A planta pode também reconhecer imediatamente um invasor e reagir a sua presença mediante uma série de processos coordenados e dirigidos no tempo visando impedir ou bloquear o estabelecimento e desenvolvimento do mesmo, denominando-se de planta resistente (MORAES, 1991a; PASCHOLATI & LEITE, 1995).

O processo de interação entre uma planta e um microrganismo qualquer, que resulta na expressão de suscetibilidade ou resistência, reúne uma série coordenada de alterações bioquímicas, a nível celular e molecular. Estas alterações não são permanentes e não podem ser transmitidas geneticamente a progênie, a menos que as modificações induzidas sejam a nível do genoma da planta.

A planta suscetível pode adquirir o comportamento de uma planta resistente frente ao patógeno, por um determinado período, através do emprego de microrganismos e/ou seus metabólitos, processo este denominado de resistência induzida. Este processo é de grande importância para a agricultura em geral porque implica no emprego de métodos alternativos de controle mais econômicos para os agricultores e menos prejudiciais para o meio ambiente.

Para que os métodos de controle alternativo alcancem o máximo de eficácia e cheguem a ser economicamente interessantes, é necessário conhecer os mecanismos de interação a nível celular e molecular entre patógeno e planta e, sobretudo, o mecanismo de resposta da planta.

Entre os diversos fatores implicados no mecanismo de resistência são consideravelmente importantes os mecanismos de defesa ativados ou estimulados após a infecção (CASTRO & BACH, 1993; KOSUGE, 1969;

LITTLEFIELD, 1969; SRIVASTAVA, 1987; STAHMANN & DEMOREST, 1973).

Alterações bioquímicas associadas ao mecanismo de resistência.

Como regra geral, a presença de um microrganismo patogênico em um dado momento do desenvolvimento do hospedeiro, determina alterações em todos os seus processos metabólicos. A velocidade e o local onde essas alterações ocorrem, associadas à produção de substâncias antifúngicas, de enzimas e deposição de substâncias bloqueadoras junto ao local da infecção, podem ser os determinantes essenciais para impedir a ação do patógeno e assim interromper o processo de infecção, determinando assim, a resistência. Por parte dos patógenos, estes podem produzir ou excretar uma variedade de metabólitos secundários ou produtos com reação tóxica que podem causar alterações bioquímicas no hospedeiro (SCHEFFER, 1991; SRIVASTAVA, 1987).

Diante do exposto, alterações bioquímicas (relacionadas à concentração de compostos tais como proteínas, açúcares, fenóis, e atividades enzimáticas ligadas ao mecanismo de resistência do hospedeiro) podem ocorrer em plantas sadias, seguidas de infecção por fungos, bactérias ou vírus (BACH, 1989; KARN & KRUPINSKY, 1983; REUVENI & BOTHMA, 1985; SRIVASTAVA, 1987).

Em relação aos estudos envolvendo carboidratos, HORSFALL & DIMOND (1957) trabalhando com a interação helmintosporiose e sorgo observaram a importância do aumento da concentração de açúcar no tecido para o desenvolvimento do patógeno traduzindo em uma reação de suscetibilidade. Por sua vez, ISAWA & NISHIHARA (1975) e LAM (1985), trabalhando com *Lolium multiflorum* observaram a redução de carboidratos após infecção por ferrugem determinada por *Drechslera* sp.

e *Rhynchosporium* sp. O mesmo foi observado por MAINER & LEATH (1978) em alfafa e capim Sudão após a infecção com outros patógenos foliares. Em estudos envolvendo proteínas, SAMBORSKI et alii (1958) observaram que folhas de trigo infectadas com ferrugem, quando destacadas e mantidas em água, apresentavam decréscimo na concentração de proteínas enquanto que quando mantidas em solução de benzimidazol a proteína era resintetizada aumentando portanto sua concentração e desenvolvendo reação de resistência. BRIGHAM (1959), trabalhando com folhas de alfafa infectadas com *Cercospora* sp. observou que a concentração de proteínas também foi reduzida, sendo o mesmo observado com outros patógenos por MAINER & LEATH (1978) demonstrando que a diminuição na concentração de proteínas levava a suscetibilidade, enquanto o aumento a reação de resistência. YAMAMOTO et alii (1975) observaram também, na reação de resistência da interação de aveia e *Puccinia coronata avenae*, um aumento de proteínas quando comparado com plantas suscetíveis infectadas.

Em relação aos compostos fenólicos, GOODMAN et alii (1967) encontraram em plantas de trigo infectadas com *Puccinia graminis tritici*, maior concentração do que em plantas resistentes. Entretanto, SHREE & REDDY (1986) trabalhando com plantas de sorgo sadias e infectadas com *Exserohilum turcicum*, observaram redução na concentração de açúcares, fenóis, aminoácidos e proteínas em reação de suscetibilidade e, aumento destas substâncias em reação de resistência e nas plantas infectadas.

Em 1993, BACH et alii trabalhando com capim-elefante infectado com *Exserohilum turcicum*, observaram aumento na concentração de frutose e proteínas e, redução de fenóis e glicose em reação de resistência. Nas plantas com reação de suscetibilidade foi detectado o contrário, indicando que as alterações podiam ser responsáveis pela mudança da palatabilidade do capim para o animal.

Dentre as alterações bioquímicas e também as isoenzimáticas foram estudadas por vários autores (GUEDES,1988; MOZZETTI et alii,1995 e, REUVENI & BOTHMA, 1985). REUVENI & BOTHMA (1985), estudando o padrão isoenzimático da peroxidase em folhas de melão sadias e infectadas com mildio, observaram a ausência da isoenzima em folhas suscetíveis sadias e o aparecimento desta, após a infecção com *Sphaeroteca fuliginea*.. Por sua vez, GUEDES (1988), estudando as enzimas peroxidase, fosfatase ácida, esterase e polifenoloxidase em plantas de *Coffea arabica* compatíveis e incompatíveis com a ferrugem *Hemileia vastatrix*, observou o aparecimento de uma forte banda da isoenzima polifenoloxidase na interação incompatível, 13 dias após a infecção.

SRIVASTAVA (1987), estudando a interação *Brassica juncea* e *Macrophomina phaseolina*, observou alta atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase, em plantas resistentes infectadas quando comparada com plantas suscetíveis e sadias. Para o trigo, SOUTHERTON & DEVERALL (1990) analisaram a atividade de peroxidase e fenilalanina amonia-liase (FAL) em variedades infectadas com a ferrugem observando aumento na atividade da peroxidase e FAL durante a expressão de resistência em comparação com as plantas suscetíveis.

As alterações protéicas e enzimáticas de *Phaseolus vulgaris*, inoculado com o vírus 'Peanut mottle', foram estudadas por WAGIH (1993) que observou 4 bandas protéicas nos tecidos infectados que não existiam nos tecidos sadios. Em relação às enzimas foram encontradas alterações qualitativas com fosfatase ácida e alterações qualitativas e quantitativas com a peroxidase, todas após a infecção.

MOZZETTI et alii (1995), analisando as atividades enzimáticas em pimenteira e *Phytophthora* sp., encontraram que a atividade da FAL apresentava um aumento considerável, após a infecção, sendo considerada enzima marcadora para variedade resistente.

Indução de resistência

Na natureza as doenças de plantas devem ser controladas a fim de se evitar perdas nos vários cultivares de interesse econômico. Atualmente, empregam-se diferentes métodos clássicos de controle, sendo a utilização de produtos químicos um deles, porém o mesmo provoca riscos para o meio ambiente e para o homem devido a contaminação que causa. Desde o século 19 (CHESTER, 1933), ou mais precisamente nos últimos anos, tem sido dada grande atenção aos métodos alternativos de controle de doenças incluindo o controle biológico e a indução de proteção, também conhecida como resistência ou imunidade adquirida, resistência induzida ou ainda imunização. A resistência induzida é a resistência que depende de fatores presentes somente após o hospedeiro ter sido tratado com agentes bióticos, químicos ou físicos. Por definição, é o oposto da resistência

constitutiva, que depende de fatores pré-formados (KUC, 1982; SEQUEIRA, 1983; STERMER & HAMMERSCHMIDT, 1987).

O fenômeno de imunização de plantas contra seus patógenos já é conhecido há mais de 100 anos. Entretanto, os primeiros trabalhos em que foi verificada a possibilidade de se alterar a expressão genética de uma planta, a fim de torná-la menos suscetível, datam do início deste século. Entre esses, podemos salientar o pioneirismo do trabalho de RAY (1901), no qual o autor relata a “vacinação de plantas” com formas atenuadas de ferrugens, e o de BERNARD (1909) que trabalhou com bulbos de orquídeas tornando-as resistentes à *Rhizoctonia repens*, quando suas raízes foram previamente inoculadas com um isolado fraco do mesmo fungo. Posteriormente, ficou demonstrado que a resistência induzida nos bulbos de orquídea era resultante do acúmulo de certos compostos como o orquidol e o hircinol.

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

Assim, tem sido demonstrado, por inúmeros autores, que a resistência pode ser induzida mediante diferentes métodos, como: 1) preinoculação das plantas com raças avirulentas do patógeno (DEVERALL et alii, 1968; ELLISTON et alii, 1971, 1976 a, b, c; 1977; KUC et alii, 1975;

LITTLEFIELD, 1969; RAHE et alii, 1969; SKIPP & DEVERALL, 1973;); 2) inoculação com não-patógenos (CARUSO, 1977; DOLAN et alii, 1986; HAMMERSCHMIDT et alii, 1976); 3) inoculação com patógeno termoinativado ou sonificado com ultra-som (BELL & PRESLEY, 1969a,b; HEALE & SHARMAN, 1977; LOVREKOVICH & FARKAS, 1965; LOZANO & SEQUEIRA, 1970); 4) pré-tratamento das plantas com metabólitos ou filtrados de fungos ou bactérias fitopatogênicas ou outras substâncias (AYRES et alii., 1975a,b,c.; BEHARD et alii., 1973; EBRAHIM-NESBAT et alii., 1983; EBRAHIM-NESBAT & SCHONBECK, 1985; GUZZO et alii, 1993; KESSMANN et alii, 1994; NIELSEN et alii, 1994; UKNES et alii., 1993; VON ALTEN & SCHONBECK, 1981); e, 5) agentes abióticos como luz ultra-violeta, ferimentos, enxertos, entre outros (ANDEBRAHAN E WOOD, 1980; JENS & KUC, 1979; KUC, 1982; SEQUEIRA, 1979).

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

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

a) dependente do tempo, isto é, a resistência é estabelecida somente após um intervalo mínimo de tempo entre aplicação do indutor e a

inoculação com o patógeno, período em que a planta se prepara para combater o patógeno invasor. O tempo é uma função da concentração do inóculo utilizado tanto do indutor como do provocador, e influenciado pelo local de, e distância entre, inoculações iniciais e secundárias. A rapidez e a intensidade da resposta de proteção é um fenômeno quantitativo diretamente relacionado ao número de células do hospedeiro que entra em contato com o inóculo inicial. PASCHOLATI et alii (1986) observaram o fenômeno de resistência em plantas de melão quando eram tratadas com o indutor 24 horas antes da inoculação com o patógeno *Mycosphaerella melonis*. KUTSNER et alii (1993) observaram que utilizando o vírus da necrose do fumo (TNV) como indutor eram necessários 4 dias para que folhas de feijão apresentassem proteção contra *Uromyces phaseoli*;

b) dependente da temperatura, sendo a resistência sistêmica mais sensível a esse fator. Segundo MADAMANCHI & KUC (1991) plantas de pepino induzidas a resistência podem ser utilizadas com maior eficiência no inverno;

c) dependente da concentração indutor vs. provocador. PASCHOLATI et alii (1986) constataram que quanto maior a concentração de *M.melonis* (provocador), menor era a proteção em plantas de melão preinoculadas com *Helminthosporium carbonum*. GUZZO et alii (1993) verificaram que o aumento na concentração da goma xantana ou de glicose dos EPS, elevava até certo nível, a porcentagem de proteção em plantas de café contra *Hemileia vastatrix*;

d) transmitida por enxertia ou por cultura de tecido. HEDRICK et alii (1988) e LAWTON et alii (1983a) induziram proteção em cultura de células de feijão contra *Colletotrichum lindemuthianum* pelo seu

tratamento prévio com o elicitor extraído da parede celular do mesmo fungo;

e) natural e segura para o homem e ambiente, pois utiliza mecanismos de resistência inerentes às plantas, parecendo ser tão segura quanto a resistência desenvolvida por melhoramento.

Na literatura sobre imunização contra fungos, pode-se citar diferentes trabalhos utilizando interações como feijão/*C. lindemuthianum*, pepino/*C. lagenarium*, café/*H. vastatrix*, etc. RAHE et alii. (1969) mostraram que plantas jovens de feijão podiam ser protegidas contra a antracnose pelo tratamento prévio com uma raça, cultivar-não-patogênica, do *C. lindemuthianum* ou mesmo com outros microrganismos não-patogênicos ao feijão, num intervalo que variava de 24 a 72h antes da inoculação com o patógeno. ELLISTON et alii (1971, 1976 a,b,c) demonstraram que a resposta das plantas era sistêmica e que uma proteção semelhante podia ser conseguida se as plantas de feijão fossem tratadas com *C. lagenarium*, um fungo não patogênico ao feijão. ELLISTON et alii (1976a, 1977) ainda mostraram que mesmo aqueles cultivares de feijão suscetíveis a todas as raças do *C. lindemuthianum* se tornavam indistintamente resistentes, quando o indutor era o *C. lagenarium*. Os autores também estudaram as alterações metabólicas que ocorriam nos tecidos induzidos, antes e após a inoculação com o patógeno, observando a presença de fitoalexinas e compreendendo melhor a importância das enzimas-chaves ligadas ao metabolismo dos fenilpropanóides, como a fenilalanina amônia liase e a chalcona sintetase (CHS), possíveis controladores dos precursores de fitoalexinas.

O aumento da atividade enzimática e do acúmulo de fitoalexinas, também foi observado em tecidos não-induzidos, porém, somente após um considerável desenvolvimento do patógeno na área lesada. Dessa forma, pode-se deduzir que o acúmulo de fitoalexinas e de outros compostos fungitóxicos ocorreu tardiamente, sem qualquer efeito no bloqueamento do patógeno em sua fase inicial de infecção. LAWTON et alii (1983b) demonstraram que paralelamente ao aumento da atividade enzimática, havia um aumento na atividade dos mRNAs para essa enzima, o que os levaram a concluir que o controle da expressão de resistência ocorre ao nível de transcrição DNA-RNA ou mesmo anteriormente.

Em relação a plantas de pepino, melancia, melão, vários pesquisadores demonstraram a proteção contra patógenos, como bactérias, vírus, fungos, e inclusive parasitas obrigatórios, por uma inoculação prévia e controlada com *C. lagenarium* ou com o vírus da necrose do fumo (TNV). Verificou-se que a proteção era sistêmica e progressiva em relação ao tempo. Outro resultado importante foi em relação a folha tratada com indutor que sendo removida após certo período de tempo demonstrou que a presença do tecido induzido não era essencial para a continuidade do efeito protetor na planta. Isto veio sugerir que, após o desencadeamento do estímulo imunizante, deve haver a produção de um “sinal” a partir do sítio de tratamento e infecção, o qual transita por toda a planta, estimulando os demais tecidos, mesmo à distância (CONTI et alii, 1994; JENNS & KUC, 1979; JENNS & KUC, 1980; KESSMAN et alii, 1994; KUC et alii, 1975; LEEMAN et alii, 1995; RICHMOND et alii, 1979; SMITH, 1991; STRÖMBERG, 1995).

JENNS & KUC (1979) descreveram que este sinal originado no sítio de tratamento é transmissível via enxertia no caso de pepinos.

JENNS et alii (1979) e RICHMOND et alii (1979) observaram que a germinação e a penetração do *C. lagenarium* não foi afetada pelo tratamento com o indutor. COHEN & KUC (1980); KUC & TUZUN (1983) e TUZUN & KUC (1985a,b; 1986) demonstraram que plantas de fumo, a nível de laboratório e campo, apresentaram-se protegidas contra uma posterior infecção por *Peronospora tabacina*, quando previamente tratadas com o próprio patógeno.

MORAES et alii (1976) verificaram que uredosporos autoclavados de *H. vastatrix* induziam resistência em plantas de café quando empregados 96 horas antes da inoculação do mesmo patógeno. MARTINS et alii (1980) analisaram o efeito de bactérias não-patogênicas para o café, como indutores de resistência a *H. vastatrix*. Já, em 1985, os mesmos autores demonstraram que 6 das 10 espécies de fungos foram ativos na indução de proteção de plantas de café contra a ferrugem. Uma vez entre as bactérias, os bacilos se mostraram mais eficazes como indutores de proteção em plantas de café, e, como a produção de células bacterianas é de fácil obtenção, foram empregadas suspensões de *Bacillus megaterium*, *Xanthomonas manihotis* e *Bacillus subtilis* como indutores de proteção em plantas de café. As taxas de proteção foram de 92, 56 e 92% respectivamente, quando o indutor era aplicado 72 horas antes da inoculação com o patógeno. Também, quando o produto Thuricide-HP, constituído de solução aquosa de *Bacillus*, foi utilizado como indutor, 72 horas antes do patógeno, a taxa de proteção variou de 73 a 99% em relação a testemunha (ROVERATTI et alii, 1985).

Outro microrganismo utilizado na tentativa de induzir resistência foi a levedura *Saccharomyces cerevisiae*. LOPEZ (1991) demonstrou que a proteção de plantas de sorgo, contra o patógeno *Colletotrichum graminicola*, era efetiva por um período de 7 dias e, ROVERATTI (1989) demonstrou que a ferrugem do cafeeiro podia também ser controlada através do uso deste indutor. RONCATTO & PASCHOLATI (1993) observaram que ao se aplicar a levedura em sorgo a resposta de proteção aumentava. Em 1995, PICCININ comprovou a eficiência de *S. cerevisiae* no controle de fitopatógenos fúngicos e bacterianos em plantas de sorgo, maracujá e eucalipto cultivadas em casa-de-vegetação ou à campo.

Foi também observado que açúcares do tipo manose foram capazes de induzir resistência contra a ferrugem em plantas de café (GUEDES & BACH, 1988). Dessa maneira, procurou-se extrair exopolissacarídeos (EPS) da cápsula bacteriana de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* e *Xanthomonas campestris* pv. *citri* e utilizá-los como indutores em plantas de café. Observou-se a capacidade da indução de proteção que provou ser sistêmica. Para uma possível aplicação no campo foi analisado, em laboratório, o efeito da goma xantana industrial, proveniente da Firma Kelco (USA) e experimentalmente obtida da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, demonstrando-se ser um indutor capaz de induzir resistência em plantas de café contra *H. vastatrix* (GUZZO et alii, 1993).

Na tentativa de se explicar porque certas variedades de plantas eram resistentes enquanto outras se mostravam suscetíveis, vários autores se dedicaram a pesquisar a existência de substâncias comuns em variedades resistentes que pudessem ser responsabilizadas pelo

efeito inibidor do patógeno, estudando assim os mecanismos e as alterações bioquímicas envolvidos na resposta de resistência induzida. Os inúmeros trabalhos sobre o tema demonstram a preocupação com o assunto: LAWTON et alii (1983a) induziram proteção contra *C. lindemuthianum* em cultura de células de feijão pelo seu prévio tratamento com as enzimas elicitoras fenilalanina amônia-liase e chalcona sintase, extraídas da parede celular e que estariam provavelmente implicadas nessa proteção. GUEDES & BACH (1988) induzindo resistência, em plantas de café contra *H. vastatrix*, através da aplicação de manose, observaram através de eletroforese, o aparecimento de bandas de proteína. Em plantas de café tratadas apenas com manose observou-se a presença de uma banda com $R_m=0,50$ e peso molecular entre 50.000 e 60.000 daltons enquanto que as folhas após a inoculação com o fungo da ferrugem, não apresentaram esta banda.

Em relação às alterações de proteínas, vários pesquisadores demonstraram aumentos em algumas interações compatíveis e incompatíveis: TANI & YAMAMOTO (1979) demonstraram o aumento da síntese de proteínas durante 14-20 horas após inoculação na interação incompatível de aveia e *P. coronata* f.sp. *avenae*, mas não na interação compatível. PURE et alii (1980) encontraram grandes quantidades de polipeptídeos “*in vitro*” por polissomos isolados de folhas de trigo suscetível inoculadas com *Puccinia graminis*, 3 dias após a inoculação.

Tem sido demonstrado que o aumento da síntese de proteína na interação incompatível de certos sistemas hospedeiro-parasita reflete na biossíntese de enzimas e de outras proteínas envolvidas na defesa da planta. Entre as proteínas estudadas nas interações destacam-se as proteínas-RP.

O grupo de proteínas denominado de b proteínas ou proteínas-RP (relacionadas a patogênese) foi descrito pela primeira vez em plantas de fumo resistentes com reação de hipersensibilidade ao vírus TMV. Essas proteínas codificadas no hospedeiro têm sido detectadas em muitas plantas em resposta a presença de patógenos (viróides, vírus, bactérias, fungos) e também a estresse. WAGIH & COUTTS (1982) propuseram que proteínas-RP resultam de alterações no metabolismo de proteínas no hospedeiro determinadas por doenças ou estresse. A presença de proteínas-RP similares indica a importância das mesmas em desencadear as reações de resistência nas plantas.

Muitas das proteínas-RP encontradas na batata foram descritas como quitinases e β -1,3-glucanases (KEMBRINK et alii, 1988) e, em tomate como endoproteinase alcalina (VERA & CONEGERO, 1988), e no fumo designadas como R e S, apresentando homologia a taumatina.

FISCHER et alii (1989) separaram em gel de poliacrilamida bidimensional proteínas solúveis do fluido intercelular de folhas de tomateiro infectadas com *Phytophthora infestans*. Dois grupos de proteínas, uma básica ($pI > 8$) e outra ácida ($pI < 6$), foram distinguidos, sendo algumas identificadas como glicoproteínas. Somente duas proteínas P14 e P70 foram purificadas e as seqüências parciais de seus aminoácidos analisadas, além de terem sido empregadas na imunização de coelhos. Para a P14

foi encontrada homologia das seqüências dos aminoácidos nas posições 24 e 43 enquanto para P70 não foi encontrada nenhuma homologia. Pela serologia não foram observados determinantes antigênicos comuns. Os antisoros contra P70 reconheceram as proteínas próximas da P70, sendo todas provavelmente glicoproteínas. Em relação a outras proteínas como P31 e P36 na serologia foram relacionadas com β -1,3-glucanase.

CHRIST & MOSINGER (1989) analisaram as RP-proteínas do fluído intercelular de folhas de tomateiro infectadas por *P. infestans* comparando-as com as proteínas das folhas controles ou não infectadas das plantas tratadas. As folhas não infectadas das plantas tratadas apresentaram alteração no padrão de proteínas indicando o efeito sistêmico da infecção. Entretanto, as folhas infectadas após 5, 10 e, 15 dias da inoculação, apresentaram concentração maior de algumas proteínas do que nas controles.

BRYNGELSSON & GREEN (1989) isolaram e caracterizaram uma proteína relacionada a patogênese em cevada e raça incompatível de *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*. A proteína Hv-1 foi isolada de tecido necrozado, purificada por métodos bioquímicos e analisada por SDS-PAGE, permitindo, assim observar que a proteína Hv-1 apresenta PM 19Kd e ponto isoelétrico de 3-4. A seqüência apresenta 28 aminoácidos com 48% de homologia com N-terminal de osmotina e taumatina.

YE et alii (1990) inoculando folhas de fumo da cultivar Ky14 com TMV e incubando-as a 23°C por 3-12 dias, observaram necrose

localizada nas folhas não-inoculadas enquanto que, plantas mantidas a 28°C após a inoculação, desenvolveram sintomas de mosaico. Proteínas-RP e atividades da peroxidase, β -1,3-glucanase e quitinase aumentaram sistemicamente nas plantas inoculadas a 23°C. Quando folhas inoculadas com TMV foram removidas 12 dias após inoculação a 23°C e logo após submetidas ao provocador TMV e/ou *Peronospora tabacina*, a indução de resistência foi observada.

STINTZI et alii (1991) caracterizaram uma proteína-RP básica extraída de folhas de fumo var. Samsun NN infectada com vírus TMV. Foram observadas 10 proteínas-RP identificadas e designadas como proteínas-RP 1a,1b,1c,2,N;O,P,Q,R e S. KAUFMANN et alii (1987) demonstraram que cinco das enzimas foram hidrolíticas; P e Q foram quitinases e; banda 2,N e O apresentaram atividade β -1,3-glucanases. Dessa maneira, STINTZI et alii (1991) observaram que proteínas R e S foram serologicamente relacionadas a proteínas tipo taumatina, assim denominadas devido ao alto nível de homologia com taumatina.

BENHAMOU et alii (1991) trabalhando com citoquímica localizaram os sítios de acúmulo da PR-14 em tecidos de raízes de tomateiro infectadas com *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, nos espaços intercelulares. As proteínas extracelulares como quitinases e β -1,3-glucanases estavam associadas com as paredes celulares do patógeno.

FLEMING et alii (1991) analisaram o espaço intercelular de folhas de beterraba infectadas com o vírus da necrose do fumo. No seu extrato observaram em gel de poliacrilamida bandas proteicas, 12 ácidas (D1-D12) e 8 básicas (R1-R8). As proteínas estão ausentes ou presentes em

pequena quantidade nas plantas sadias. Em relação a degradação por tripsina e quimiotripsina todas as proteínas foram resistentes. Tratamento com 3mM de salicilato de sódio induziram o aparecimento de todas as bandas básicas e somente 7 ácidas. O resultado foi diferente na indução por infecção por TNV sugerindo que um mecanismo regulatório poderia estar envolvido. No caso de fumo foram encontradas diferenças nos níveis de mRNA e proteínas-RP induzidas por infecção viral e salicilato de sódio.

BRONNER et alii (1991) demonstraram que *Aceria cladophthirus* em *Solanum dulcamara* L. (variedade resistente) produzia resposta de hipersensibilidade acompanhada por acúmulo de proteínas-RP e indução das atividades da quitinase e β -1,3-glucanase. Analisando os extratos de folhas sadias e infectadas após 12 horas, 1 e 3 dias, em SDS-PAGE, observou-se 10 bandas de proteínas nos extratos infectados. Esses resultados foram comparados com os de folhas sadias destacadas e não-destacadas. Com folhas sadias não-destacadas, não foi observada nenhuma presença de banda enquanto que, nas folhas destacadas foi observada a presença de 3 bandas somente após 3 dias, tendo sido associadas ao estresse de água. Foi também observado em plantas infectadas um aumento na atividade de quitinase e β -1,3-glucanase. Existiu uma correlação entre o tempo de desenvolvimento das lesões e o aumento do nível de enzimas, o que sugere que algumas das proteínas-RP possam ser quitinases e β -1,3-glucanases. Os autores concluíram que as enzimas podem vir a contribuir na resposta de defesa das plantas contra galhas.

PAN et alii (1991) extraíram enzimas com atividade de β -1,3-glucanase de plantas de fumo induzidas e inoculadas com *P. tabacina* e analisaram suas isoenzimas. Através da análise eletroforética determinaram 4 isoenzimas (G1, G2, G3, e G4), correlacionando-as com a indução de resistência. Observaram que G1 e G2 foram as responsáveis pela indução de resistência pois só apareciam nas plantas induzidas e, as isoenzimas G3 e G4 foram correlacionadas com a infecção.

COHEN et alii (1994) verificaram que o composto químico beta-aminobutírico induziu, em plantas de tomate infectadas com *Phytophthora infestans*, o acúmulo, em altos níveis, de três proteínas: P14a, β -1,3-glucanase e quitinase. A proteção dessas plantas contra a requeima foi de 92%, permitindo concluir-se que as proteínas-RP podem estar envolvidas na resistência adquirida.

Entretanto, no trabalho de NIELSEN et alii (1994) ficou demonstrado que o ácido 2,6 dicloroisonicotínico induziu resistência em plantas de beterraba contra *Cercospora beticola* mas, as proteínas-RP do tipo quitinases e β -1,3-glucanases não estavam associadas a resistência, havendo necessidade de estudos adicionais para se identificar o mecanismo responsável pela indução.

Dessa maneira, através dos vários trabalhos pode-se observar que embora a resistência induzida seja um fenômeno não-permanente e não-hereditário, é de extrema importância para proteger a planta nos períodos críticos mais favoráveis a ocorrência da doença. É necessário ainda considerar que o efeito sistêmico da indução de resistência não é específico podendo ser efetivo tanto contra fungos, bactérias, vírus ou viróides.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido nas dependências da Seção de Bioquímica Fitopatológica do Instituto Biológico em São Paulo.

3.1. Patógeno

Os fungos *B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis*, foram isolados diretamente de folhas e sementes mantidas em crescimento em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) ou preservados em água destilada esterilizada (Tabela 1).

3.2. Plantas

As sementes de trigo das variedades IAC-24 e BH-1146, foram fornecidas pelo Instituto Agronômico de Campinas, sendo semeadas 6 sementes por saco com terra e mantidas em casa-de-vegetação à temperatura ambiente, até a época de sua utilização. Foram utilizadas plantas de trigo no estágio nº 5 do perfilhamento ou nº 6 da elongação (segundo escala modificada de FEEKES-LARGE) conforme LARGE (1954).

TABELA 1: Relação dos isolados de *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* obtidos de sementes e folhas de trigo, segundo a procedência.

Nº isolado	Fungo	Procedência
Bb 1	<i>B. bicolor</i>	sementes Piracicaba,SP
Bb 2	<i>B. bicolor</i>	sementes Piracicaba,SP
Bb 3	<i>B. bicolor</i>	sementes Dourados Embrapa, Mato Grosso do Sul
Bb 4	<i>B. bicolor</i>	sementes IAC 24 Campinas,SP
Bs 1	<i>B. sorokiniana</i>	semente Piracicaba,SP
Bs 2	<i>B. sorokiniana</i>	semente Piracicaba,SP
Bs 3	<i>B. sorokiniana</i>	semente Dourados Embrapa, Mato Grosso do Sul
Bs 4	<i>B. sorokiniana</i>	semente Cati (010-032PT) / Campinas,SP
Bs 5	<i>B. sorokiniana</i>	semente Cati (001Ba)/ Campinas,SP
Bs 6	<i>B. sorokiniana</i>	semente Cati (004-026PT)/ Campinas,SP
Bs 7	<i>B. sorokiniana</i>	sementes Cati (003-025 PT) / Campinas, SP
Bs 8	<i>B. sorokiniana</i>	sementes IAC 24/ Campinas,SP
Bs 9	<i>B. sorokiniana</i>	sementes Anahuac Campinas,SP
Bs 10	<i>B. sorokiniana</i>	semente BR 43 Passo Fundo/ RS
Bs 11	<i>B. sorokiniana</i>	semente IAPAR 35, Paraná
Bs 12	<i>B. sorokiniana</i>	sementes Anuahac Piracicaba,SP
Bs 13	<i>B. sorokiniana</i>	sementes IAC 24 Campinas,SP
Dtr 1	<i>D. tritici-repentis</i>	folha de trigo Passo Fundo RS
Dtr 2	<i>D. tritici-repentis</i>	folha de trigo IA -RS
Dtr 3	<i>D. tritici-repentis</i>	folha de trigo IB -RS
Dtr 4	<i>D. tritici-repentis</i>	folha de trigo IC -RS

3.3. Isolamentos de *Bipolaris* sp. / *Drechslera* sp.

Os isolamentos foram realizados à partir de sementes e folhas de trigo. As sementes foram colocadas em placas de petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada esterilizada e, mantidas 24 horas sob luz. Os conídios desenvolvidos, observados através do microscópio estereoscópico, foram transferidos para ágar-água 2% em placas de Petri. Em relação às folhas, estas foram colocadas em placas de petri, em câmara úmida, a temperatura ambiente durante 24-48 horas sob luz constante. Os conídios observados foram igualmente transferidos para placas contendo ágar-água 2%.

Após 10 dias do desenvolvimento da cultura, o fungo foi repicado para placa de Petri contendo meio BDA. As culturas foram preservadas em tubos contendo meio inclinado de BDA e água destilada estéril, mantidas a temperatura ambiente (FIGUEIREDO, 1967; PICCININ & PASCHOLATI, 1996).

3.4. Estudos sobre alguns aspectos da fisiologia e identificação dos fungos

3.4.1. Determinação do diâmetro médio da cultura e esporulação

Foram utilizadas placas de petri de 10cm de diâmetro e 2 cm de altura contendo o meio de BDA na razão de 20 mL por placa. As repicagens foram feitas utilizando-se como inóculo conídios com 8 dias de crescimento no próprio meio de BDA. Com auxílio de uma pipeta Pasteur bem fina, um conídio foi transferido para o centro de uma outra placa empregando-se no total seis placas para cada isolado.

As placas, assim preparadas, foram colocadas em câmara tipo BOD com temperatura controlada de $25 \pm 1^\circ \text{C}$ e luz constante. Para o cálculo, do diâmetro médio da cultura, foram feitas leituras diárias sendo iniciadas imediatamente um dia após a repicagem. Para a medida da esporulação, estabeleceu-se um período de 10 dias de cultivo. Os conídios foram removidos do substrato com auxílio de 5 mL de água destilada esterilizada contendo 0,05% de Tween 20 (poli-oxietileno sorbitan monolaurato, Sigma Chemical Co.), filtrados através de gaze para a eliminação dos restos de meio de cultura e de micélio e contados no hematócrito (Improved Neubauer 1/400 SQ. 1/10 mm deep ultraplane).

3.4.2. Tamanho dos conídios

Discos de micélio dos isolados de *Bipolaris* sp./*Drechslera* sp. foram repicados para placas com BDA e mantidos à temperatura controlada de $25 \pm 1^\circ \text{C}$, sob luz fluorescente constante, durante 10 dias. Após esse período, os conídios foram removidos do substrato com auxílio de 10 mL de água destilada esterilizada contendo 0,05% de Tween por placa. Em seguida, a suspensão foi filtrada através de gaze esterilizada e, colocada em lâminas de microscópio para verificação da origem do hilum e determinação do tamanho médio dos conídios. Estas observações foram feitas em microscópio Leitz-SM-Lux, com ocular micrométrica, e sob aumento de 400X (objetiva 40, ocular 10X- Periplan GF 10X Leitz-Wetzlar). Foram realizadas 50 medidas para cada isolado em 3 repetições, medindo-se a maior e a menor dimensão, as quais foram consideradas como comprimento (C) e largura (L), respectivamente.

3.4.3. Eletroforese

As proteínas dos isolados foram extraídas à partir do micélio segundo metodologia de BACH (1991), sendo padronizada uma concentração protéica de 300 µg nos 22 µL para cada amostra. Os extratos protéicos foram colocados na placa de gel de poliacrilamida na concentração de 5% de AA/BIS (acrilamida/bis-acrilamida) em tampão Tris-glicina pH=8,2 0,125M e, submetidos a corrida eletroforética em aparelho de eletroforese marca LKB em corrente constante de 10 mA. A coloração realizada foi para a enzima esterase que consistiu em incubar o gel por uma hora em solução de 50mg de “Fast red TR” em 100 ml de tampão fosfato 0,1M (pH=6,5) adicionado de 2 ml de solução de 1% de naftil acetato em 50% de acetona (BACH, 1989). A seguir, os géis foram secos no aparelho da BIORAD (modelo 583) e analisados por densitometria no Densitômetro BIORAD-modelo GS-700, acoplado a computador com o programa de Analista Molecular.

3.5. Testes de patogenicidade

3.5.1.Preparação da suspensão de conídios

Após 10 dias de crescimento, os conídios, foram removidos da superfície do substrato BDA, com o auxílio de uma alça de vidro, para 5 mL de água destilada esterilizada acrescida de 0,05% de Tween 20. Após filtração em gaze os mesmos foram contados em hematocitômetro (Improved Neubauer 1/400 SQ.MN. 1/10 mm deep ultraplane) e a concentração ajustada para 10^5 , 10^4 e 10^3 conídios/mL.

3.5.2. Inoculação

Dezesseis plantas de cada variedade (8 plantas / repetição) foram inoculadas com isolados de cada um dos fungos (segundo Tabela 1), em duas concentrações. As suspensões foram aplicadas com o auxílio de um aspersor de vidro, tendo como agente propulsor o gás nitrogênio (N₂), numa pressão de 0,25 bars a 40 cm de distância das folhas, visando manter a maior homogeneidade de dispersão da suspensão de conídios na folha.

Após a inoculação, as plantas foram incubadas por 12 horas em câmara úmida (100% UR), no escuro a 22°C e, em seguida, transferidas para casa-de-vegetação sendo mantidas sob condições de temperatura e luminosidade ambiente, até o aparecimento das lesões. A avaliação foi efetuada com base na presença ou não de lesões.

Após 4 dias da inoculação (já com início do aparecimento das lesões), as folhas dessas plantas foram coletadas e submetidas a extração e quantificação de proteínas, fenóis, açúcares e glucanases.

3.5.3. Extração e quantificação de proteínas, fenóis e enzimas

Foram realizadas duas extrações distintas, uma com tampão fosfato (envolvendo proteína total, fenóis, enzimas peroxidase e polifenoloxidase “*in vitro*” e eletroforese envolvendo esterase) e outra com tampão acetato (para determinar a atividade da enzima β -1,3-glucanase).

Para a extração em tampão fosfato foram triturados 3 g de tecido foliar de plantas de trigo sadias ou inoculadas, ou ainda, tratadas com goma xantana, após diferentes intervalos de tempo (item 3.6.3), no gelo em presença de 30 mL de tampão fosfato 0,1M (pH=7,0). Os extratos foram mantidos em geladeira por 30 minutos e centrifugados a

8.000g por 15 minutos a -2°C . O teor de proteínas totais foi então quantificado pelo método de Lowry (LOWRY et alii, 1951) e, o de fenol através do uso do reagente de Folin-Ciocalteau (SWAIN & HILLIS, 1959).

A atividade da peroxidase foi determinada usando o método descrito por MOERSCHBACHER et alii (1986) que consistiu em adicionar em 50 μL do extrato protéico, 2,95mL de tampão fosfato 0,1M (pH 7,0) contendo 0,9 μM de guaiacol e 0,36 μM de H_2O_2 . A reação foi medida em absorbância a 470nm no espectrofotômetro Pye Unicam. Os resultados foram expressos em unidades de absorção/min/mg de proteína.

A atividade da polifenoloxidase foi determinada usando o método descrito por SRIVASTAVA (1987) em que foram misturados 2 mL do extrato em 1 mL de solução 0,01M de catecol em tampão fosfato 0,1M (pH 6,5). A absorbância foi medida a 495nm no espectrofotômetro Pye Unicam e os resultados expressos em unidades de absorção/min/mg de proteína.

A eletroforese em placa de gel de poliacrilamida foi realizada na concentração de 7% (Acrilamida/Bis-acrilamida) em tampão Tris-glicina 0,125M (pH 8,2), utilizando extratos protéicos previamente dializados contra o tampão Tris-glicina e as concentrações acertadas para 400 μg em equivalente de soro albumina bovina (SAB), para 22 μL de amostra. A corrida eletroforética, coloração e identificação foi realizada segundo o item 3.2.2.3.

Em relação a extração em tampão acetato, foram triturados 1 g de folhas de trigo saudáveis, inoculadas e tratadas com goma xantana (segundo item 3.2.4.3.), com 10 mL de tampão acetato 0,05M (pH 5,0), em banho de gelo. Após 30 minutos em geladeira, os extratos foram filtrados,

centrifugados a 8.000g durante 15 minutos a -2°C , estocados a 4°C e as atividades das enzimas quantificadas segundo os métodos de LEVER (1972), VAN HOOFF et alii (1991) e WYATT et alii (1991). A atividade da enzima β -1,3 glucanase foi avaliada pelo aumento dos grupos redutores de açúcares, segundo LEVER (1972), usando como substrato laminarina (Sigma). Na reação empregou-se tampão acetato de sódio 50mM (pH 5,0), acrescido de 0,1% de laminarina na concentração final de 0,3mL. Da mistura mantida a 37°C por 30 minutos foram retirados 30uL aos quais foram adicionados 1,5mL de hidrazida do ácido p-hydroxibenzoico (Sigma), na concentração de 0,5%. As amostras foram aquecidas a 100°C por 10 minutos, resfriadas em temperatura ambiente e submetidas a leitura em espectrofotômetro, em absorbância de 410nm, utilizando-se a glicose como padrão. Uma unidade do grupo redutor foi definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μ mol de glicose em 1 minuto a 37°C na presença de uma amostra de 0,3mL com laminarina 0,1% (VAN HOOFF et alii, 1991). Paralelamente, foi medida a concentração de proteínas pelo método de LOWRY et alii (1951), correlacionando a atividade enzimática com μg de SAB.

3.5.4.Extração de açúcares

Um grama de folhas de plantas de trigo sadias, inoculadas e tratadas com goma xantana (segundo item 3.6.3.), foi picado, colocado em 10mL de etanol 80% fervente e mantido em ebulição por 5 minutos. O material foi então triturado em Ultra-turrax por 2 minutos, à velocidade máxima, e reextraído no mesmo etanol por 2 minutos sob aquecimento. Logo após, o material foi filtrado em funil de Buchner com papel de filtro Whatmann

nº 42. A suspensão foi evaporada em cápsula de porcelana e o volume retomado com água na concentração de 1 g de peso fresco (PF)/mL. Os extratos foram submetidos ao teste de Somogyi, a fim de se determinar os açúcares redutores em equivalente de μg glicose presentes em 1 mL de extrato correspondente a 1 g de peso fresco de folhas (SOMOGYI, 1945).

3.6. Indução de resistência

3.6.1. Indutores

Foram utilizados dois indutores sendo um a goma xantana comercial ou Keltrol-F (Firma Kelco USA- “Food grade xanthan gum product”) e outro a suspensão de conídios (10^5 conídios/mL) inativado na autoclave (120°C) por 30 minutos. A goma xantana foi utilizada na forma de pó nas concentrações de 0,25 mg/mL e 0,50 mg/mL, diluídas em água.

3.6.2. Patógenos

Foram escolhidos somente 3 isolados, baseando-se na esporulação maior e presença de sintomas (manchas foliares) sendo cada um representante dos fungos *B. bicolor* (Bb4), *B. sorokiniana* (Bs4) e *D. tritici-repentis* (Dtr2) (Tabela 1). As suspensões foram utilizadas na concentração de 10^3 conídios/mL.

3.6.3. Indução de resistência em plantas de trigo IAC-24 e BH-1146.

Foram utilizadas dez plantas para cada isolado e cada um dos indutores (goma xantana e suspensão de conídios inativado), em três repetições. Inicialmente, as folhas foram aspergidas com os indutores usando um aspersor de vidro, utilizando-se o gás nitrogênio como agente propulsor, com pressão de 0,25 bars. As plantas controles foram aspergidas com água.

Após 24, 48, 72 e 96 horas, sob condições de temperatura ambiente e fotoperíodo de 12 horas (luz fluorescente $7,35 \text{ W m}^{-2}$), as folhas foram inoculadas, por aspersão, com as suspensões de conídios dos isolados. Durante as primeiras 24 horas após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida (100% UR), temperatura ambiente e fotoperíodo de 12 horas. Em seguida, o material foi transferido para casa-de-vegetação e mantido sob condições de temperatura e luminosidade ambiente.

A proteção das plantas foi avaliada 4 dias após a inoculação do patógeno, com base no número de lesões / cm^2 / 50 folhas e, o desenvolvimento do fungo, com base na germinação e formação de apressórios. Também foram feitas coletas de folhas dos tratamentos com 0,50 mg/mL de goma xantana para extração em tampão fosfato e tampão acetato (seg. item 3.5.3.), a fim de se quantificar enzimas, fenóis, proteínas, açúcares e a realização de eletroforese para esterase.

3.6.4. Indução de resistência sistêmica em plantas de trigo IAC-24 (suscetível aos fungos)

Grupos de 10 plantas de trigo, por isolado e em 5 repetições, receberam somente na 1ª folha o indutor goma xantana, na concentração de 0,5 mg do pó/mL, aplicado de baixo para cima, com auxílio de um pincel, em ambos os lados desta folha. Nas plantas controle, o indutor foi substituído por água destilada esterilizada.

Após 48 horas, sob condições de temperatura ambiente e fotoperíodo de 12 horas (luz fluorescente), as outras folhas foram inoculadas com suspensão de conídios. Durante as primeiras 24 horas após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida (100% UR), a temperatura ambiente e fotoperíodo de 12 horas (luz fluorescente). Em seguida, o material foi transferido para casa-de-vegetação e mantido sob condições de temperatura e luminosidade ambiente. A proteção foi avaliada com base no número de lesões / cm².

3.6.5. Avaliação da porcentagem de proteção induzida

Das dez plantas foi retirada uma folha / planta e, de cada folha, da parte central, uma área de 4 x 0,3 ou 5 x 0,2 cm, para determinação do número de lesões. As lesões consideradas foram as manchas necróticas, visualizadas com lente de aumento (ca. de 2x) e com luz incidente. A porcentagem de proteção (%P) foi calculada pela seguinte fórmula (SILVA, 1989):

% Proteção= (nº lesões na planta inoculada com o fungo - nº lesões planta tratada) x 100 / nº lesões na planta inoculada com o fungo.

3.6.6. Germinação de conídios nas folhas de trigo suscetíveis tratadas com indutor goma xantana

A 3ª folha de plantas dos tratamentos com indutor-patógeno e controle (só com o patógeno), foram retiradas, 24 e 72 horas após a inoculação, amostras de 0,5 cm² de cada lado das nervuras, da parte central da folha.

As amostras foram clarificadas com lactofenol-etanol, 3 minutos em banho-maria fervente para extração da clorofila e, posteriormente por lactofenol-azul de algodão por 4 horas lavando-se no final com água. As amostras foram montadas em lâminas de vidro para microscopia com lactofenol. A observação, em microscópio Leitz-Orthoplan, foi realizada em 40 conídios por amostra (LAREZ et alii, 1986) e avaliados a porcentagem de germinação dos conídios, número de apressórios e número de hifas, com formação de papilas, penetrando nas células epidérmicas.

3.6.7. Germinação dos conídios ''in vitro ''

Foram depositados sobre lâminas de microscópio, 3mL de ágar-água (2%) acompanhados de uma solução de propiconazole (Tilt) (concentração 0,5 mL/200 L água); ou goma xantana (concentração 0,50 mg/mL) e suspensão de conídio inativado (1 mL).

Nas lâminas foram aplicadas, com pincel macio, a suspensão de conídios, na concentração de 10^3 conídios/mL. As lâminas assim preparadas foram, então, colocadas no interior de placas de petri e mantidas, sob iluminação, em temperatura ambiente.

Após 8 horas de incubação, a germinação dos conídios foi bloqueada pela adição do azul-algodão de lactofenol (TUIITE, 1969) e a porcentagem de germinação foi determinada em um mínimo de 100 conídios por lâmina.

3.6.8. Extração e dosagem da clorofila total em plantas de trigo tratadas com goma xantana, inoculadas e controles

As folhas de plantas de trigo, controle (tratadas só com água), tratadas com goma xantana (no intervalo de 48 horas do indutor e patógeno) e inoculadas com suspensão de conídios, foram retiradas das plantas 48 horas após a inoculação do patógeno. Um grama das folhas foram triturados em acetona 80%, filtrado em gaze e o volume completado para 10 mL. A determinação do conteúdo de clorofila foi baseada no método descrito por JEFFREY & HUMPHREY (1975), efetuando-se a medida no espectrofotômetro Pye Unicam em 652 nm, e o cálculo realizado como $A_{652}/34,5 \times \text{volume/peso}$, resultando na concentração de clorofila expressa como mg/gPF. Foi também realizado um cálculo de porcentagem da redução da clorofila em comparação as plantas controles.

3.7. Análise Estatística

Todos os resultados obtidos nos experimentos foram analisados por teste -t (Student's) através do SANEST, sendo que as médias e os erros padrões foram calculados através do programa EXCEL 7.0.

4. RESULTADOS

4.1. Estudos sobre alguns aspectos da fisiologia e identificação dos fungos.

4.1.1 Observação dos isolados sobre as sementes

Os isolados de *B. bicolor* apresentaram colônia cinza, de aspecto cotonoso, micélio aéreo abundante e conídios esparsos sobre o micélio. Entretanto, as sementes infectadas com *B. sorokiniana* apresentaram colônias de cor preta, aspecto aveludado, rentes a semente, com conidiófaros curtos (Figura 1). Já, os isolados de *D. tritici-repentis*, estes não foram observados na semente e sim, isolados de folhas mantidas em câmara úmida apresentando os conídios.

4.1.2. Determinação do diâmetro médio da cultura e esporulação

Com base nos dados apresentados nas Figuras 2,3 e Apêndice 1, verifica-se alta taxa de crescimento durante os 8 dias e maior esporulação para isolados de *B. sorokiniana*. Em relação a Figura 2, para visualização, foram apresentados somente 4 isolados de cada.

4.1.3. Tamanho dos conídios

O tamanho médio dos conídios, está indicado na Figura 4 e Apêndice 2. Na Figura 4, para visualização, foram representadas as médias de cada isolado. Comparando-se os resultados dos isolados entre si, verifica-se em relação a largura, os conídios de *B. bicolor* foram significativamente maiores do que os conídios dos isolados de *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis*.

Entretanto, em relação ao comprimento, os conídios dos isolados de *D. tritici-repentis* foram significativamente maiores do que os conídios dos isolados de *B. sorokiniana* e estes, maiores do que os conídios dos isolados de *B. bicolor*.

4.1.4.Eletroforese

Nas placas de gel de poliacrilamida foram aplicados os extratos protéicos obtidos à partir dos micélios dos isolados relacionados na Tabela 1, com volume de 22µL correspondentes a 350µg de SAB. A análise e a interpretação dos resultados, foram efetuadas por dois procedimentos distintos: a olho nú pela observação direta dos géis e, por análise densitométrica (densitômetro BIO RAD, acoplado a computador).

Nas Figuras 5 e 6 estão representados apenas dois isolados de cada sendo para *B. bicolor* (Bb1, Bb4); *B. sorokiniana* (Bsl0, Bs3) e para *Drechslera tritici-repentis* (Dtr 1, Dtr4) pois os resultados para os outros isolados foram semelhantes. Dessa forma observa-se no gel que *D. tritici-repentis* apresentou 3 bandas sendo uma marcadora da espécie (representado por letra c) por estar em posição diferente das dos outros gêneros. Em relação a *B. bicolor* e *B. sorokiniana* ocorreu a presença de uma e 2 bandas respectivamente. A banda representada pela letra b observada para *B. sorokiniana* e *B. bicolor* é comum aos dois isolados (Figuras 5 e 6). Na Figura 7, encontra-se o diagrama eletroforético envolvendo as eletroforeses-esterase de todos os isolados.

4.2. Testes de patogenicidade

Inoculações com os isolados de *B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis*, resultaram na formação de lesões, nas duas variedades de plantas de trigo resistentes (BH-1146) e suscetíveis (IAC-24), na concentração de conídios de 10^5 conídios/mL. Já, na concentração de 10^3 conídios/mL, observou-se lesão somente na variedade IAC-24 (Figuras 8 e 9; Tabela 2). As Figuras 8 e 9 representam exemplos dos tipos de sintomas observados.

Entre os isolados, na concentração de inóculo de 10^3 conídios/mL, a diferença observada, mas não medida, foi no tamanho da lesão sendo menor para isolados de *B. bicolor* enquanto que, para os isolados de *D. tritici-repentis*, a lesão era maior com a presença de halo clorótico inicialmente e necrose com o decorrer do tempo.

4.3. Quantificação das proteínas totais, fenóis, atividade enzimática e identificação de isoenzimas presentes nos extratos de plantas de trigo sadias e infectadas

Os resultados apresentados no Apêndice 3 e representados pelas médias de cada tratamento na Figura 10, demonstram que as concentrações de proteínas em folhas inoculadas da variedade de trigo IAC-24 exibiram um decréscimo em relação as folhas sadias. Observando as médias entre as plantas infectadas, podemos visualizar que os isolados de *D. tritici-repentis* promoveram um efeito diminuindo a concentração de proteínas em relação a *B. sorokiniana* e estes, diminuindo mais em relação a *B. bicolor*, sendo todas comparadas com as plantas sadias.

Em relação ainda à concentração de proteínas, as plantas BH-1146 infectadas apresentaram aumento não significativo quando comparados com as sadias.

A concentração de fenóis (Figura 10) observada nas plantas de trigo, das duas variedades, apresentou aumento significativo nas plantas infectadas quando comparadas com a das sadias com exceção da variedade IAC e isolado de *B. bicolor*.

A atividade da glucanase aumentou nas plantas BH-1146 infectadas quando comparada com a das sadias e, entre as infectadas, a atividade foi maior nas plantas inoculadas com *D. tritici-repentis* e menor para as inoculadas com *B. bicolor*. Já para a variedade IAC-24 a enzima apresentou pequena atividade em todas as interações (*B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis*) (Figura 10).

Os níveis da atividade da peroxidase em folhas de trigo sadias e infectadas com os isolados de *B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis*, nas duas variedades, estão representados no Apêndice 4 e, as médias de cada tratamento na Figura 11. Na variedade IAC-24, observamos que a atividade da peroxidase nos tecidos infectados foi maior do que nos tecidos sadios. Já em relação a atividade da polifenoloxidase, esta diminuiu nos tecidos infectados quando comparado com a da planta sadia. Para a variedade BH-1146, a atividade da peroxidase e da polifenoloxidase aumentaram. Comparando-se as 2 variedades observamos, em relação às plantas sadias, que a atividade da polifenoloxidase da BH-1146 foi maior do que a da IAC-24 e, mesmo na variedade resistente, as plantas infectadas continuavam com a atividade aumentadas sendo que, na suscetível a atividade diminuiu. Em relação a enzima peroxidase, a atividade aumentou nas duas variedades infectadas em relação as sadias.

Na parte de isoenzimas da esterase sómente foram utilizados 3 isolados sendo isolado Bb4 para *B. bicolor*; Bs4 para *B. sorokiniana* e Dtr2 para *D. tritici-repentis*. Os extratos das plantas quando inoculadas com os referidos isolados, revelaram que as variedades IAC-24 e BH-1146, existem bandas nas mesmas posições entretanto, com atividade maior nas plantas infectadas do que em relação às sadias (Figuras 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 e Apêndice 10).

4.4. Quantificação de açúcares de plantas sadias e infectadas

Os dados relativos à concentração de glicose demonstraram aumento maior na variedade IAC-24 em relação a BH-1146 (Fig. 12; Apêndice 5) e representado pelas médias dos tratamentos quando comparados com as de plantas sadias.

4.5. Indução de resistência em plantas de trigo

4.5.1. Efeito da concentração da goma xantana

Os resultados apresentados na Tabela 3, indicam que as duas concentrações de goma xantana induziram proteção nas plantas de trigo. A menor concentração do pó (0,25mg peso seco/mL) apresentou o equivalente a 103,2 µg de glicose/mL, enquanto que a concentração de 0,50 mg apresentou o equivalente a 205,3 µg de glicose/mL. A proteção foi induzida no intervalo de 24, 48 e 72 horas entre as aplicações do indutor e do provocador. A porcentagem de proteção variou entre 68 e 97% nas diferentes interações envolvendo os isolados de *B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis*. Estabeleceu-se como 0,5 mg e 48 horas,

respectivamente a concentração e período ideais para uma resposta de em torno de 95 a 97%. No intervalo de tempo compreendendo 96 horas, a porcentagem de proteção permaneceu a mesma (dados não apresentados). Todos os resultados foram compatíveis com o efeito do fungicida propiconazole (Tilt) nas plantas, com proteção variando de 99 a 100% (Figuras 13,14 e 15 e Tabela 3).

4.5.2. Indução de proteção sistêmica em plantas de trigo por goma xantana.

Nos resultados anteriores pudemos observar que o indutor na concentração de 0,5 mg do pó e no intervalo de 48 horas, com os isolados usados, induziu proteção na variedade IAC-24. Após o tratamento, na primeira folha, com goma xantana pode-se visualizar proteção na segunda folha contra os fitopatógenos, indicando uma proteção sistêmica (Tabela 4).

4.5.3. Efeito do conídio inativado na indução de proteção em plantas de trigo

Analisando o mesmo intervalo de tempo de 48 horas e, aplicando suspensão de conídios inativados antes dos patógenos, observou-se de 89 a 90% de proteção para todos os isolados empregados (Tabela 5 e Figuras 13, 14 e 15).

4.5.4. Germinação dos conídios nas folhas de trigo tratadas com goma xantana

Através da avaliação das porcentagens de germinação e de formação de papilas, efetuada em microscópio de fluorescência, não se observou nenhuma diferença entre isolados e, tampouco, entre planta controle infectada e tratada (Tabela 6). Em relação à porcentagem de apressório, os isolados de *B. bicolor* e *B. sorokiniana*, por terem germinação bipolar, apresentaram números superiores a 100.

4.5.5. Germinação dos fungos “*in vitro*”.

Foi possível observar que os isolados de *B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis* apresentaram a mesma porcentagem de germinação tanto em lâminas controle como nas tratadas com goma xantana. As lâminas tratadas com propiconazole (Tilt) apresentaram redução na porcentagem de germinação dos conídios em relação às lâminas controle (Tabela 7).

4.5.6. Quantificação de proteínas totais, fenóis, atividade enzimática e identificação de isoenzimas presentes nos extratos foliares das plantas de trigo controle, inoculadas e induzida a resistência.

Através das Figuras 16, 17 e Apêndice 6 foi possível observar que a planta de trigo IAC-24 tratada com goma xantana, apresentou, 48 horas após o tratamento, aumento na concentração de proteínas e açúcares. Já as plantas tratadas com suspensão de conídio inativado não apresentaram diferença significativa na concentração de açúcares e proteínas. Com

relação a quantidade de fenóis (Figura 18 e Apêndice 6), esta sofreu uma redução nas plantas tratadas quando comparadas com as plantas sadias e inoculadas com os isolados. As plantas BH-1146 tratadas com goma xantana e suspensão de conídios inativado apresentaram aumento nos níveis de proteínas e açúcares em relação as plantas sadias e infectadas, porém para os fenóis houve redução na concentração.

A atividade da polifenoloxidase em plantas da variedade BH-1146 foi maior quando comparada com a das plantas da variedade IAC-24 (Figura 19 e Apêndice 7). Já em relação ao tratamento com a goma xantana observa-se que o aumento foi semelhante para as variedades IAC-24 e BH-1146 (Figura 19 e Apêndice 7), com exceção da interação variedade BH-1146 e isolado de *Bipolaris bicolor* em que o aumento não foi significativo.

Em relação a atividade da peroxidase comparando-se plantas sadias e tratadas com goma xantana, das duas variedades, observa-se que esta apresenta-se igual para ambas (Figura 20 e Apêndice 8).

A atividade da enzima β -1,3-glucanase em folhas de trigo foi estimulada tanto nas folhas tratadas com goma xantana, como com o conídio inativado (Figura 21; Apêndice 9). Entretanto, as plantas tratadas com goma xantana apresentaram atividade enzimática maior em relação às tratadas com conídio inativado. Outro fator importante a ser observado é em relação ao aumento da atividade em relação ao intervalo de tempo. Já na indução sistêmica foi possível observar que na segunda folha a atividade da enzima apresentou-se maior do que na primeira folha (Tabela 8).

A análise eletroforética de isoenzimas da esterase permitiu indicar que plantas da variedade BH-1146 após tratamento com goma xantana e

provocador, para qualquer um dos isolados, apresentaram as bandas com maior atividade isoenzimática em relação às plantas infectadas ou sadias (Figuras 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29). O mesmo pode ser observado na variedade IAC-24 onde as plantas, após tratamento com goma xantana ou conídio inativado, também apresentaram atividade maior nas bandas isoenzimáticas do que em relação às sadias ou inoculadas.

Essa atividade foi observada a olho nú, e analisada através do programa Analista Molecular da BIORAD em computador, sendo as bandas apresentadas em valores de leitura de absorbância, volume, área da banda e relação de absorbância x área (Figuras 30, 31 e Apêndice 10). Através dessas figuras observou-se que as plantas tratadas com goma xantana apresentaram atividade maior quando comparada com a de plantas sadias e infectadas. Na variedade IAC-24 podem ser visualizadas 3 bandas referentes a 3 isoenzimas da esterase sendo que, em relação aos isolados de *B. bicolor* e *B. sorokiniana* com tratamento por goma xantana, o aumento da atividade foi observado nas 3 bandas enquanto que, para o isolado de *D. tritici-repentis*, somente as duas primeiras bandas apresentaram maior atividade quando comparadas com plantas sadias e até com conídio inativado (Fig. 30). Já em relação a variedade BH-1146, foi possível observar 4 isoenzimas para todos os isolados, sendo que as isoenzimas 1 e 2 apresentaram atividade maior quando comparada com as das 3 e 4 (Fig. 31).

Em relação a dosagem de clorofila total, foi possível observar que plantas tratadas com goma xantana apresentaram maior quantidade de clorofila quando comparada com o conteúdo em plantas sadias e infectadas (Figura 32 e Apêndice 11).

Figura 1: Observação dos isolados de *Bipolaris bicolor* (*Bb*) e *Bipolaris sorokiniana* (*Bs*) nas sementes.

Figura 2: Crescimento de diferentes isolados dos fungos em meio de BDA - A) *B. bicolor* (Bb), B) *D. tritici-repentis* (Dtr), C) *B. sorokiniana* (Bs). Números seguidos de Bb, Bs ou Dtr significam número dos isolados. Barras indicam médias $\pm$ erro padrão das repetições.

Figura3: Esporulação dos diferentes isolados fúngicos em meio BDA - *B. bicolor* (Bb), *Drechslera tritici-repentis* (Dtr) e, *B. sorokiniana* (Bs). Esporulação=número de conídios $\times 10^5/\text{mL}$ (média de 3 placas/isolado/repetição). Barras indicam média $\pm$ erro padrão das repetições.

Figura 4: Dimensões dos conídios (μm) dos isolados de *B. bicolor* (Bb), *Bipolaris sorokiniana* (Bs) e *Drechslera tritici-repentis* (Dtr), desenvolvidos no meio BDA, após 10 dias. Barras indicam média $\pm$ erro padrão de 50 leituras. C=Comprimento, L=Largura.

Figura 5: Eletroforese-esterase dos isolados (da esquerda para a direita) *Bipolaris bicolor* (Bb1, Bb4); *Bipolaris sorokiniana* (Bs10, Bs3) e, *Drechslera tritici-repentis* (Dtr1, Dtr4). Setas indicam posição das bandas.

Figura 6: Densitometria da eletroforese-esterase dos isolados *Bipolaris bicolor* (Bb), *Bipolaris sorokiniana* (Bs) e, *Drechslera tritici-repentis* (Dtr). As letras indicam a posição das bandas.

Figura 7: Diagrama eletroforético em gel de poliacrilamida dos isolados *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*. Setas indicam posição das bandas. Gel corado para a visualização das isoenzimas da esterase.

Figura 8 : Lesões em plantas de trigo variedade IAC-24 (suscetível), inoculadas com os isolados de *Bipolaris sorokiniana* (Bs), *Bipolaris bicolor* (Bb), *Drechslera tritici-repentis* (Dtr), nas concentrações de 10^5 e 10^3 conídios / mL.

Figura 9: Lesões em plantas de trigo variedade BH-1146 (resistente), inoculadas com isolados de *Bipolaris sorokiniana* (Bs), *Bipolaris bicolor* (Bb) ou, *Drechslera tritici-repentis* (Dtr). Os sintomas nas concentrações de 10^4 e 10^3 foram semelhantes para todos os isolados.

Tabela 2: Observações resultantes das inoculações dos isolados *B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis* em plantas de trigo resistentes (BH-1146) e suscetível (IAC-24).

Concentrações do Inóculo n. conídios/mL	Variedades	
	BH-1146	IAC-24
10^3	Nenhuma lesão	Lesões nas folhas baixas (F-3, F-2), médias (F-1) e, traços de infecção nas folhas bandeiras.
10^4	Lesões isoladas e em pequeno número, nas folhas inferiores (F-3, F-2)	Lesões intensas nas folhas baixas (F-3, F-2) e médias (F-1), e pequenas nas folhas bandeiras.
10^5	Infecção moderada nas folhas inferiores (F-2) estendendo-se às folhas superiores até o ponto médio da planta (F-1)	Lesões coalescentes nas folhas baixas (F-3, F-2), e médias (F-1) e folhas bandeiras infectadas em níveis superiores a traços de infecção. Para <i>D. tritici-repentis</i> , as lesões coalesciam produzindo necrose.

* Sintomatologia comum à todos os isolados fúngicos, com excessão da *D. tritici-repentis* em IAC-24 na concentração de 10^5 conídios/mL.

Figura 10 Quantificação de proteínas, fenóis e atividade enzimática da beta-1,3-glucanase em extratos foliares de plantas de trigo das variedades IAC-24 e BH-1146, sadias (S) ou inoculadas com *B. bicolor* (Bb), *B. sorokiniana* (Bs) e *Drechslera tritici-repentis* (Dtr).

Figura 11: Atividade da peroxidase e da polifenoloxidase em extratos de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias (S) e inoculadas com *Bipolaris bicolor* (Bb), *Bipolaris sorokiniana* (Bs) e *Drechslera tritici-repentis* (Dtr).

Figura 12: Quantidade de glicose presente nos extratos de plantas de trigo das variedades IAC-24 e BH-1146, sadias (S) e infectadas com *B. bicolor* (Bb), *B. sorokiniana* (Bs) e *D. tritici-repentis* (Dtr).

Tabela 3: Indução de proteção em plantas de trigo (IAC-24) contra isolados de *Bipolaris bicolor* (Bb), *B. sorokiniana* (Bs) e *Drechslera tritici-repentis* (Dtr) usando como indutor goma xantana em diferentes concentrações e diferentes intervalos de tempo.

Concentração goma xantana (mg pó/mL)*	Intervalos de tempo (Horas)	Isolados	Número médio de lesões		Porcentagem de Proteção***
			Controle**	Tratada**	
0,25	24	<i>B. bicolor</i>	21 $\pm$ 4,5	6,7 $\pm$ 1,5	68
	48		20,3 $\pm$ 0,5	1,2 $\pm$ 0,3	94
	72		21,6 $\pm$ 1,1	1,1 $\pm$ 0,2	94,9
	24		21 $\pm$ 4,5	3,4 $\pm$ 0,6	83,6
	48		20,6 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,1	97,5
	72		21,6 $\pm$ 0,6	0,6 $\pm$ 0,2	97,2
	48	Propiconazole(Tilt)	20,6 $\pm$ 0,05	0	100
0,25	24	<i>B. sorokiniana</i>	19 $\pm$ 0,6	4,5 $\pm$ 0,5	76
	48		21 $\pm$ 0,6	1,2 $\pm$ 0,2	94,2
	72		21 $\pm$ 0,01	1,3 $\pm$ 0,1	93,2
	24		18,6 $\pm$ 1,1	2,7 $\pm$ 0,07	85,2
	48		21 $\pm$ 0,01	1 $\pm$ 0,1	95,2
	72		23 $\pm$ 0,6	1,1 $\pm$ 0,6	95,2
	48	Propiconazole(Tilt)	21,2 $\pm$ 0,18	0	100
0,25	24	<i>D. tritici-repentis</i>	9,6 $\pm$ 0,6	3 $\pm$ 0,6	68,9
	48		11,3 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,1	95,5
	72		13 $\pm$ 1,1	1 $\pm$ 0,3	92,3
	24		10 $\pm$ 0,01	1,6 $\pm$ 0,6	83,4
	48		12,6 $\pm$ 0,6	0,5 $\pm$ 0,4	96,5
	72		13,6 $\pm$ 1,5	0,5 $\pm$ 0,1	96,5
	48	Propiconazole(Tilt)	12,6 $\pm$ 0,4	0,1 $\pm$ 0,02	99,2

* 0,25mg pó/mL goma xantana equivale a 103,2ug glicose/mL

0,5 mg pó/mL goma xantana equivale a 205,3 ug glicose/mL

** número de lesões + erro padrão da média de 10 plantas por tratamento com 3 repetições.

*** Porcentagem de proteção em relação ao tratamento controle.

Figura 13: Expressão dos sintomas em plantas de trigo, variedade IAC-24, controle (inoculada com 10^3 conídios/mL) e tratadas com goma xantana (X), conídio inativado (Ci) e Tilt (T), 48 horas antes da aplicação do inóculo de isolados de *Bipolaris bicolor* na concentração de 10^3 conídios/mL.

Figura 14: Expressão dos sintomas em plantas de trigo, variedade IAC-24, controle (inoculada com 10^3 conídios/mL) e tratadas com goma xantana (X), conídio inativado (Ci) e Tilt (T), 48 horas antes da aplicação do inóculo de isolados de *Bipolaris sorokiniana* na concentração de 10^3 conídios/mL.

Figura 15: Expressão dos sintomas em plantas de trigo, variedade IAC-24, controle (inoculada com 10^3 conídios/mL) e tratadas com goma xantana (X), conídio inativado (Ci) e Tilt (T), 48 horas antes da aplicação do inóculo de isolados de *Drechslera tritici-repentis* na concentração de 10^3 conídios/mL.

Tabela 4 : Porcentagem de proteção em folhas de plantas de trigo IAC-24, com indução de resistência sistêmica por goma xantana, aplicada 48 horas antes da inoculação dos isolados de *Bipolaris bicolor* (Bb), *Bipolaris sorokiniana* (Bs) e *Drechslera tritici-repentis* (Dtr).

Tratamentos	Isolados	Número de lesões		% Proteção
		Controle	Tratada	
1 ^a F*	Bb	20 $\pm$ 0,02 ***	1,6 $\pm$ 0,05	92
2 ^a F**	Bb	20 $\pm$ 0,02	1,0 $\pm$ 0,01	95
1 ^a F	Bs	21 $\pm$ 0,01	2,1 $\pm$ 0,1	90
2 ^a F	Bs	21 $\pm$ 0,01	1,05 $\pm$ 0,05	95
1 ^a F	Dtr	12 $\pm$ 0,6	1,2 $\pm$ 0,02	90
2 ^a F	Dtr	13 $\pm$ 0,5	0,6 $\pm$ 0,01	95

* 1^aF= 1^a folha - aplicado a goma xantana (0,5 mg do pó/mL)

**2^aF= 2^o folha- aplicado os isolados (10³ conídios/mL)

*** Número médio de lesões/cm² /folha; média +/- erro padrão de um total de 10 plantas com 5 repetições

Tabela 5: Porcentagem de proteção em folhas de plantas de trigo IAC-24, com indução de resistência usando conídios inativados (CI) de *Bipolaris bicolor* (Bb), *Bipolaris sorokiniana* (Bs) e, *Drechslera tritici-repentis* (Dtr) aplicados 48 horas antes da inoculação dos mesmos patógenos não-inativados.

Tratamento	Número de lesões		%
	Controle	Tratada	Proteção
CI Bb	20 $\pm$ 0,02*	2,0 $\pm$ 0,03	90
CI Bs	21 $\pm$ 0,01	2,1 $\pm$ 0,05	90
CI Dt	12 $\pm$ 0,6	1,3 $\pm$ 0,1	89

* Número de lesões/cm²/folha; média +/- erro padrão de um total de 10 plantas em 5 repetições.

Tabela 6: Efeito da aplicação prévia da goma xantana na germinação de conídios, formação de apressórios e papilas em folhas de plantas de trigo variedade IAC-24, após a inoculação dos patógenos de *B. bicolor*, *B. sorokiniana*, *D. tritici-repentis*.

Tratamentos	% germinação	erro padrão**	% apressório	erro padrão	% papilas
Controle <i>Bb</i> *	81	0,3	110***	0,2	45
X(250ug) 24h	78	0,1	110	0,1	45
X(250ug) 48h	78	0,2	110	0,2	44
X(250ug) 72h	80	0,3	105	0,3	48
X(500ug) 24h	76	0,1	110	0,2	50
X(500ug) 48h	80	0,3	108	0,2	45
X(500ug) 72h	80	0,4	105	0,5	50
Controle <i>Bs</i>	88	0,5	110***	0,2	20
X(250ug) 24h	84	0,6	100	0,3	10
X(250ug) 48h	89	0,2	100	0,2	20
X(250ug) 72h	89	0,2	100	0,2	30
X(500ug) 24h	85	0,3	108	0,3	20
X(500ug) 48h	88	0,5	102	0,3	30
X(500ug) 72h	89	0,2	102	0,3	25
Controle <i>Dtr</i>	75	0,4	90	0,1	20
<i>Dtr</i> X(250ug) 24h	74	0,6	88	0,1	30
<i>Dtr</i> X(250ug) 48h	74	0,8	85	0,1	20
<i>Dtr</i> X(250ug) 72h	76	0,4	92	0,5	30
<i>Dtr</i> X(500ug) 24h	72	0,8	87	0,1	30
<i>Dtr</i> X(500ug) 48h	75	0,8	86	0,2	30
<i>Dtr</i> X(500ug) 72h	75	0,5	90	0,4	20

OBS: *Controle= aplicação de água 24 horas antes do isolado;

X=goma xantana aplicada na concentração de 250 e 500 ug/mL.

**Erro padrão de um total de 100 conídios por tratamento em 4 experimentos.

***Germinação bipolar

Tabela 7: Porcentagem de germinação *in vitro* dos conídios de *B. bicolor*, *B. sorokiniana* (Bs) e *D. tritici-repentis* (Dtr), tratados previamente com goma xantana ou propiconazole (Tilt)

Isolados	% germinação *		
	Controle	Xantana	Propiconazole
<i>Bb</i> 1	70a	72a	12b
<i>Bb</i> 2	85a	83a	20b
<i>Bb</i> 3	73a	75a	10b
<i>Bb</i> 4	78a	79a	19b
<i>Bs</i> 1	92a	92a	21b
<i>Bs</i> 2	89a	89a	18b
<i>Bs</i> 3	90a	88a	20b
<i>Bs</i> 4	85a	89a	19b
<i>Bs</i> 5	89a	82a	12b
<i>Bs</i> 6	94a	90a	10b
<i>Bs</i> 7	98a	97a	10b
<i>Bs</i> 8	96a	94a	17b
<i>Bs</i> 9	98a	99a	20b
<i>Bs</i> 10	91a	89a	18b
<i>Bs</i> 11	88a	89a	21b
<i>Bs</i> 12	85a	83a	20b
<i>Bs</i> 13	83a	88a	20b
<i>Dtr</i> 1	95a	90a	33b
<i>Dtr</i> 2	88a	85a	25b
<i>Dtr</i> 3	90a	89a	26b
<i>Dtr</i> 4	87a	84a	21b

Médias seguidas por letras distintas, em fileiras horizontais, diferem entre si ao nível de 5% (Teste T).

Figura 16: Quantidade de proteína presente nos extratos foliares de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e com resistência induzida por goma xantana (X), em vários intervalos de tempo, ou suspensão de conídios inativado (CI). Análises realizadas após 72 horas da inoculação com os patógenos.

Figura 17: Quantidade de glicose presente nos extratos foliares de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e com resistência induzida por goma xantana, em vários intervalos de tempo (X), e suspensão de conídio inativado (Cl). Análises realizadas após 72 horas da inoculação com os patógenos.

Figura 18: Quantidade de fenóis presentes nos extratos foliares de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e com resistência induzida por goma xantana, em vários intervalos de tempo (X) e suspensão de conídio inativado (CI). Análises realizadas após 72 horas da inoculação com os patógenos.

Figura 19: Atividade da polifenoloxidase em plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas com Bb (*B. bicolor*), Bs (*B. sorokiniana*), Dtr (*D. tritici-repentis*) e tratadas com goma xantana no intervalo de tempo (0h. até 96 horas) e depois o patógeno, sendo as amostras colhidas 72 horas após a inoculação.

Figura 20: Atividade da peroxidase em plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas com Bb (*B. bicolor*), Bs (*B. sorokiniana*), Dtr (*D. tritici-repentis*) e tratadas com goma xantana no intervalo de tempo (0h até 96 horas) e depois o patógeno, sendo as amostras colhidas 72 horas após a inoculação.

Figura 21: Atividade da enzima beta-1,3-glucanase em plantas de trigo IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas com Bb (*B. bicolor*), Bs (*B. sorokiniana*), Dtr (*D. tritici-repentis*) e, tratadas com goma xantana e conídio inativado (Cl), no intervalo de tempo de 24, 48 e 72 horas entre indutor e provocador, sendo as amostras colhidas 72 horas após a inoculação.

Tabela 8: Atividade da enzima β -1,3-glucanase em plantas de trigo IAC-24 sadias, inoculadas ou tratadas com goma xantana na primeira folha e provocador (patógeno) na segunda folha, após 48 horas.

Tratamentos	Atividade (μ mol glicose/seg/ μ g SAB)
Sadia	1,05a*
<i>B. bicolor</i> (inoculada)	1,10b
xantana 1ª folha	2,01c
2ª folha	2,38d
<i>B. sorokiniana</i> (inoculada)	0,97a
xantana 1ª folha	2,09c
2ª folha	2,54e
<i>D. tritici-repentis</i> (inoculada)	1,04a
xantana 1ª folha	2,46e
2ª folha	2,83f

* Média de 5 repetições.

Medias seguidas por letras distintas, em fileiras verticais, diferem entre si ao nível de 5% (Teste T).

Figura 22: Eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade IAC-24 sadia, infectadas com *Bipolaris bicolor* (Bb), *Bipolaris sorokiniana* (Bs), *Drechslera tritici-repentis* (Dt) e, tratadas com goma xantana (X-Bb, X-Bs, X-Dt) e com conídio inativado (Ci-Bb, Ci-Bs, Ci-Dt). Setas indicam posição das bandas.

Figura 23: Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade IAC-24 sadias, inoculadas com *Bipolaris bicolor* e, tratadas com goma xantana ou conídio inativado. As letras indicam a posição das bandas.

IAC - 24

Figura 24: Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade IAC-24 sadias, inoculadas com *Bipolaris sorokiniana* e, tratadas com goma xantana ou conídio inativado. As letras indicam a posição das bandas.

Figura 25: Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade IAC-24 sadias, infectadas com *Drechslera tritici-repentis* e, tratadas com goma xantana ou conídio inativado. As letras indicam a posição das bandas.

Figura 26: Eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade BH-1146 sadia, infectadas com *Bipolaris bicolor* (Bb), *Bipolaris sorokiniana* (Bs), *Drechslera tritici-repentis* (Dt) e, tratadas com goma xantana (X-Bb, X-Bs, X-Dt). Setas indicam posição das bandas.

Figura 27: Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade BH-1146 sadias, inoculadas com *Bipolaris bicolor* ou, tratadas com goma xantana. As letras indicam a posição das bandas.

Figura 28: Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade BH-1146 sadias, inoculadas com *Bipolaris sorokiniana* ou, tratadas com goma xantana. As letras indicam a posição das bandas.

Figura 29: Densitometria da eletroforese-esterase das folhas de trigo variedade BH-1146 sadias, inoculadas *Drechslera tritici-repentis* ou, tratadas com goma xantana. As letras indicam a posição das bandas.

Figura 30: Atividade da esterase (absorbância das bandas x área) de géis de poliacrilamida de plantas de trigo variedade IAC-24 sadia e inoculadas com *B. bicolor*(Bb), *B. sorokiniana*(Bs), *D. tritici-repentis* (Dtr), previamente tratadas com goma xantana (X) ou conídio inativado (Cl).

Figura 31: Atividade da esterase (absorbância das bandas x área) de géis de poliácridamida de plantas de trigo variedade BH-1146 sadia e inoculadas com *B. bicolor*(Bb), *B. sorokiniana*(Bs), *D. tritici-repentis* (Dtr), previamente tratadas com goma xantana (X) ou conídio inativado (CI).

Figura 32: Dosagem de clorofila total em folhas de plantas de trigo, 48 horas após a inoculação com suspensão de conídios *B. bicolor* (*Bb*), *D.tritici-repentis* (*Dtr*), *B. sorokiniana* (*Bs*); e, com tratamentos utilizando goma xantana, goma xantana (48h.antes da inoculação do patógeno) e, água. Barras representam média +/- erro padrão.

5. DISCUSSÃO

5.1. Estudos sobre alguns aspectos da fisiologia e identificação dos fungos

A primeira comparação dos isolados de *B. bicolor* e *B. sorokiniana*, foi feita sob lupa quando infectando sementes, isto é, foi observado que os isolados de *B. bicolor* apresentaram colônia cinza, de aspecto cotonoso, micélio aéreo abundante e conídios esparsos sobre o micélio. Por sua vez, as sementes infectadas com *B. sorokiniana* apresentaram colônias de cor preta, aspecto aveludado, rentes a semente, com conidióforos curtos. Entretanto, quando em meio de cultura, os dois fungos apresentaram colônias com a mesma cor olivácea-escura estando de acordo com as observações descritas por MOREJON & MORAES (1993). Em relação ao fungo *D. tritici-repentis*, em meio de cultura, a cor apresentada também foi olivácea-escura.

Para a confirmação dos gêneros, os conídios foram observados no microscópio, após desenvolvimento em meio de BDA. Os conídios de *B. bicolor* apresentaram-se escuros com ápice redondo, curvos, fusiformes e elipsoidais enquanto que, os conídios de *B. sorokiniana* apresenta-se com centro marrom escuro, cilíndricos e com hilo bastante visível. Em relação aos conídios de *D. tritici-repentis*, estes apresentaram conídios retos ou curvos, com célula basal truncada até o hilo. Todas as observações, estão de acordo com a de outros autores que descreveram a taxonomia de *Bipolaris* e *Drechslera* (MOREJON & MORAES, 1993 e, MUCHOVEJ et alii, 1988).

Através dos resultados ilustrados na Figura 4, visando determinar o tamanho dos conídios em meio de BDA, observamos valores de comprimento e largura sendo, que: *D. tritici-repentis* apresentou uma variação de 127 - 127,15 X 13,8- 13,81 μm ; *B. sorokiniana* variação entre 92,09-112,20 X 11,98 - 13,37 μm ; *B. bicolor* a variação ficou entre 51,59 - 63,43 X 19,18 - 20,58 μm . Poucos são os autores que descreveram as dimensões ou ainda citaram o meio onde foram cultivados. MUCHOVEJ et alii (1988) citaram os tamanhos sem descrever o meio utilizado, entretanto observaram que *B. sorokiniana* apresenta conídios com mais de 75 μm de comprimento e largura menor do que 20 μm , enquanto que *B. bicolor* apresenta largura variável até 25 μm . Para o fungo *D. tritici-repentis* somente foi citado que os conídios mostram-se maiores em relação aos outros dois, sem contudo determinar seu valor. Já HUNGER & BROWN (1987), estudando conídios de *D. tritici-repentis* desenvolvidos em meio CV-8, demonstraram que as dimensões estavam entre 175-255 x 10-20 μm . Isto veio indicar que *D. tritici-repentis* apresentou conídios maiores em relação a *B. sorokiniana* e que *B. bicolor* apresentou conídios mais largos, o que vem ao encontro dos resultados aqui obtidos.

A análise eletroforética visando isoenzimas da esterase possibilita a diferenciação de isolados em gêneros ou espécies, como por exemplo, diferenciação de isolados de *Exserohilum turcicum* oriundos de milho, capim e sorgo através da posição e número de bandas diferentes (BACH & KIMATI, 1995). Através do gel de poliacrilamida, entre alguns isolados apresentados na Figura 5, verificou-se a diferença entre os gêneros cujas bandas foram confirmadas pela densitometria (Figura 6). Dessa forma, para *D. tritici-repentis* foram observadas 3 bandas marcadoras

enquanto que para *B. sorokiniana* e *B. bicolor* apenas uma comum a ambos.

5.2. Testes de patogenicidade

Em relação a patogenicidade, observou-se que a variedade BH-1146, com resistência a helmintosporiose em campo, apresentou-se suscetível, na casa-de-vegetação, somente quando inoculada com suspensão na concentração de 10^5 conídios/mL. Quando a inoculação era realizada na concentração de 10^3 conídios/mL a variedade BH apresentou-se com reação de resistência. Já para a variedade IAC-24, nas duas concentrações, a reação foi de suscetibilidade. Tais resultados assemelham-se ao observado por autores como LOUGHMAN & DEVERALL (1986), LAREZ et alii (1986) e LUZ & HOSFORD (1980). LUZ & HOSFORD (1980) observaram que a variedade BH-1146 foi relativamente resistente quando os períodos em câmara úmida foram superiores a 50 horas com concentração do fungo de 10^4 conídios/mL. LOUGHMAN & DEVERALL (1986), através da inoculação com suspensão de 10^4 conídios/mL, observaram o aparecimento de lesões na variedade BH-1146 e a diferença desta variedade para a suscetível estava no crescimento maior da lesão em extensão no tecido do mesófilo. Os autores ainda comentaram que no tecido suscetível, o contínuo crescimento do fungo foi devido a produção de substâncias tóxicas pelo fungo no hospedeiro ocorrendo rapidamente a expansão da lesão. Já, na variedade resistente, o crescimento nunca progrediu talvez pelo acúmulo de substâncias antifúngicas. LAREZ et alii (1986) observaram o processo de infecção via macroscópica, celular e subcelular em plantas de trigo variedade BH-1146 e ND 495 (suscetível), após inoculação com

D. tritici-repentis na concentração de 10^4 conídios/mL, onde a penetração do fungo nas duas variedades, ocorreu com a formação de papila tendo como única diferença o tamanho da lesão sendo maior na suscetível e menor na resistente. Através dos resultados, os autores concluíram que a reação de resistência não podia ser explicada através da histologia e citologia devido a ausência de mecanismos estruturais, sugerindo assim um mecanismo molecular. Dessa forma, a variedade BH-1146 pode apresentar reação de resistência em períodos de umidade menores do que 50 horas, e quando submetida a concentração menor que 10^4 conídios/mL, o que realmente identificamos nos resultados.

Em relação aos sintomas, as lesões de *D. tritici-repentis* na variedade IAC-24 apresentaram-se com halo clorótico em volta diferenciando-se assim, dos isolados de *B. sorokiniana* também, com halo clorótico, embora bem menor. Esta sintomatologia confirma a observada por HUNGER & BROWN (1987) e NILSEN et al. (1979).

Os sintomas citados para *B. bicolor* em trigo, em outros países, segundo MOREJON & MORAES (1993), envolve o apodrecimento do coleóptile, não ocorrendo manchas foliares. Entretanto, os resultados do presente trabalho demonstraram que os isolados confirmados como *B. bicolor* apresentaram sintomas nas folhas com lesões menores às encontradas com *B. sorokiniana*, podendo assim serem confundidas.

5.3. Alterações bioquímicas em plantas de trigo após infecção e, após tratamentos com goma xantana ou conídios inativados

Todas as folhas apresentam no espaço intercelular substâncias químicas livres, produzidas pelas próprias células e associadas a parede celular. As substâncias químicas solúveis ou macromoléculas (polissacarídeos, glicoproteínas, proteínas) podem ser liberadas, totalmente ou na forma de resíduos terminais, para o espaço intercelular. Quando o patógeno penetra no hospedeiro deve haver o reconhecimento, dos determinantes específicos presentes nas paredes celulares do patógeno, por macromoléculas de alta especificidade existentes nas células do hospedeiro (MORAES, 1991b). BACH (1989) descreveu a possibilidade da ocorrência de alterações metabólicas em variedades de plantas, após infecção, visando aumento ou diminuição de determinadas substâncias, substâncias estas que podem estar ligadas com a reação de resistência.

Em relação a proteínas, a variedade de trigo IAC-24, após a infecção, sofreu redução na concentração enquanto que a outra variedade, BH-1146, apresentou aumento sem diferença significativa. Os resultados obtidos vêm ao encontro do relatado por SHREE & REDDY (1986) na interação sorgo e *Exserohilum turcicum* e por BACH et alii (1991, 1993) na interação capim e *Exserohilum turcicum*, que também observaram aumento de proteínas nas variedades resistentes e diminuição nas suscetíveis. Dependendo da ação dos isolados de diferentes gêneros podemos ter ação mais drástica, sendo correlacionada com diminuição das proteínas.

É importante observar que as plantas suscetíveis (IAC-24), após tratamento com goma xantana, apresentaram, em relação as plantas sadia e infectada, aumento na concentração de proteína, que pode ser correlacionado com a indução de resistência. Já, as plantas tratadas com conídios inativado apresentaram aumento em relação a planta infectada mas, em relação a sadia, a diferença não foi significativa. As plantas BH-1146, após tratamento com goma xantana e conídio inativado, apresentaram aumento na concentração em relação às plantas sadias.

O aumento na concentração de proteínas foi proveniente de uma reação de defesa das plantas contra uma inoculação secundária e não oriunda como resíduo ou contaminação da preparação do EPS, pois a presença de proteína na goma xantana equivaleu entre 10 e 20 ng de SAB/mL. O resultado está de acordo com o observado por STEFANI & RUDOLPH (1989), onde a concentração de proteínas no EPS de *Pseudomonas phaseolicola* foi mínima e portanto não responsável pela indução.

A concentração de proteínas pode ser importante, ocorrendo em algumas interações, onde também se verificam alterações bioquímicas, como demonstrado por HOLDEN & ROHRINGER (1985) na interação trigo e *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, através de alterações que ocorriam nos primeiros estágios da infecção. GUEDES & BACH (1988) também demonstraram que plantas de café tratadas com manose 48 e 72 horas antes da inoculação com *Hemileia vastatrix*, apresentavam alterações com aumento nas bandas de proteínas, podendo esta ser um fator importante na resistência induzida. Já, CHAKRAVORTY et alii (1974 a,b) observaram alterações na enzima ribonuclease em plantas de cevada e trigo infectadas com ferrugem. Diante disto, procurou-se estudar algumas enzimas

associadas com a biossíntese de compostos aromáticos e aquelas que participam de outros ciclos, correlacionando-as com o mecanismo de resistência.

Com relação a compostos aromáticos, a peroxidase (PO) e a polifenoloxidase (PPO) são as duas enzimas mais estudadas. Estas enzimas foram induzidas por estímulo externo de infecção ou injúria, exibindo aumento nas atividades em plantas infectadas em comparação com tecido sadio, sendo assim correlacionadas com a resistência em plantas (ARORA & BAJAJ, 1985; FARKAS & KIRÁLY, 1958; FARKAS & STAHMANN, 1966; FRIC, 1976; GOODMAN et alii, 1967; HAMMERSCHMIDT et alii, 1982; REUVENI & BOTHMA, 1985; STERMER & HAMMERSCHMIDT, 1984; SUTERI, 1985; TAYAL et alii, 1984). O aumento da atividade das duas enzimas tem sido atribuído a ativação, solubilização ou re-síntese “de novo” de enzimas ou a sua produção por invasão de patógeno (FRIC, 1976).

Em relação a função das enzimas, BYRDE (1963) afirmou que PO e PPO podem oxidar fenóis da planta a derivados de quinonas as quais além de mais fungitóxicas, são inibidores das enzimas pectolíticas do fungo.

HAMERSCHMIDT & KUC (1982) afirmaram que a PO pode contribuir para o aumento da resistência por aumento na concentração de radicais fenoxi livres e seus produtos de polimerização. Já, FERRARIS et alii (1987) correlacionaram o aumento da atividade da enzima PO nas plantas infectadas com o aumento no total de fenóis solúveis, o que vem ao encontro dos resultados obtidos em relação as plantas infectadas das variedades IAC-24 e BH-1146, por apresentarem maior concentração de fenóis em relação às plantas sadias acompanhadas de maior atividade da enzima peroxidase.

Para a atividade da PPO, vários autores confirmaram seu aumento acompanhado do aumento da concentração de compostos fenólicos (FARKAS & KIRÁLY, 1958; KOSUGE, 1969; ROHRINGER & SAMBORSKI, 1967; TOMIYAMA, 1963). Nos resultados obtidos, no presente trabalho, nada pode-se afirmar pois ocorreu aumento na BH-1146 e diminuição na IAC após 48 horas, sempre acompanhado do aumento de fenol.

URITANI (1965) afirmou que as enzimas oxidativas fenólicas (PO e PPO) de tecidos de plantas estão envolvidas na reação de defesa. Entretanto, JENNINGS et alii (1969) observaram aumento na atividade de peroxidase e polifenoloxidase em plantas de milho infectadas com *D. carbonus* e o associaram ao aumento de suscetibilidade. Para *Poa pratensis* e *D. sorokiniana*, NILSEN et alii (1979) também observaram o aumento da PO com a expansão da doença. Os resultados obtidos com o trigo vem concordar, em parte, com os de JENNINGS et alii (1969) e NILSEN et alii (1979), pois o aumento da PO foi observado em plantas com reação de suscetibilidade mas, em relação a PPO a concentração de enzima diminuiu não sendo correlacionada com resistência ou suscetibilidade.

Em relação às plantas tratadas com goma xantana, a enzima PPO aumentou nas variedades BH-1146 e IAC-24 enquanto que, comparando com as plantas sadias e infectadas, observou-se que a planta IAC-24 reagiu deixando de diminuir a atividade. Assim, parece existir algum mecanismo que aumentou a atividade deixando as plantas suscetíveis reagirem como resistentes. Para a enzima PO, as duas variedades IAC-24 e BH-1146 tratadas com goma, permaneceram com a atividade alta no intervalo de 0 a 96 horas, estando de acordo com JENNINGS et alii (1969) e NILSEN et alii (1979) em relação a resistência e aumento das enzimas.

Outro grupo de enzimas implicadas na resistência de plantas à doenças, as enzimas hidrolíticas são capazes de hidrolizar as glucanas presentes na parede celular do fungo, sendo liberadas das células do hospedeiro para os espaços intercelulares durante a patogênese impedindo assim o desenvolvimento do fungo. BRONNER et alii (1991) e PAN et alii (1991) demonstraram a presença de uma dessas enzimas (β -1,3 glucanase) associada à resposta de defesa das plantas. Para cereais (cevada, arroz e milho), a enzima já foi descrita por BALLANCE & MANNERS (1978); BALLANCE & SVENDSEN (1988); JONDLE et alii (1989); e NASSER et alii (1990). Em trigo, foi determinada a presença da enzima β -1,3 glucanase, na interação trigo e *Puccinia*, conforme CLARKE & STONE (1962) e SOCK et alii (1990). Entretanto, para trigo-*Helminthosporium* nenhuma referência foi encontrada. Em todos os trabalhos citados acima, foi observado aumento da enzima após a infecção e principalmente em folhas de plantas resistentes ou, suscetíveis após tratamento com elicitor (SMITH et alii, 1991; DAUGROIS et alii, 1990). Diante disso, no presente trabalho, foi verificado que os resultados obtidos na interação trigo e *Bipolaris bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis* estão de acordo com o observado por outros autores, além de pré-existente na planta em pequena quantidade, e que, a concentração da enzima tende a aumentar, quando do ataque do patógeno, demonstrando ter alguma função durante a patogênese como mecanismo de defesa das plantas sadias, da variedade BH-1146.

As plantas tratadas com a goma xantana apresentaram maior atividade da β -1,3-glucanase do que as plantas sadias nas duas variedades. Em relação as tratadas com conídios inativados, estas também apresentaram maior atividade. Isto veio demonstrar que a enzima está ligada a resistência

uma vez que na variedade IAC-24, após a infecção, a atividade enzimática diminuiu enquanto na variedade BH-1146, ocorreu aumento.

Nos resultados obtidos utilizando plantas de trigo tratadas com goma xantana, foi possível observar a reação sistêmica pois a segunda folha (não-tratada), além de proteção, apresentou maior atividade da enzima glucanase.

Em relação as esterases, enzimas de grupo complexo e heterogêneo capazes de hidrolizar as ligações éster de diferentes metabólitos, as mesmas tem sido estudadas com diferentes trabalhos para diferentes propósitos, através da eletroforese. Segundo HWANG et alii (1991), muitas isoenzimas da esterase foram produzidas em plantas doentes possivelmente, pela interação planta-patógeno visto que, nas plantas sadia e não inoculada não existiam as correspondentes esterases e o referido padrão da esterase, não apresentava uma correlação com a resistência. Já, segundo HWANG & KIM (1990), as proteínas ou isoenzimas produzidas nas plantas infectadas podem vir a ser importantes na produção de compostos antifúngicos.

Assim, o padrão eletroforético das esterases, segundo HWANG et alii (1991), pode distinguir facilmente as plantas infectadas das sadias, pela baixa atividade ou pelas bandas, quase imperceptíveis. Isto sugeriu a possibilidade de que algumas isoenzimas foram sintetizadas em plantas infectadas pelo hospedeiro ou pelo patógeno.

Já , segundo GUEDES (1988), a enzima esterase não tem sido correlacionada na literatura como importante no processo de resistência mas, para diferenciar as variedades. BACH et alii (1995) também observaram a importância da esterase para diferenciar as variedades de capim-elefante.

Dessa forma, através dos resultados do presente trabalho foi possível observar que as plantas de trigo após a infecção, apresentaram aumento na atividade esterásica quando comparadas com plantas sadias, isto para as duas variedades, estando de acordo ao abordado por HWANG et alii (1991). Na variedade IAC-24, as plantas sadias e infectadas apresentaram maior mobilidade eletroforética nas bandas do que as plantas tratadas com goma xantana podendo ser devido a maior concentração de açúcares, retardando assim a velocidade de migração. Já, para a variedade BH-1146, isto não foi observado. As plantas IAC-24 e BH-1146 tratadas com goma xantana ou conídios inativados, apresentaram maior atividade nas bandas quando comparadas com sadias ou infectadas. Isto pode ser visualizado e comprovado através da Figura 31 que contem os valores da absorbância multiplicado pela área de cada banda.

Entre as variedades IAC-24 e BH-1146, foi possível observar número de bandas diferentes, sendo 3 na IAC-24 e 4 na BH-1146, estando assim de acordo com GUEDES (1988) na distinção de variedades. Dessa forma, a eletroforese envolvendo esterase veio não só diferenciar as variedades IAC-24 e BH-1146, como também diferenciar plantas sadias, inoculadas e tratadas com goma xantana.

Importante ainda a ser citado em relação às bandas isoenzimáticas 1 e 2 da variedade IAC-24, é que em todas as interações esta apresentou aumento considerável da atividade.

Para o total de fenóis não foi observada nenhuma diferença entre as duas variedades, somente aumento na concentração após a infecção. Os resultados vêm ao encontro do observado por OKU (1964) que trabalhando com plantas de arroz infectadas com *Helminthosporium*, observou aumento de substâncias fenólicas em relação a planta sadia. Também para o caso de

trigo e *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, segundo SEEVERS & DALY (1970), não foi encontrada diferença significativa no conteúdo de substâncias fenólicas totais entre plantas suscetíveis e resistentes inoculadas. Entretanto, para plantas tratadas com goma xantana ou conídio inativado, foi observada redução de fenóis. Diante disto, algum mecanismo foi ativado com intuito de diminuir a concentração de fenóis podendo ou não estar associado com a indução de resistência.

Em relação a determinação da concentração de açúcares nas plantas de trigo sadias e infectadas com *Bipolaris bicolor*, *B. sorokiniana* e *D. tritici-repentis*, foi observado aumento na concentração de glicose nas plantas das variedades IAC-24 e BH-1146. Existe muita controvérsia no tocante a presença de açúcares redutores, como por exemplo, LYLES et alii (1959) observaram maior concentração de açúcares redutores na interação trigo variedade resistente à ferrugem do que na variedade suscetível. HEISTERÜBER et alii (1994) trabalhando também com trigo e ferrugem observaram aumento considerável na concentração de glicose e frutose nas plantas suscetíveis, enquanto nas resistentes houve um pequeno aumento. Já, na relação, *Poa pratensis* e *D. sorokiniana*, GIBBS & WILCOXSON (1972) e GIBBS et alii (1973) demonstraram que não havia relação significativa no conteúdo de açúcar. ROBINSON & HODGES (1977) também não conseguiram estabelecer relação entre açúcares para *Poa pratensis* e *D. sorokiniana*, em trabalho envolvendo fertilização com diferentes concentrações de nitrogênio. Dessa forma, diante dos resultados obtidos por outros autores e, comparados com os obtidos durante o presente trabalho, podemos afirmar que os açúcares não estão envolvidos no reconhecimento molecular, pois ocorre aumento tanto na variedade resistente como na suscetível.

Para plantas tratadas com goma xantana, a quantidade de glicose foi maior quando comparada com plantas saudas e infectadas.

Segundo LEVY & COHEN (1981, 1984), a presença de açúcar disponível no filopiano da folha pode inibir a germinação dos conídios e penetração do fungo no hospedeiro. Porém, isso pode ser descartado, pois quando examinando a germinação dos conídios “*in vitro*” e na folha, foi observado que os fungos penetraram não sendo afetados pelo açúcar. Este aumento de açúcar observado nas plantas tratadas com goma xantana pode estar associado com o aumento da clorofila nas folhas.

Em relação a clorofila, as folhas tratadas com goma xantana apresentaram-se com a cor verde escuro enquanto, as folhas infectadas, com a cor verde claro. Isto vem de encontro com BERGHAUS & REISNER (1985), MONTALBINI & BUCHANAN (1974) e SINGH et alii (1982) que, estudando cultivares de trigo com diferentes reações de suscetibilidade a ferrugem, observaram que a taxa fotossintética das plantas suscetíveis diminuía e, que esta diminuição levava ao decréscimo da clorofila. Caso a planta tenha excesso de açúcares, a taxa fotossintética aumenta assim a clorofila.

Dessa forma, os resultados do presente trabalho, vem demonstrar a ocorrência de alterações bioquímicas na interação trigo e isolados de *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* e que, estas alterações, estão presentes na planta podendo, através de indutores, retornar a condição de planta sadia e resistente. Esta planta sadia deverá produzir sementes saudas, e com quantidade de proteínas necessárias para a utilização na alimentação humana. Outro fato importante a ser citado é em relação a existência de uma correlação entre o aumento de atividade enzimática da β -1,3-glucanase, polifenoloxidase, concentração da proteína

total, redução de fenóis, com a reação de indução de resistência das folhas de trigo tratadas com indutores. Assim, os resultados vem sugerir que a resistência não é devida a presença de uma enzima em particular mas, a um grupo responsável pela defesa. Isto vem de encontro com os resultados de SCHNEIDER & ULLRICH (1994), os quais observaram uma correlação entre quitinase, β -1,3-glucanase, polifenoloxidase, peroxidase, FAL e lisozima em folhas de pepino e fumo após a indução de proteção.

5.4. Indução de resistência

Os exopolissacarídeos (EPS) presentes nas cápsulas bacterianas, têm sido estudados por vários autores e em relação a ação em plantas, TAKAHASHI & DOKE (1984) descreveram que estes desempenham papel fundamental na interação patógeno-hospedeiro. SEQUEIRA (1983) e STEFANI & RUDOLPH (1989) demonstraram que os EPS apresentaram-se como indutores não-específicos, isto é, capazes de induzir resistência contra várias doenças. GUZZO et alii (1993) demonstraram na interação café- *H. vastatrix* que os EPS extraídos de cápsulas de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* e tratados com goma xantana comercial (marca Keltrol) foram capazes de induzir resistência nas plantas de café. Os resultados foram positivos apresentando uma taxa superior de 70% de proteção.

O EPS utilizado no presente trabalho foi a goma xantana comercial (marca Keltrol) utilizada para alimentos, obtida da cápsula da bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* NRRL 1459 (Inglaterra). Foram utilizadas duas concentrações da goma xantana (0,25mg/mL e 0,5 mg/mL), sendo a ideal 0,50mg do pó/mL, no intervalo de 48 horas, obtendo-se proteção variando de 95,2 - 97,5%. A goma apresentou também o efeito

sistêmico nas plantas de trigo tratadas, onde a segunda folha não-tratada apresentou proteção após as 48 horas do tratamento da primeira folha, demonstrando que o polissacarídeo desencadeia a resposta de resistência, a qual é translocada na planta. Isto vem ao encontro dos resultados obtidos por GUZZO et alii (1993), que também observaram o efeito sistêmico não só com a goma xantana, como também com os EPS preparados no laboratório.

Segundo STRÖMBERG (1995), a inoculação de qualquer indutor sensibiliza a planta pelo reconhecimento do patógeno, transmitindo sinais de célula a célula ativando assim, os genes do mecanismo de resistência. Quando uma segunda inoculação for aplicada, a planta mobiliza alguns ou todos os genes para a sua defesa contra o patógeno, dependendo do nível da indução.

Além do EPS, outras substâncias, tais como, bactéria morta pelo calor (KELLMAN & SEQUEIRA, 1972), extratos da parede celular de *Bacillus subtilis* (WARMUTH, 1986), extratos de uredíniosporos autoclavados (MARTINS et alii, 1985), entre outros, apresentam a capacidade de induzir resistência ou apresentar o efeito protetor. Diante disso, foi utilizado suspensão de conídios inativados pelo calor, a fim de se observar o efeito protetor nas plantas de trigo. Os resultados indicaram que alguma substância, liberada através do tratamento pelo calor, foi capaz de agir como indutor. Isto está de acordo com MARTINS et alii (1985) e MORAES (1976, 1991b) que demonstraram que suspensão de esporos de *Hemileia vastatrix* era capaz de induzir resistência em plantas de café infectadas com a ferrugem.

Com o intuito de comprovar se o efeito não era sobre a fase da pré-penetração dos fungos, foram visualizados, no microscópio, pedaços de folhas tratadas com goma xantana e inoculadas com os isolados. LEVY & COHEN (1981,1984) descreveram que o açúcar disponível no filoplano da folha era capaz de inibir a germinação dos conídios e a referida penetração do fungo. Entretanto, através dos resultados, foi possível observar que o tratamento não afetou o desenvolvimento do fungo na fase da pré-penetração. Dessa forma, comprovou-se que algum mecanismo foi ativado no hospedeiro e que este, atuando nos estágios pós-penetração é capaz de promover a resistência. Resultados similares foram obtidos por GUZZO et alii (1993) observando o efeito do EPS nas folhas de café com ferrugem. A germinação dos conídios “*in vitro*” confirmou que a goma xantana não teve efeito como inibidor na germinação dos conídios quando comparado com o produto propiconazole que inibe a germinação.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho propiciam as seguintes conclusões:

1) Morfologia: Os conídios dos isolados de *Drechslera tritici-repentis* são significativamente maiores do que os isolados de *Bipolaris sorokiniana*. Os isolados de *Bipolaris bicolor* apresentam conídios mais largos do que *D. tritici-repentis* e *B. sorokiniana*. Bioquímica: A análise eletroforética de isoenzimas-esterase permite diferenciar os isolados de *Drechslera* dos de *Bipolaris*;

2) Sintomatologia: No tocante a patogenicidade, a variedade BH-1146, apresenta reação de resistência na concentração de 10^3 conídios/mL e, suscetibilidade na concentração de 10^5 conídios/mL. Nas plantas IAC-24, todos os isolados provocam lesões, nas duas concentrações. Os isolados de *B. bicolor* induzem formação de manchas foliares;

3) Alterações bioquímicas: Plantas de trigo variedade IAC-24 após inoculação com *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*, apresentam decréscimo na concentração de proteínas, enzima beta-1,3-glucanase, polifenoloxidase e, aumento de fenóis e peroxidase. As plantas de trigo tratadas com indutores apresentam alterações bioquímicas, diferentes das infectadas, como aumento de atividade enzimática da β -1,3-glucanase, polifenoloxidase, concentração da proteína total e, redução de fenóis. Os resultados confirmam que a resistência é devida a presença de um grupo de substâncias ou enzimas responsável pela defesa;

4) Indução de resistência: A indução de proteção é obtida em plantas de trigo variedade IAC-24, com a utilização da goma xantana, na forma de pó, na concentração de 0,5 mg/mL, no intervalo de 48 horas entre indutor e provocador (*Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*). A proteção varia de 95% até 97%. É observado também efeito sistêmico. A suspensão de conídios de todos os isolados, inativados pelo calor, também induzem a resistência nas plantas de trigo variedade IAC-24.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCORN, J.L. The taxonomy of *Helminthosporium* species. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, **26**: 37-56, 1988.
- ANDEBRAHAN, T.; WOOD, R.K.S. The effect of ultraviolet radiation on the reaction of *Phaseolus vulgaris* to species of *Colletotrichum*. *Physiological Plant Pathology*, London, **17**: 105-110, 1980.
- ARORA, Y.K. & BAJAJ, K.L. Peroxidase and polyphenol oxidase associated with induced resistance of mung bean to *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **114**: 325-331, 1985.
- AYRES, A.R.; EBEL, J.; FINELLE, F.; BERGER, N.; ALBERSCHEIM, P. Host-pathogen interactions. IX. Quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of culture of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. *Plant Physiology*, Lancaster, **57**: 751-759, 1975a.
- AYRES, A.R.; EBEL, J.; VALENT, B.; ALBERSCHEIN, P. Host-pathogen interactions: X. Fractionation and biological activity of an elicitor isolated from the mycelial wall of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. *Plant Physiology*, Lancaster, **57**: 760, 765, 1975b.
- AYRES, A.R.; VALENT, B.; EBEL, J.; ALBERSCHEIM, P. Host-pathogen interactions: XI. Composition and structure of wall-released elicitor fractions. *Plant Physiology*, Lancaster, **57**: 766-774, 1975c.
- BACH, E.E. Utilização da eletroforese no estudo de alterações enzimáticas na interação planta-patógeno. In: *Encontro sobre aplicações da eletroforese na agropecuária*, **1**, Nova Odessa, SP., Instituto de Zootecnia, 1989, p.1- 4.

- BACH, E.E. Comparação morfológica, patogênica, serológica e eletroforética de *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs, isolado de milho, sorgo e capim massambará. Tese de Mestrado, ESALQ, 1991, 132p.
- BACH, E.E. & KIMATI, H. Análise serológica e eletroforética de *Exserohilum tucicum* isolado de milho, sorgo e capim massambará. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, **21**: 140-146, 1995.
- BACH, E.E.; KIMATI, H.; LEME, A.C.; ALCANTARA, V.B.G.; ALCANTARA, P.B.; VEASEY, E.A. Biochemical changes in *Pennisetum purpureum* leaves infected with *Exserohilum turcicum*. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, **19**: 93-95, 1993.
- BALLANCE, G.M. & MANNERS, D.J. Partial purification and properties of endo- β -1,3-glucanase from germinated rye. *Phytochemistry*, Oxford, **17**: 1539-1543, 1978.
- BALLANCE, G.M. & SVENDSEN, I.B. Purification and amino acid sequence determination of an endo- β -1,3-glucanase from barley. *Carlsberg Research Communication*, Carlsberg, **53**: 411-419, 1988.
- BEHARD, D.F.; KUC, J.; WILLIAMS, E.B. Relationship of genes for resistance to protection by diffusates from incompatible interactions of *Phaseolus vulgaris* with *Colletotrichum lindemuthianum*. *Physiological Plant Pathology*, New York, **3**: 51-56, 1973.
- BELL, A.A. & PRESLEY, J.T. Temperature effects upon resistance and phytoalexin synthesis in cotton inoculated with *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology*, St. Paul, **59**: 1141-1146, 1969a.

- BELL, A.A. & PRESLEY, J.T. Heat-inhibited or heat-killed conidia of *Verticillium albo-atrum* induced disease resistance and phytoalexin synthesis in cotton. *Phytopathology*, St. Paul, **59**:1147-1151, 1969b.
- BENHAMOU, N.; GRENIER, J.; ASSELIN, A. Immunogold localization of pathogenesis-related protein P14 in tomato root cells infected by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopercisi*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **38**: 237-253, 1991.
- BERGHAUS, R. & REISENER, H.J. Changes in photosynthesis of wheat plants infected with wheat stem rust (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*). *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **112**: 165-172, 1985.
- BERNARD, N. Remarques sur l'immunité chez les plantes. *Bulletin du Institute Pasteur*, Paris, **7**: 369-386, 1909.
- BRIGHAM, R.D. Effect of *Cercospora* disease on forage quality of alfalfa. *Agronomic Journal*, Oxford, **51**: 365, 1959.
- BRONNER, R.; WESTPHAL, E.; DREGER, F. Pathogenesis-related proteins in *Solanum dulcamara* L. resistant to the gall mite *Aceria cladophthirus* (Nalepa) (syn. *Eriophyes cladophthirus* Nal.). *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **38**: 93-104, 1991.
- BROWN, N.A. Experiments with paris daisy and rose to produce resistance to crown gall. *Phytopathology*, St. Paul, **13**: 87-99, 1923.
- BRYNGELSSON, T. & GREEN, B. Characterization of a pathogenesis-related, thaumatin-like protein isolated from barley challenged with an incompatible race of mildew. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **35**: 45-52, 1989..

- BYRDE, R.J.W. Natural inhibitors of fungal enzymes and toxins in disease resistance. IN: *Perspectives of biochemical plant pathology*, RICH, S.(edts). Colecion Agriculture Experimental Sta. Bulletin, New York, **663**: 31-47, 1963.
- CARUSO, F. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Pseudomonas lachrymans*. *Proceedings American Phytopathology Society*, New York, **3**: 159, 1977.
- CASTRO, T.A.M.G.C. & BACH, E.E. Eletroforese na Agricultura. *Zootecnia*, Nova Odessa, **31**: 73-88, 1993.
- CHAKRAVORTY, A.K.; SHAW, M.; SCRUBB, L.A. Ribonuclease activity of wheat leaves and rust infection. *Nature*, London, **47**: 577-580, 1974 a.
- CHAKRAVORTY, A.K.; SHAW, M.; SCRUBB, L.A. Changes in ribonuclease activity during rust infection. I. Characterization of multiple molecular forms of ribonuclease from slow rust grown in host-free media. *Physiological Plant Pathology*, New York, **4**: 313-334, 1974b.
- CHESTER, K.S. The problem of acquired physiological immunity in plants. *Chemical Review Biology*, New York, **8**: 129-154, 275-324, 1933.
- CHRIST. V. & MOSINGER, E. Pathogenesis-related proteins of tomato: I. Induction by *Phytophthora infestans* and other biotic and abiotic inducers and correlations with resistance. *Physiological Molecular Plant Pathology*, New York, **35**: 53-65, 1989.
- CLARKE, A.E. & STONE, B.A. β -1,3-Glucan hydrolases from the grape vine (*Vitis vinifera*) and other plants. *Phytochemistry*, Oxford, **1**: 175-188, 1962.

- COHEN, Y.; & KUC.J. Evaluation of systemic resistance to blue mold induced in tobacco leaves by prior inoculation by *Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina*. *Phytopathology*, St. Paul, **71**: 783-789, 1980.
- COHEN, Y.; NIDERMAN, T.; MOSINGER, E.; FLUHR, R. Beta-aminobutyric acid induces the accumulation of pathogenesis-related proteins in tomato (*Lycopersicum esculentum* L.) plants and resistance to late blight infection caused by *Phytophthora infestans*. *Plant Physiology*, Lancaster, **104**: 59-66, 1994.
- CONTI, G.G.; BASSI, M.; MAFFI, D.; VIOLINI, G.; MAGNANI, L; GATTI, L. Induced systemic resistance against *Sphaerotheca fuliginea* in cucumber: efficiency of tobacco necrosis virus (TNV) and copper sulphate in eliciting defense reactions. *Journal of Phytopathology*, Berlin, **140**: 123-132, 1994.
- DAUGROIS, J.H.; LAFITTE, C.; BARTHE, J.P.; TOUZE, A. Induction of β -1,3-glucanase and chitinase activity in compatible and incompatible interactions between *Colletotrichum lindemuthianum* and bean cultivars. *Journal of Phytopathology*, Berlin, **143**: 225-234, 1990.
- DEVERALL, B.J.; SMITH, I.M.; MAKRIS, S. Disease resistance in *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris*. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, Netherlands, **74**: 137-148, 1968.
- DOLAN, T.E.; COHEN, Y.; COFFEY, M.D. Protection of *Persea* species against *Phytophthora cinnamoni* and *P. citricola* by prior inoculation with a citrus isolate of *P.parasitica*. *Phytopathology*, St. Paul., **76**: 194-196, 1986.

- EBRAHIM-NESBAT, F.; BALDER, H.; SCHOENBECK, F.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen des Gerstenmehltaus (*Erysiphe graminis* D.C. f. sp. *hordei* Marchall) nach Resistenzinduktion mit mikrobiellen Stoffwechselprodukten. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **106**: 76-89, 1983.
- EBRAHIM-NESBAT, F. & SCHOENBECK, F. Further electron microscopical studies of induced resistance of barley against *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*. *Phytopatology Zeitschrift*, Berlin, **113**: 219-230, 1985.
- EDER, J. Merkblätter für Pflanzenbau-Winterroggenz. *Bayerische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau*, Freising-München, **19**, 1994, 4p.
- ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E.B. Induced resistance to anthracnose at a distance from the site of the inducing interaction. *Phytopathology*, St. Paul, **61**: 1110-1112, 1971.
- ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E.B. Protection of beans against anthracnose by *Colletotrichum* species nonpathogenic on bean. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **86**: 117-126, 1976a.
- ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E.B. A comparative study of the development of compatible, incompatible and induced interactions between *Colletotrichum* species and *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **87**: 289-303, 1976b.
- ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E.B. Effect of heat-treatment on the resistance of *Phaseolus vulgaris* to *Colletotrichum lindemuthianum* and *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **88**: 43-52, 1976c.

- ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E.B.; RAHE, J.E. Relation of phytoalexin accumulation to local and systemic protection of bean against anthracnose. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **88**: 114-130, 1977.
- EVERY, D.; GERRARD, J.A.; GILPIN, M.J. β -amylase activity in commercial gluten. *Journal Science Food Agriculture*, Great Britain, **69**: 257- 263, 1995.
- FARKAS, G.L. & KIRÁLY, Z. Role of phenolic compounds in the physiology of plant diseases and disease resistance. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **44**: 105-150, 1958.
- FARKAS, G.L. & STAHMANN, M.A. On the nature of changes in peroxidase isoenzymes in bean leaves infected by southern bean mosaic virus. *Phytopathology*, St. Paul, **56**: 569-677, 1966.
- FERRARIS, L.; ABBATTISTA GENTILE, I.; MATTA, A. Variations of phenols concentration as a consequence of stresses that induce resistance to *Fusarium* wilt of tomato. *Zeitschrift Pflanzenkrankheiten Pflanzenschutz*, Berlin, **94**: 624-629, 1987.
- FIGUEIREDO, M.B. Estudos sobre a aplicação do método de Castellani para a conservação de fungos patogênicos em plantas. *Biológico*, São Paulo, **33**: 9-13, 1967.
- FISCHER, W.; CHRIST, V.; BAUMGARTNER, M.; ERISMANN, K.H.; MOSINGER, E. Pathogenesis-related proteins of tomato: II. Biochemical and immunological characterization. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **35**: 67-83, 1989.

- FLEMING, T.M.; MCCARTHY, D.A.; WHITE, R.F.; ANTONIRO, J.F.; MIKKELSEN, J.D. Induction and characterization of some of the pathogenesis-related proteins in sugar beet. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **39**: 147-160, 1991.
- FORCELINI, C.A. Trigo - a importância do tratamento de sementes. *Correio Agropecuário*, São Paulo, **1** (1) : 2-5, 1991.
- FRIC, F. Oxidative enzymes. IN: HEITEFUSS, R. & WILLIAMS, P.H. (Editores). *Physiological Plant Pathology*. Enciclopedia of Plant Pathology, New series, **4**: 617-631, Springer Verlag, Berlin, 1976.
- GIBBS, A.F. & WILCOXSON, R.D. Effect of sugar content of *Poa pratensis* on *Helminthosporium* leaf disease. *Physiological Plant Pathology*, London, **2**: 279-287, 1972.
- GIBBS, A .F.; WILCOXSON, R.D.; THOMAS, H.L. The effect of nitrogen fertilization and mowing on *Helminthosporium* leaf spot and sugar content of bluegrass leaves. *Plant Disease Reporter*, New York, **57**: 544-548, 1973.
- GOODMAN, R.N.; KIRÁLY, Z.; ZAITLIN, M. *The biochemistry and physiology of infectious plant disease*. London, 354p., 1967.
- GUEDES, M.E.M. Isozyme studies in compatible and incompatible *Coffea arabica*-*Hemileia vastatrix* interactions. *Broteria Genetica*, Portugal, **9**: 83-92, 1988.
- GUEDES, M.E.M. & BACH, E. Resistência induzida e proteínas totais em folhas de cafeeiro previamente tratadas com D-manose e seguidamente inoculadas com ferrugem alaranjada. *Broteria Genetica*, Portugal, **9**: 93-100, 1988.

- GUZZO, S.D.; BACH, E.E.; MARTINS, E.M.F.; MORAES, W.B.C. Crude exopolysaccharides (EPS) from *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, *X. campestris* pv. *campestris* and commercial xanthan gum as inducers of protection in coffee plants against *Hemileia vastatrix*. *Journal of Phytopathology*, Berlin, **139**: 119-128, 1993.
- HAMMERSCHMIDT, R. & KUC, J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. *Physiological Plant Pathology*, New York, **20**: 61-71, 1982.
- HAMMERSCHMIDT, R.; ACRES, S.; KUC, J. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* and *Cladosporium cucumerinum*. *Phytopathology*, St. Paul, **66**: 790-793, 1976.
- HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E.M.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, London, **20**: 73-82, 1982.
- HEALE, J.B. & SHARMAN, S. Induced resistance to *Botrytis cinerea* in root slices and tissue culture of carrots (*Daucus carota* L.). *Physiological Plant Pathology*, London, **10**: 51-61, 1977.
- HEDRICK, S.A.; BELL, J.N.; BOLLER, T.; LAMB, C.J. Chitinase cDNA cloning and mRNA induction by fungal elicitor, wounding, and infection. *Plant Physiology*, Maryland, **86**: 182-186, 1988.
- HEISTERÜBER, D.; SCHULTE, P.; MOERSCHBACHER, B. M. Soluble carbohydrates and invertase activity in stem rust-infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **44**: 111-123, 1994.

- HOLDEN, D.W. & ROHRINGER, R. Proteins in intercellular washing fluid from noninoculated and rust-affected leaves of wheat and barley. *Plant Physiology*, Lancaster, **78**: 715-723, 1985.
- HORSFALL, J.G. & DIMOND, A.E. Interactions of tissue sugar, growth substances and disease susceptibility. *Pflanzen Pflanzenschutz*, Berlin, **64**: 415-421, 1957.
- HOSFORD, R.M.,JR. A form of *Pyrenophora trichostoma* pathogenic to wheat and other grasses. *Phytopathology*, St. Paul., **61**: 28-32, 1971.
- HOWARD, R.J. & MORRALL, R.A.A. The epidemiology of leaf spot disease in a native prum. The progression of disease with time. *Canadian Journal of Botany*, Canadá, **53**: 1040-1050, 1975.
- HUGHES, S.J. Conidiophores, conidia and classification. *Canadian Journal of Botany*, Canadá, **31**: 577-659, 1953.
- HUGHES, S.J. Revisiones hyphomycetum aliquot cum appendice de nominibus rejiciendis. *Canadian Journal of Botany*, Canadá, **36**: 727-836, 1958.
- HUNGER, R.M. & BROWN, D.A . Colony color, growth, sporulation, fungicide sensitivity and pathogenicity of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Plant Disease*, London, **71**: 907-910, 1987.
- HWANG, B.K. & KIM, Y.J. Capsidiol production in pepper plants associated with age-related resistance to *Phytophthora capsici*. *Korean Journal of Plant Pathology*, Korean, **6**: 193-200, 1990.
- HWANG, B.K.; YOON, J.Y.; IBENTHAL, W.D.; HEITEFUSS, R. Soluble proteins, esterases and superoxide dismutase in stem tissue of pepper plants in relation to age-related resistance to *Phytophthora capsici*. *Journal of Phytopathology*, Berlin, **132**: 129-138, 1991.

- ISAWA, K. & NISHIHARA, N. Chemical composition of ladino clover infected with *Curvularia* leaf blight. *Bulletin National Grassland Research Institut*, London, **7**: 99-106, 1975.
- JEFFREY, S.W. & HUMPHREY, G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a,b,c in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemistry and Physiology Planzen*, Berlin, **167**: 191-194, 1975.
- JENNINGS, P.H.; BRANNAMAN, B.L.; ZCHEILE, F.P.Jr. Peroxidase and polyphenol oxidase activity associated with *Helminthosporium* leaf spot of maize. *Phytopathology*, St. Paul, **59**: 963-967, 1969.
- JENNS, A. & KUC, J. Graft transmission of systemic resistance of cucumber to anthracnose induced by *Colletotrichum lagenarium* and tobacco necrosis virus. *Phytopathology*, St. Paul, **69**: 753-756, 1979.
- JENNS, A. & KUC, J. Characteristics of anthracnose resistance induced by localized infection with tobacco necrosis virus. *Physiological Plant Pathology*, London, **17**: 81-91, 1980.
- JENNS, A.; CARUSO, F.; KUC, J. Nonspecific resistance to pathogens induced systemically by local infection of cucumber with tobacco necrosis virus, *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ell. et Halst or *Pseudomonas lacrymans* (Sm. et Bryan) Carsner. *Phytopathologia Mediterranea*, Bologna, **18**: 129-134, 1979.
- J.OESP. - Trigo permanecerá caro no segundo semestre. *Jornal do Estado de São Paulo - Agrícola* 12/7/96 - pág. G11.
- JONDLE, D.J.; COORS, J.G.; DUKE, S.H. Maize leaf beta-1,3-glucanase activity in relation to resistance to *Exserohilum turcicum*. *Canadian Journal of Botany*, Canadá, **67**: 263-266, 1989.

- KARN, J.F. & KRUPINSKY, J.M. Chemical composition of interaction wheatgrass affected by foliar diseases and stem smut. *Phytopathology*, St. Paul, **73**: 1152-1155, 1983.
- KAUFFMANN, S.; LEGRAND, M.; GEOFFROY, P.; FRITTIG, B. Biological function of pathogenesis-related proteins. Four PR-proteins of tobacco have 1,3-beta-glucanase activity. *EMBO Journal*, USA, **6**:3209-3212, 1987.
- KELLMAN, A.; SEQUEIRA, L. Resistance in plants to bacteria. *Proceedings Regional Society London*, London, **181**: 247-266, 1972.
- KEMBRINK, E.; SCHODER, M.; HAHLBROCK, K. Several pathogenesis-related proteins in potato are 1,3-beta-glucanases and chitinases. *Proceedings of National Academy of Sciences*, USA, **85**: 782-786, 1988.
- KESSMANN, H.; STAUB, T.; LIGON, J.; OOSTENDORP, M.; RYALS, J. Activation of systemic acquired disease resistance in plants. *European Journal of Plant Pathology*, Netherlands, **100**: 359-369, 1994.
- KOSUGE, T. The role of phenolics in host response to infection. *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, **7**: 195-220, 1969.
- KUC, J. Plant immunization-mechanisms and practical implications. In: WOOD, R.K.S.; TJAMOS, E. *Plant defense mechanisms in plants*, New York, Plenum, 1982, p. 157-178.
- KUC, J. Plant immunization and its applicability for disease control. In: CHET, K.(ed). *Innovative approaches to plant disease control*. New York, John Wiley & Sonns, p. 255-274, 1987.
- KUC, J. & TUZUN, S. Immunization for disease resistance in tobacco. *Recent Advances in Tobacco Sciences*, USA, **9**: 179-213, 1983.

- KUC, J.; SCHOCKLEY, G.; KEARNEY, K. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Physiological Plant Pathology*, London, **7**: 195-199, 1975.
- KUTSNER, B.; HELLWALD, K.H.; BUCHENAUER, H. Systemic induction of resistance in *Phaseolus vulgaris* L. to tobacco necrosis virus (TNV) by *Uromyces phaseoli* (Pers). *Journal of Phytopathology*, Berlin, **138**: 9-20, 1993.
- LAM, A. Effect of fungal pathogens on digestibility and chemical composition of Italian rye grass (*Lolium multiflorum*) and tall fescue (*Festuca arundinacea*). *Plant Pathology*, New York, **34**: 190-199, 1985.
- LAREZ, C.R.; HOSFORD, R.M.; FREEMAN, T.P. Infection of wheat and oats by *Pyrenophora tritici-repentis* and initial characterization of resistance. *Phytopathology*, St. Paul, **76**: 931-938, 1986.
- LARGE, E.C. Growth stages in cereal: Illustration of the Feekes scale. *Plant Pathology*, New York, **3**: 129, 1954.
- LAWTON, M.A.; DIXON, R.A.; HAHLBROCK, K.; LAMB, C.J. Rapid induction of the synthesis of phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase in elicitor-treated plant cells. *European Journal Biochemistry*, Berlin, **129**: 593-601, 1983a.
- LAWTON, M.A.; DIXON, R.A.; HAHLBROCK, K.; LAMB, C.J. Elicitor induction of mRNA activity. Rapid effects of elicitor on phenylalanine ammonia-lyase and chalcone synthase mRNA activities in bean cells. *European Journal Biochemistry*, Berlin, **130**: 131-139, 1983b

- LEEMAN, M.; van PELT, J.A.; den OUDEN, F.M.; HEINSBROCK, M.; BAKKER, P.A. H.; SCHIPPERS, B. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* in radish cultivars differing in susceptibility to fusarium wilt, using a novel bioassay. *European Journal of Plant Pathology*, Netherlands, **101**: 655-664, 1995.
- LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. *Analytical Biochemistry*, Academic Press, **47**: 273-279, 1972.
- LEVY, Y. & COHEN, Y. Sporulation of *Helminthosporium turcicum* on sweet corn: effects of light and sugars. *Physiological Plant Pathology*, London, **18**: 17-25, 1981.
- LEVY, Y. & COHEN, Y. A negative association between leaf sugar content and the development of northern leaf blight lesions in sweet corn. *Physiological Plant Pathology*, London, **24**: 247-252, 1984.
- LINHARES, A.I.; LUZ, W.C. Ocorrência de *Drechslera tritici-repentis* em sementes de trigo no Mato Grosso do Sul. *Fitopatologia brasileira*, Brasília, **21**: 126, 1996.
- LITTLEFIELD, L.J. Flax-rust resistance induced by prior inoculation with an avirulent race of *Melampsora lini*. *Phytopathology*, St. Paul, **59**: 1323-1328, 1969.
- LYLES, W.E.FUTRELL, M.C.; ATKINS, I.M. Relation between reaction to race 15B of stem rust and reducing sugars and sucrose in wheat. *Phytopathology*, St. Paul, **49**: 254-256, 1959.
- LOPEZ, A.M.Q. Controle alternativo da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (CES) Wills em sorgo (*Sorghum bicolor* L.) (Moensch)), Rio Claro, 1991. 203p. (Mestrado - Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho).

- LOUGHMAN, R. & DEVERALL, B.J. Infection of resistant and susceptible cultivars of wheat by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Plant pathology*, New York, **35**: 443-450, 1986.
- LOVREKOVICH, L. & FARKAS, G.L. Induced protection against wildfire disease in tobacco leaves treated with heat-killed bacteria. *Nature*, London, **205**: 823-824, 1965.
- LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal Biological Chemistry*, Baltimore, **193**: 265-275, 1951.
- LOZANO, J.C. & SEQUEIRA, L. Prevention of the hypersensitive reaction in tobacco leaves by heat-killed bacterial cells. *Phytopathology*, St. Paul, **60**: 875-879, 1970.
- LUZ, W.C. Identificação dos principais fungos das sementes de trigo. *Circular técnica- EMBRAPA-MA-CNPT*, 1987.
- LUZ, W.C. & HOSFORD, R.M.,JR. Twelve *Pyrenophora trichostoma* races for virulence to wheat in the Central Plains of North America. *Phytopathology*, St. Paul, **70**: 1193, 1196, 1980.
- MACHADO, J.C. Controle de fitopatógenos associados a sementes. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, **8** (91): 34-40, 1982.
- MADAMANCHI, R.N. & KUC, J. Induced systemic resistance in plants. In: COLLE, G.T. & HOCH, H.C. (ed). *The fungal spore and disease initiation in plants and animals*. New York, Plenum Press, p.347-362, 1991.
- MAINER, A. & LEATH, K.T. Foliar diseases alter carbohydrate and proteins levels in leaves of alfalfa and orchardgrass. *Phytopathology*, St. Paul., **68**: 1252-1255, 1978.

- MARTINS, E.M.F.; BERETTA, M.J.G.; MORAES, W.B.C. Indução de proteção a *Hemileia vastatrix* em plantas de café suscetíveis por bactérias não-patogênicas ao cafeeiro. *Resumos do XII Congresso Brasileiro de Fitopatologia*, Salvador, pp.231, 1980.
- MARTINS, E.M.F.; BERETTA, M.J.G.; ROVERATTI, D.S.; MORAES, W.B.C. Comparative induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants by non-specific inducers from different fungal and bacterial origins. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, **10**: 521-529, 1985.
- MASCARENHAS, M.G. O pão nosso de cada dia. *Globo Ciência*, SP, **11**: 41-45, 1992.
- MEHTA, Y.R. *Doenças do trigo e seu controle*, São Paulo, Agronômica Ceres, 1978, 190p.
- MOERSCHBACHER, B.M.; HECK, B.; KOGEL, K.H.; OBST, O.; REISNER, H.J. An elicitor of the hypersensitive lignification response in wheat leaves isolated from the rust fungus *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Zeitschrift für Naturforschung*, Berlin. **41**: 32-37, 1986.
- MONTALBINI, P. & BUCHANAN, B.B. Effect of a rust infection on photophosphorylation by isolated chloroplasts. *Physiological Plant Pathology*, London, **4**: 191-196, 1974.
- MORAES, W.B.C. Bioquímica de la resistencia: Un control alternativo de la roya del cafeto. IN: BECKER-RATERINK, S.; MORAES, W.B.C.; QUIJANO-RICO, M. (Editores). *La Roya del Cafeto-GTZ*, Alemanha, 1991a, p. 67-172.

- MORAES, W.B.C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. IN: BETTIOL, W.(Editor). *Controle biológico de doenças de plantas*. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1991b, capítulo 10, p. 157-179.
- MORAES, W.B.C.; MARINS, E.M.F.; BERETTA, M.J.G.; MUSUMECI, M.R. Induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, **2**: 30-43, 1976.
- MOREJON, K.R. & MORAES, M.H.D. Uma nova espécie de *Helminthosporium* Link. sobre sementes de trigo (*Triticum aestivum*) no Brasil. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, **19**: 39, 1993.
- MOZZETTI, C.; FERRARIS, L.; TAMIETTI, G.; MATTA, A. Variation in enzyme activities in leaves and cell suspensions as markers of incompatibility in different *Phytophthora* - pepper interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **46**: 95-107, 1995.
- MUCHOVEJ, J.J.; MUCHOVEJ, R.M.C.; RIBEIRO-NESIO, M.L. Taxonomia de *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*. *Fitopatologia brasileira*, Brasília, **13**: 211-223, 1988.
- NASSER, L.C.B. Testes de sanidade de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.). In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V.S. (editores). *Patologia de Sementes*., Campinas, Fundação Cargill, 1987, p. 469-480.
- NASSER, W.; TAPIA, M.; BURKARD, G. Maize pathogenesis-related proteins: characterization and cellular distribution of 1,3-beta-glucanases and chitinases induced by brome mosaic virus infection or mercuric chlorid treatment. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **36**: 1-14, 1990.

- NG, P.K.W. & BUSHUK, W. Glutenin of marquis wheat as a reference for estimating molecular weights of glutenin subunits by sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. *Cereal Chemistry*, New York, **64**: 324-327, 1987.
- NIELSEN, K.K.; BOJSEN, R.; COLLINGE, D.B.; MIKKELSEN, J.D. Induced resistance in sugar against *Cercospora beticola*: induction by dichloroisonicotinic acid is independent of chitinase and beta-1,3-glucanase transcript accumulation. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **45**: 89-99, 1994.
- NILSEN, K.N.; HODGES, C.F.; MADSEN, J.P. Pathogenesis of *Drechslera sorokiniana* leaf spot on progressively older leaves of *Poa pratensis* as influenced by photoperiod and light quality. *Physiological Plant Pathology*, New York. **15**: 171-176, 1979.
- OLIVEIRA, A.M.R. & BAIER, A.C. Qualidade industrial e resistência à helminthosporiose e à fusariose em triticales, trigo e centeio. *Pesquisa Agropecuária brasileira*, Brasília, **28**: 603-608, 1993.
- OKU, H. Host-parasite relation in *Helminthosporium* leaf spot disease of rice plant from the viewpoint of biochemical nature of the pathogen. In: KIRÁLY, Z.; UBRIZSY, G. *Host-parasite relations in plant pathology*, New York, 1964, p. 183-191.
- PAN, S.Q.; YE, X.S.; KUC, J. Association of beta-1,3-glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mould in tobacco induced by stem infection with *Peronospora tabacina* or leaf inoculation with tobacco mosaic virus. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **39**: 25-29, 1991.

- PASCHOLATTI, S.F.; MORAES, W.B.C.; FIQUEIREDO, M.B.; RODRIGUES, A.R. Induced protection in melon plants against *Mycosphaerella melonis* by prior inoculations with *Helminthosporium carbonum* or heat-inactivated *M. melonis*. *Fitopatologia brasileira*, Brasília, **11**: 507-514, 1986.
- PASCHOLATTI, S.F. & LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (Editores). *Manual de Fitopatologia*, 3. edição, São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 1995. Vol I, cap.22, p.417-453.
- PICCININ, E. Uso de *Saccharomyces cerevisiae* na proteção de plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*), maracujá azedo amarelo (*Passiflora edulis*) e eucalipto (*Eucaliptus* spp.) contra fitopatógenos fúngicos e bacterianos. Diss. Mestrado ESALQ, 1995.
- PICCININ, E. & PASCHOLATTI, S.F. Crescimento, esporulação e patogenicidade de isolados de *Colletotrichum graminicola* após 14 anos de preservação pelo método de Castellani. *Fitopatologia brasileira*, Brasília, **21**: 499-502, 1996.
- PICININI, E.C. O controle de uma doença em potencial. *Correio Agrícola*, S. Paulo, **1**: 7-9, 1990.
- PLATT, H.A.; MORRALL, R.A.A.; GRUEN, H.E. The effects of substrate, temperature and photoperiod on conidiation of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Canadian Journal of Botany*, Canadá, **55**: 254-259, 1977.

- PURE, G.A.; CHAKRAVORTY, A.K.; SCOTT, K.J. Changes in wheat leaf polysomal messenger RNA populations during the early stages of rust infection. Effects of chloramphenicol and lincomycin on cell-free translation by polysomes from healthy and infected leaves. *Plant Physiology*, Maryland, **66**: 520-524, 1980.
- RAHE, J.E.; KUC, J.; CHUANG, C.M.; WILLIAMS, E.B. Induced resistance in *Phaseolus vulgaris* to bean anthracnose. *Phytopathology*, St. Paul, **59**: 1641-1645, 1969.
- RAY, J. Cultures et formes atténuées des maladies cryptogamiques des végétaux. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de L'Academie des Sciences*, Paris, **133**: 307-309, 1901.
- REIS, E.M. Sementes de trigo infectadas por *Helminthosporium sativum*: fonte de inóculo para a podridão comum das raízes e seu controle pelo tratamento com fungicidas. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, **8**: 29-39, 1982.
- REIS, E.M. *Patologia de sementes de cereais de inverno*, S. Paulo, CNDA, 1987, 32p.
- REIS, E.M. & FORCELINI, C.A. Transmissão de *Bipolaris sorokiniana* de sementes para órgãos radiculares e aéreos do trigo. *Fitopatologia brasileira*, Brasília, **18**: 76-81, 1993.
- REIS, E.M.; FERNANDES, J.M.C.; PICININI, E.C. Estratégia para o controle de doenças do trigo. Passo Fundo : EMBRAPA - CNPT, 1988. 50p. (EMBRAPA - CNPT, Documentos, 7).

- REUVENI, R. & BOTHMA, C.G. The relationship between peroxidase activity and resistance to *Sphaeroteca fuliginea* in melons. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlim, **114**: 260-267, 1985.
- RICHMOND, S.; KUC, J.; ELLISTON, J. Penetration of cucumber leaves by *Colletotrichum lagenarium* is reduced in plants systemically protected by previous infection with the pathogen. *Physiological Plant Pathology*, London, **14**: 329-338, 1979.
- ROBINSON, P.W. & HODGES, C.F. Effect of nitrogen fertilization on free amino acid and soluble sugar content of *Poa pratensis* and on infection and disease severity by *Drechslera sorokiniana*. *Phytopathology*, St. Paul, **67**: 1239-1244, 1977.
- ROHRINGER, R. & SAMBORSKI, D.J. Aromatic compounds in the host-parasite interaction. *Annual Review of Phytopathology*, New York, **5**: 77-86, 1967.
- RONCATTO, M.C. & PASCHOLATI, S.F. Mesocótilos estiolados de sorgo: bioensaio para a caracterização de frações de *Saccharomyces cerevisiae* envolvidos na proteção de plantas de sorgo contra fungos. In: *6 Reunião anual do Instituto Biológico*, São Paulo, 1993, p.31 (resumo).
- ROVERATTI, D.S.; GUZZO, S.D.; MORAES, W.B.C. Emprego do controle alternativo da ferrugem do cafeeiro através da indução de resistência. (Resumen). *XII Congresso Brasileiro de Doenças e Pragas do Café*, Caxambú, MG, 28-31 de outubro, 1985.
- ROVERATTI, D.S. Proteção de plantas de café (*Coffea arabica* L.) contra *Hemileia vastatrix* Berk et Br., por *Sacharomyces cerevisiae*. Piracicaba, 1989, 94p. (Mestrado - ESALQ-USP).

- SAMBORSKI, D.J.; FORSYTH, F.R.; PARSON, C. Metabolic changes in detached wheat leaves floated on benzimidazole and the effect of these changes in rust reactions. *Canadian Journal of Botany*, Canadá, **36**: 591-601, 1958.
- SANTOS, H.P.; REIS, E.M.; PEREIRA, L.R. Rotação de culturas. XVII. Efeitos no rendimento de grãos e nas doenças do sistema radicular do trigo de 1980 a 1987. *Pesquisa Agropecuária brasileira*, Brasília, **25**: 1627 - 1635, 1990.
- SANTOS, H.P.; REIS, E.M.; LHAMBY, J.C.B.; WOBETO, C. Efeito da rotação de culturas sobre o trigo, em sistema plantio direto, em Guarapuava, PR. *Pesquisa Agropecuária brasileira*, Brasília, **31**: 259-267, 1996.
- SCHEFFER, R.P. Role of toxins in evolution and ecology of plant pathogenic fungi. *Experientia*, Suíça, **47**: 804-811, 1991.
- SCHNEIDER, S. & ULLRICH, W.R. Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **45**: 291-304, 1994.
- SEQUEIRA, I. The acquisition of systemic resistance by prior inoculation. In: Daly, J.M. & Uritani, I. *Recognition and specificity in plant host-parasite interactions*. 231-251, 1979.
- SEQUEIRA, L. Mechanisms of induced resistance in plants. *Annual Review Microbiology*, London, **37**: 51-79, 1983.
- SEEVERS, P.M. & DALY, J.M. Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. II. Peroxidase activities. *Phytopathology*, St. Paul, **60**: 1642-1647, 1970.

- SHERWOOD, R.T.; VANCE, C.P. Resistance to fungal penetration in gramineae. *Phytopathology*, St. Paul, **70**: 273-279, 1980.
- SHOEMAKER, R.A. Nomenclature of *Drechslera* and *Bipolaris* grass parasites segregated from "Helminthosporium". *Canadian J. Botany*, Canadá, **37**: 879-887, 1959.
- SHOEMAKER, R.A. *Drechslera* Ito. *Canadian J. Botany*, Canadá, **40**: 809-836, 1962.
- SHREE, M.P. & REDDY, C.N. Effect of helminthosporiose infection on certain biochemical constituents in the resistant and susceptible varieties of sorghum. *Indian Journal of Plant Pathology*, India, **4**: 46-52, 1986.
- SILVA, S.R. Aspectos do controle da antracnose em plantas de milho (*Zea mays* L.), mantidas em casa-de-vegetação pelo emprego de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen. Tese de Mestrado, ESALQ, 1989, 81p.
- SINGH, H.; AGARWAL, P.D.; BHATTACHARYA, G.; SETHI, I. Changes in chloroplast pigments in wheat leaves infected with *Puccinia graminis tritici*. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **104**: 193-210, 1982.
- SKIPP, R.A. & DEVERALL, B.J. Studies on cross-protection in the anthracnose disease of bean. *Physiology Plant Pathology*, New York, **3**: 299-314, 1973..
- SMITH, E.F. *Bacteria in relation to plant diseases*. Washington, Carnigie Institution of Washington, 1911, v.2.

- SMITH, J.A.; HAMMERSCHMIDT, R.; FULBRIGHT, D.W. Rapid induction of systemic resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **38**: 223-235, 1991.
- SOCK, J.; ROHRINGER, R.; ZANG, Z. Extracellular beta-1,3-glucanases in stem rust affected and abiotically stressed wheat leaves. Immunocytochemical localization of the enzyme and detection of multiple forms in gels by activity staining with dye-labeled laminarin. *Plant Physiology*, Lancaster, **94**: 1376-1389, 1990.
- SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, **160**: 61-68, 1945.
- SOUTHERTON, S.G. & DEVERALL, B.J. Changes in phenylalanine ammonia-lyase and peroxidase activities in wheat cultivars expressing resistance to the leaf-rust fungus. *Plant Pathology*, New York, **39**: 223-230, 1990.
- SRIVASTAVA, S.K. Peroxidase and poly-phenol oxidase in *Brassica juncea* plants infected with *Macrophomina phaseolina* (Tassai) Goid. and their implication in disease resistance. *Journal of Phytopathology*, Berlin, **120**: 249-254, 1987.
- STAHMANN, M.A. & DEMOREST, D.M. Changes in enzymes of host and pathogen with special reference to peroxidase interaction. In: BYRDE, R.J.W.; CUTTING, C.V.(Editores), *Fungal pathogenicity and the plant's response*. Proc. Sumposium held at Long Ashton Research Station-University Bristol. Edit. Academic Press, New York, 1973, p. 405-422.

- STEFANI, E. & RUDOLPH, K. Induced resistance in bean leaves pretreated with extracellular polysaccharides from phytopathogenic bacteria. *Journal of Phytopathology*, Berlin, **124**: 189-199, 1989.
- STERMER, B.A.; HAMMERSCHMIDT, R. Heat shock induces resistance to *Cladosporium cucumerinum* and enhances peroxidase activity in cucumbers. *Physiological Plant Pathology*, London, **25**: 239-249, 1984.
- STERMER, B.A.; HAMMERSCHMIDT, R. Association of heat-shock induced resistance to disease with increased accumulation of insoluble extensin and ethylene synthesis. *Physiology and Molecular Plant Pathology*, New York, **31**: 453-461, 1987.
- STINTZI, A.; HEITZ, T.; KAUFFMANN, S.; LEGRAND, M.; FRITIG, B. Identification of a basic pathogenesis-related thaumatin-like protein of virus-infected tobacco as osmotin. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **38**: 137-146, 1991.
- STRÖMBERG, A. Systemically induced resistance in potato cultivars with different degree of resistance to late blight caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Journal of Phytopathology*, Berlin, **143**: 27-31, 1995.
- SUTERI, B.D. Metabolic changes in soybean plants infected with two strains of soybean mosaic virus. *Indian Phytopathology*, Indian, **38**: 714-720, 1985.
- SWAIN, R. & HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Oxford, **10**: 63-68, 1959.

- TAKAHASHI, T. & DOKE, N. A role extracellular polysaccharides of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* in bacterial adhesion of citrus leaf tissues in preinfection stage. *Annual Review of Phytopathology Society Japan*, Japan, **50**: 565-573, 1984.
- TANI, T. & YAMAMOTO, H. RNA and protein synthesis and enzyme changes during infection. In: DALY, J.M. & URITANI, I. *Recognition and specificity in plant host-parasite interactions*. Tokyo, 1979, p. 273-287.
- TAYAL, M.S.; AGARWAL, M.L.; GOEL, A . K.; KUMARY, S. Starch, IAA, amino acids and oxidative enzymes in leaves of *Phoenix sylvestris* infected by *Graphiola phoenicis*. *Indian Phytopathology*, Indian, **37**: 146-148, 1984.
- TOMIYAMA, K. Physiology and biochemistry of disease resistance of plants. *Annual Review of Phytopathology*, New York, **1**: 295-316, 1963.
- TUITE, J. Media and nutrient solutions. In: TUIE, J., ed. *Plant pathological methods*, Mineapolis, Burgess Publishing Company, 1969, p.40 e p.143.
- TUZUN, S. & KUC, J. A modified technique for inducing systemic resistance to blue mold and increasing growth of tobacco. *Phytopathology*, St. Paul, **75**: 1127-1129, 1985a.
- TUZUN, S. & KUC, J. Movement of a factor in tobacco infected with *Peronospora tabacina* Adams which systemically protects against blue mold. *Physiological Plant Pathology*, London, **26**: 321-330, 1985b.

- TUZUN, S. & KUC, J. Persistence of induced systemic resistance to blue mold in tobacco plants derived via tissue culture. *Phytopathology*, St. Paul, **76**: 938-941, 1986.
- UKNES, S.; MAUCH-MANI, B.; MOYER, M.; POTTER, S.; WILLIAMS, S.; DINCHER, S.; SLUSARENKO, A.; WARD, E.; RYALS, J. Acquired resistance in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, England, **4**: 645-656, 1993.
- URITANI, I. Molecular pathology in plant field with special regard to defence action of the host. *Deutsch Akademische Landwirtschaftswissenschaften*, Berlin, **74**: 201-218, 1965.
- VAN HOOFF, A.; LEYMAM, J.; SCHEFFER, H.J.; WALTON, J.D. A single beta-1,3-glucanase secreted by the maize pathogen *C. carbonum* acts by an exolytic mechanism. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **39**: 259-267, 1991.
- VERA, P. & CONEGERO, V. Pathogenesis-related proteins of tomato P69 as an alkaline endoproteinase. *Plant Physiology*, Lancaster, **87**: 58-63, 1988.
- VON ALTEN, H. & SCHOENBECK, F. Zur Einfluss infuzierter Wirtresistenz auf Vitalitaet und Infektionstaet von *Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **101**: 271-274, 1981.
- WAGIH, E.E. & COUTTS, R.H.A. Comparison of virus-elicited and other stresses on the soluble protein fraction of cucumber cotyledons. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **104**: 364-374, 1982.

- WAGIH, E.E. Stress proteins and isozymology of acid phosphatase, esterase and peroxidase in *Phaseolus vulgaris* following peanut mottle virus infection. *Journal of Phytopathology*, Berlin, **139**: 157-164, 1993.
- WARMUTH, S. Versuche zur resistenzinduktion mit gram-negativen und gram-positiven bakterien and *Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN. Phytomedizin mitteilgarten. *Deutsche Phytomedizin Gesentält*, Berlin, **16**: 13, 1986.
- WYATT, S.E.; PAN, S.Q.; KUC, J. Beta-1,3-glucanase, chitinase and peroxidase activities in tobacco tissues resistant and susceptible to blue mould as related to flowering, age and sucker development. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **39**: 433-446, 1991.
- YAMAMOTO, H.; TANI, T.; NAITO, N. Changes in protein content of oat leaves during the resistant reaction against *Puccinia coronato avenae*. *Phytopathology Zeitschrift*, Berlin, **82**: 138-145, 1975.
- YE, X.S.; PAN, S.Q.; KUC, J. Association of pathogenesis-related proteins and activities of peroxidase, beta-1,3-glucanase and chitinase with systemic induced resistance to blue mould of tobacco but not to systemic tobacco mosaic virus. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, New York, **36**: 523-531, 1990.

Apêndice

Apêndice 1: Crescimento e esporulação de isolados de trigo *Drechslera tritici-repentis*, *Bipolaris bicolor* e, *B. sorokiniana* desenvolvidos no meio BDA.

Isolados	Número de amostras	Crescimento - Diâmetro em cm										Esporulação 10 dias
		DIAS										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
B. bicolor 1	1	0	0,6	1,5	3,6	4,5	5,3	5,8	6,3	6,4	6,4	9
	2	0	0,5	1,4	3,5	4,5	5,3	5,7	6,2	6,4	6,4	9,2
	3	0	0,6	1,3	3,6	4,4	5,2	5,8	6,1	6,3	6,4	9,3
	4	0	0,4	1,3	3,6	4,6	5,4	5,6	6,1	6,3	6,4	9
	5	0	0,7	1,6	3,5	4,5	5,4	5,4	6,2	6,3	6,4	9
	6	0	0,6	1,5	3,5	4,5	5,2	5,9	6,2	6,3	6,4	9,1
Média		0	0,57	1,43	3,55	4,5	5,3	5,7	6,18	6,33	6,4	9,1
Erro padrão		0	0,11	0,1	0,053	0,07	0,1	0,2	0,08	0,03	0	0,13
'B. bicolor 2	1	0	0,9	2	4,5	5	6	6,2	6,3	6,4	6,4	7
	2	0	0,8	2,1	4,3	4,9	5,9	6,1	6,2	6,3	6,4	7,2
	3	0	0,9	2	4,4	5,1	6	6,1	6,2	6,4	6,4	6,9
	4	0	1	2,3	4,5	5	6	6,1	6,2	6,3	6,4	6,5
	5	0	0,9	1,9	4,4	4,9	5,9	6	6,1	6,3	6,4	6,7
	6	0	0,8	2,3	4,5	5	5,8	6	6,1	6,4	6,4	6,7
Média		0	0,88	2,1	4,433	4,98	5,93	6,08	6,18	6,35	6,4	6,8
Erro padrão			0,08	0,17	0,088	0,08	0,07	0,03	0,03	0,06	0	0,19
'B. bicolor 3	1	0	0,5	1,5	3,2	4,7	5,8	6,2	6,3	6,4	6,4	19,2
	2	0	0,4	1,6	3	4,6	5,6	5,9	6,2	6,4	6,4	19,4
	3	0	0,3	1,5	3,1	4,5	5,5	6	6,1	6,3	6,4	19
	4	0	0,5	1,4	3,2	4,7	5,9	6,1	6,3	6,3	6,4	19,2
	5	0	0,5	1,5	3,3	4,7	5,9	6,2	6,3	6,4	6,4	19
	6	0	0,5	1,6	3,2	4,5	5,5	5,9	6,2	6,4	6,4	18,9
Média		0	0,45	1,52	3,167	4,62	5,7	6,05	6,23	6,37	6,4	19,1
Erro padrão			0,09	0,08	0,099	0,11	0,21	0,15	0,09	0,06	0	0,14
'B. bicolor 4	1	0	0,8	1,8	3,5	4,8	4,8	5	5,2	5,4	6	12,8
	2	0	0,7	1,7	3,3	4,8	4,9	5	5,2	5,4	6,1	13,4
	3	0	0,8	1,8	3,4	4,7	5	5,1	5,3	5,6	6	12,4
	4	0	0,9	1,8	3,5	4,8	5	5,2	5,5	5,8	6,3	12,8
	5	0	0,8	1,7	3,6	4,6	4,7	4,8	5	5,4	6,2	13
	6	0	0,8	1,6	3,5	4,7	4,9	5,2	5,4	5,8	6,4	12,9
Média		0	0,8	1,73	3,467	4,73	4,88	5,05	5,27	5,57	6,17	12,8
Erro padrão				0,07	0,07	0,099	0,07	0,17	0,17	0,19	0,18	0,1
												0,36

As médias das repetições foram significativamente iguais a nível de 5% (Teste T).

Continuação do Apêndice 1

Isolados	Número de amostras	Crescimento - Diâmetro em cm										Esporul ação 10 dias
		DIAS										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Dtr 1	1	0	1,2	2,6	2,9	4,5	5,2	5,4	5,8	6,4	6,4	9,76
	2	0	1	2,4	2,9	3,8	4,8	5,1	5,8	6,4	6,4	10,5
	3	0	1,1	2,6	3	4	5	5,3	5,5	6	6,3	9,5
	4	0	1,2	2,5	2,8	3,8	5,2	5,4	5,5	6	6,2	9,9
	5	0	1,3	2,7	3	4,5	5	5,3	5,6	6,2	6,4	10,4
	6	0	1,2	2,6	2,9	4,1	5,2	5,4	5,8	6,4	6,4	10,2
Média		0	1,17	2,57	2,917	4,1	5,07	5,32	5,67	6,23	6,35	10,04
Erro padrão			0,1	0,11	0,084	0,3	0,16	0,13	0,17	0,22	0,06	0,42
Dtr 2	1	0	1,5	2,8	3	4,6	5	5,5	5,8	6,4	6,4	12
	2	0	1	2,4	2,7	4,5	5,1	5	5,6	5,8	6,4	12
	3	0	1,5	2,5	2,8	4,2	5	5,4	5,8	6	6,4	11,5
	4	0	1,4	2,5	2,6	4	5,3	5,5	5,4	6	6,3	11
	5	0	1,6	2,9	3	3,8	5	5,2	5,6	5,6	6,4	12,2
	6	0	1,3	2,8	3	4,6	5	5,4	5,4	5,8	6,4	12,2
Média		0	1,38	2,62	2,85	4,2	5,07	5,32	5,6	5,96	6,38	11,8
Erro padrão			0,24	0,21	0,176	0,3	0,07	0,22	0,17	0,31	0,04	0,52
Dtr 3	1	0	1	2,4	2,6	3,8	4,5	5	5,3	5,6	5,9	6,4
	2	0	1	2,5	2,7	3,8	4,6	5	5,2	5,4	6	6,8
	3	0	1,2	2,6	2,7	4	5	5,2	5,5	5,8	5,8	6,4
	4	0	1,3	2,6	2,6	4,2	4,8	5	5,3	5,5	6	6,2
	5	0	1,4	2,5	2,6	4	5	5,3	5,5	5,8	5,8	7
	6	0	1	2,4	2,5	4,2	4,4	4,8	5,2	5,6	6	6,5
Média		0	1,15	2,5	2,617	4	4,72	5,05	5,33	5,62	5,92	6,55
Erro padrão			0,18	0,1	0,084	0,2	0,25	0,17	0,07	0,14	0,04	0,32
Dtr 4	1	0	1	2,1	2,4	3,5	4,3	4,8	5,2	5,5	5,9	6,32
	2	0	1,2	2,4	2,8	3,2	4,1	5	5,4	5,8	6,2	6,4
	3	0	1,2	2,2	2,6	3,6	4	4,6	5,1	6	6,2	6,5
	4	0	1,2	2,1	2,4	3,8	4,5	5	5,2	5,8	6	6,8
	5	0	1	2,1	2,5	3,4	4,2	4,6	5	5,5	5,8	7
	6	0	1	2,3	2,6	3,4	4,2	4,8	5	5,5	6	6,8
Média		0	1,1	2,2	2,55	3,5	4,22	4,8	5,15	5,68	6,02	6,64
Erro padrão				0,12	0,14	0,158	0,2	0,13	0,2	0,17	0,23	0,15
												0,14

As médias das repetições foram significativamente iguais a nível de 5% (Teste T).

Continuação do Apêndice 1

Isolados	Número de amostras	Crescimento - Diâmetro em cm										Esporulação 10 dias
		DIAS										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
B.sorokiniana	1	0	0,5	1,5	2,8	4,2	5	5,4	5,8	6,2	6,4	12,5
	2	0	0,6	1,7	2,8	4	5	5,4	5,8	6,2	6,4	10,5
	3	0	0,8	1,6	3	4,2	5,2	5,3	5,6	6	6,4	12,5
	4	0	0,8	1,5	3	3,9	5	5,4	5,6	6	6,4	12,5
	5	0	0,5	1,5	2,9	4	4,9	5,3	5,8	6,2	6,4	12,6
	6	0	0,5	1,4	3	4	5	5,5	5,9	6,2	6,4	11,2
Média		0	0,62	1,53	2,92	4,05	5,02	5,38	5,75	6,13	6,4	11,9
Erro padrão			0,16	0,09	0,08	0,11	0,08	0,08	0,12	0,12	0	0,99
B.sorokiniana	1	0	0,6	1,7	3,2	4,5	5,1	5,6	5,9	6,2	6,4	9,8
	2	0	0,8	1,6	3,2	4,5	5,1	5,5	5,9	6	6,4	10
	3	0	0,5	1,7	3,3	4,4	5	5,5	5,8	6,1	6,4	9,9
	4	0	0,8	1,8	3	4,3	5	5,6	5,8	6	6,4	10
	5	0	0,5	1,7	3	4,5	5,2	5,5	5,9	6,2	6,4	10,5
	6	0	0,6	1,8	3,2	4,5	5	5,4	5,9	6,2	6,4	10
Média		0	0,64	1,72	3,14	4,45	5,08	5,52	5,86	6,12	6,4	10,03
Erro padrão			0,15	0,06	0,13	0,09	0,08	0,08	0,06	0,11	0	0,22
B.sorokiniana	1	0	1,2	2,7	3,6	4,6	5,2	5,8	6	6,2	6,4	10,8
	2	0	1	1,9	3,2	4,2	5	5,6	5,9	6,2	6,4	10,5
	3	0	0,8	2,5	3,5	4,3	5	5,8	6	6,3	6,4	10,8
	4	0	0,9	2,4	3,2	4,6	5,2	5,8	6	6,3	6,4	10,8
	5	0	1	2,7	3,6	4,5	5,2	5,6	5,9	6,3	6,4	10,5
	6	0	1,2	2,5	3,5	4,5	5,2	5,9	6	6,2	6,4	10,5
Média		0	1,02	2,45	3,43	4,45	5,13	5,75	5,97	6,25	6,4	10,65
Erro padrão			0,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,16
B.sorokiniana	1	0	0,9	1,8	3,5	4,5	5,3	5,6	6	6,3	6,4	12,9
	2	0	1	2	3,6	4,2	5,4	5,8	6	6,2	6,4	13
	3	0	1,1	1,9	3,5	4,2	5,2	5,7	5,9	6,3	6,4	13
	4	0	0,8	2	3,6	4,3	5,2	5,6	5,9	6,1	6,4	12,8
	5	0	0,8	2	3,2	4,5	5,3	5,6	6	6,2	6,4	13
	6	0	0,9	1,5	3,4	4,5	5,3	5,6	6	6,2	6,4	12,8
Média		0	0,9	1,9	3,5	4,4	5,3	5,7	6	6,2	6,4	12,9
Erro padrão			0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0	0,1
B.sorokiniana	1	0	0,7	1,5	3,2	3,8	4,1	4,6	4,8	5,9	6,4	11,3
	2	0	0,7	1,8	3,5	3,8	4,2	4,5	4,8	5,8	6,1	11
	3	0	0,8	1,5	3,2	3,6	4,3	4,5	5	5,9	6,3	11,5
	4	0	0,5	1,5	3	3,4	4,1	4,6	5,1	5,9	6,4	11
	5	0	0,5	1,8	3,2	3,5	4,1	4,3	4,9	5,7	6,2	11
	6	0	0,7	1,5	3,2	3,6	4,2	4,4	5,2	5,8	6,2	11,5
Média		0	0,65	1,6	3,22	3,62	4,17	4,48	4,97	5,83	6,27	11,2
Erro padrão			0,13	0,17	0,16	0,18	0,09	0,13	0,14	0,1	0,1	0,27

Continuação do Apêndice 1

136

Isolados	Número de amostras	Crescimento - Diâmetro em cm										Esporulação 10 dias
		DIAS										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
B.sorokiniana	1	0	0,8	1,7	3,5	4,5	5	5,7	6	6,2	6,4	19,8
6	2	0	0,9	1,5	3,5	4,3	5	5,6	5,9	6	6,4	20
	3	0	1	1,5	3,4	4,2	5,1	5,6	6	6	6,4	20
	4	0	0,8	1,7	3,2	4,5	5	5,5	5,9	6	6,4	19
	5	0	0,8	1,5	3,5	4,6	5	5,5	5,9	6	6,4	19
	6	0	0,9	1,7	3,5	4,5	5,2	5,8	6	6,2	6,4	19,5
Média		0	0,87	1,6	3,43	4,43	5,05	5,62	5,95	6,07	6,4	19,55
Erro padrão			0,09	0,12	0,13	0,08	0,09	0,11	0,05	0,1	0	0,4
B.sorokiniana	1	0	0,5	1,5	2,7	4,3	5	5,2	5,8	6,2	6,3	9,6
7	2	0	0,6	1,8	3	4,5	5	5,2	5,8	6	6,4	10
	3	0	0,7	1,8	3	4,5	5,1	5,2	5,8	6,2	6,4	10
	4	0	0,7	1,5	2,8	4,2	4,8	5	5,6	6	6,3	9,9
	5	0	0,8	1,5	2,7	4,2	4,8	5	5,6	6	6,4	10,2
	6	0	0,5	1,6	2,8	4,3	4,9	5	5,6	6,2	6,4	9,5
Média		0	0,63	1,62	2,83	4,33	4,93	5,1	5,7	6,1	6,37	9,8
Erro padrão			0,13	0,16	0,15	0,04	0,09	0,07	0,05	0,1	0,06	0,29
B.sorokiniana	1	0	1	2,1	3,6	4,6	5,3	5,6	6	6,1	6,4	15,8
8	2	0	0,9	1,9	3,8	4,4	5	5,4	5,9	6	6,4	15,5
	3	0	0,8	2	3,6	4,6	5	5,4	5,9	6	6,4	15
	4	0	1	2	3,8	4,2	5,3	5,6	6	6,1	6,4	15
	5	0	1,2	2,2	3,5	4,2	5,2	5,6	6	6,2	6,4	15,8
	6	0	1	2	3,5	4,4	5,2	5,8	6	6,2	6,4	15,9
Média		0	0,98	2,03	3,63	4,4	5,17	5,57	5,97	6,1	6,4	15,5
Erro padrão			0,13	0,11	0,14	0,15	0,15	0,14	0,02	0,08	0	0,45
B.sorokiniana	1	0	0,3	1,9	3,8	4,6	5,2	5,5	6,1	6,2	6,4	17,7
9	2	0	0,5	2	3,5	4,6	5	5,5	5,9	6	6,4	17
	3	0	0,3	1,9	3,8	4,5	5	5,4	5,9	6	6,4	16,8
	4	0	0,5	2	3,8	4,5	5,2	5,6	6	6,2	6,4	15
	5	0	0,3	2,1	3,5	4,5	5,2	5,6	6,1	6,2	6,4	17
	6	0	0,4	2	3,5	4,4	5,2	5,4	6	6,2	6,4	17
Média		0	0,38	1,98	3,65	4,52	5,13	5,5	6	6,13	6,4	16,75
Erro padrão			0,11	0,06	0,18	0,08	0,12	0,1	0,1	0,11	0	0,96
B.sorokiniana	1	0	1,2	2,4	3,8	4,4	5,4	5,6	6	6,2	6,4	21,7
10	2	0	1	2,3	3,6	4,6	5,4	5,5	6,1	6,2	6,4	21
	3	0	1,2	2,2	3,8	4,4	5,2	5,6	5,9	6	6,4	21,5
	4	0	1	2,4	3,8	4,5	5,2	5,5	6	6,2	6,4	20
	5	0	1	2,3	3,6	4,6	5,4	5,5	6,1	6,2	6,4	20
	6	0	1,2	2,4	3,6	4,5	5,2	5,4	5,9	6	6,4	21
Média		0	1,1	2,33	3,7	4,5	5,3	5,52	6	6,13	6,4	20,8
Erro padrão				0,12	0,09	0,12	0,06	0,12	0,06	0,06	0,08	0,65

Continuação do Apêndice 1

Isolados	Número de amostras	Crescimento - Diâmetro em cm										Esporulação 10 dias	
		DIAS											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
B.sorokiniana	1	0	1,1	2,5	3,9	4,8	5,8	5,9	6	6,1	6,4	25,1	
11	2	0	0,9	2,3	4	4,5	5,5	5,8	6	6,1	6,4	25,2	
	3	0	1	2,3	3,8	4,8	5,3	5,6	5,9	6,2	6,4	25,5	
	4	0	1	2,5	4	4,8	5,3	5,8	6	6,1	6,4	25	
	5	0	1,2	2,5	3,9	4,8	5,4	5,6	6	6,1	6,4	25	
	6	0	1,2	2,5	4	4,5	5,8	5,9	6	6,2	6,4	25	
Média		0	1,07	2,43	3,93	4,7	5,52	5,77	5,98	6,13	6,4	25,2	
Erro padrão			0,11	0,11	0,09	0,17	0,25	0,12	0,04	0,06	0	0,19	
B.sorokiniana	1	0	1	2	3	4,1	5,4	5,6	6	6,2	6,4	19	
12	2	0	1	2,2	3,2	4,5	5,3	5,5	5,8	6	6,4	19,1	
	3	0	0,9	2,2	3,2	4,5	5,2	5,4	5,8	6	6,4	19	
	4	0	0,8	2	3	4,3	5,2	5,5	5,9	6	6,4	19	
	5	0	0,8	2,3	3	4,5	5,3	5,5	5,9	6,1	6,4	18,9	
	6	0	0,9	2,3	3,2	4,1	5,4	5,8	5,9	6,1	6,4	19	
Média		0	0,9	2,17	3,1	4,33	5,3	5,55	5,88	6,07	6,4	19	
Erro padrão			0,07	0,12	0,11	0,21	0,1	0,15	0,07	0,05	0	0,06	
B.sorokiniana	1	0	0,5	1,1	2,8	4,3	5,3	5,8	6,1	6,3	6,4	6,8	
13	2	0	0,8	1,5	3	4,5	5	5,5	6	6,1	6,4	7	
	3	0	0,6	1,4	3,1	4,2	5	5,5	5,9	6,2	6,4	7	
	4	0	0,5	1,5	2,9	4,2	5,2	5,6	5,9	6,2	6,4	7,2	
	5	0	0,6	1,4	2,9	4,3	5,2	5,6	6	6,2	6,4	6,8	
	6	0	0,5	1,3	3	4,2	5	5,5	6	6,2	6,4	6,8	
Média		0	0,6	1,37	2,94	4,28	5,14	5,58	5,98	6,2	6,4	6,9	
Erro padrão				0,12	0,16	0,11	0,07	0,05	0,06	0,08	0,05	0	0,18

As médias das repetições foram significativamente iguais a nível de 5% (Teste T).

Apêndice2: Dimensões dos conídios de isolados de trigo *Drechslera tritici-repentis*, *B. bicolor* e *B. sorokiniana* desenvolvidos no meio BDA, após 10 dias

Isolados	Comprimento		Erro padrão das repetições*	Largura		Erro padrão das repetições*
	um	valor maior/ menor		um	valor maior/ menor	
<i>B.bicolor</i> 1	61,1	42,6 / 85,2	1,93	19,9	14,7 / 22,0	0,47
<i>B.bicolor</i> 2	51,6	38,7 / 69,0	1,46	20,3	14,7 / 26,4	0,46
<i>B.bicolor</i> 3	63,4	48,5 / 76,4	1,26	20,6	10,4 / 23,4	0,37
<i>B.bicolor</i> 4	58,9	41,1 / 74,9	1,48	19,2	19,18 / 22,0	0,38
Média <i>B. bicolor</i>	58,7			20		
Erro padrão**			1,53			0,42
<i>B.sorokiniana</i> 5	95,8	46,2 / 120,5	2,79	13,1	11,4 / 14,7	0,18
<i>B.sorokiniana</i> 6	95,3	73,5 / 114,6	1,94	12,7	10,2 / 14,7	0,22
<i>B.sorokiniana</i> 7	92,1	73,5 / 119	2,34	12,9	11,5 / 14,7	0,21
<i>B.sorokiniana</i> 8	95,1	66,1 / 117,6	2,1	13,1	11,5 / 14,7	0,2
<i>B.sorokiniana</i> 9	92,5	73,8 / 120	2,38	12,6	10,2 / 14,7	0,24
<i>B.sorokiniana</i> 10	100,5	80,8 / 117,6	1,62	12,7	11,4 / 14,7	0,23
<i>B.sorokiniana</i> 11	112,2	82,4 / 116,2	2,1	13,2	11,4 / 14,7	0,2
<i>B.sorokiniana</i> 12	95,6	44,1 / 127,8	2,89	13,2	11,4 / 14,7	0,19
<i>B.sorokiniana</i> 13	117,7	91,4 / 142,5	2,8	13,4	11,4 / 14,7	0,19
<i>B.sorokiniana</i> 14	97,3	66,1 / 120,4	2,41	12,4	10,2 / 14,7	0,26
<i>B.sorokiniana</i> 15	97,5	73,5 / 2,15	2,15	12,1	10,2 / 14,7	0,16
<i>B.sorokiniana</i> 16	102,4	67,6 / 122	2,42	12,6	11,7 / 14,7	0,28
<i>B.sorokiniana</i> 17	100,1	79,5 / 115	1,8	12,7	11,2 / 14,7	0,22
Média <i>B. sorok.</i>	99,5			12,8		
Erro padrão			2,28			0,21
<i>Drechslera tr</i> 18	127,1	108,7 / 147	1,65	13,9	13,2 / 14,7	0,15
<i>Drechslera tr</i> 19	127	108,8 / 146	1,53	13,8	13,2 / 13,9	0,14
<i>Drechslera tr</i> 20	127,1	109 / 145	1,6	13,8	13,2 / 0,12	0,12
<i>Drechslera tr</i> 21	127,1	108,2 / 142	1,58	13,8	13,8 / 14,2	0,14
Média <i>Dtr.</i>	127,1			13,8		
Erro padrão			1,59			0,13

* Média de 50 leituras

** Resultados seguidos de letras diferentes, em fileiras verticais, foram significativamente diferentes a nível de 5% ($P \geq 0,05$) (Teste T).

Apêndice3: Quantidade de proteína (mg SAB), de fenóis (mg ácido clorogênico) e, atividade da enzima beta-1,3-glucanase (umol glicose/min/ug SAB) presentes nos extratos foliares de plantas de trigo das variedades IAC-24 e BH-1146, sadias e inoculadas com *B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis*.

139

Variedades/ Isolados	Proteínas (mg SAB)	Erro padrão (3 repet.)	Fenóis (mg ác. clorog.)	Erro padrão (3 repet.)	Atividade glucanase (mmol glicose/seg/mg SAB)	Erro padrão (3 repet.)
IAC						
sadia	2,94* a **	0,03	296,8 a	2,4	1,17 a	0,02
	2,94		296,8		1,17	
Isol. Bb 1	2,68	0,2	280,4	3,1	1,02	0,01
Isol. Bb 2	2,5	0,1	278,9	3,5	1,04	0,02
Isol. Bb 3	2,39	0,2	290,3	3,2	1,05	0,02
Isol. Bb 4	2,11	0,1	290,8	2,8	1,04	0,01
Média Bb	2,42 b		285,1 a		1,03 b	
Erro pad. méd.		0,15		3,15		0,02
	2,42		285,1		1,03	
Isol Bs 1	2,1	0,04	320,4	0,09	0,98	0,05
Isol Bs 2	2,3	0,05	330,5	0,1	0,93	0,04
Isol Bs 3	2,48	0,02	328,3	0,15	1,03	0,06
Isol Bs 4	2,2	0,03	335,4	0,08	0,95	0,06
Isol Bs 5	2,35	0,05	315,3	0,05	0,9	0,1
Isol Bs 6	2,05	0,04	318,2	0,06	0,92	0,08
Isol Bs 7	2,2	0,02	315,4	0,04	1,04	0,09
Isol Bs 8	2,24	0,02	338,1	0,1	0,98	0,1
Isol Bs 9	2,45	0,03	330	0,1	0,9	0,12
Isol Bs 10	2,28	0,03	325,4	0,05	1,02	0,15
Isol Bs 11	2,32	0,02	323,2	0,08	1,04	0,08
Isol Bs 12	2,3	0,03	310,3	0,05	0,95	0,05
Isol Bs 13	2,25	0,04	329,15	0,04	0,95	0,04
Média Bs	2,27 b		324,5 b		0,96 b	
Erro pad.méd.		0,03		0,08		0,08
	2,27		324,5		0,96	
Isol Dtr 1	1,95	0,02	287,4	8,2	0,82	0,01
Isol Dtr 2	2,08	0,03	315,3	8,5	0,78	0,02
Isol Dtr 3	2,03	0,01	309,5	6,8	0,8	0,01
Isol Dtr 4	1,98	0,03	321,4	7,1	0,8	0,01
Média	2,01 b		308,4 a		0,8 b	
Erro pad.méd.		0,02		7,6		0,01
	2,01		308,4		0,8	

* Média de três repetições significativamente iguais a nível de 5% (Teste T)

** Médias seguidas por letras distintas, em fileiras verticais, para cada variedade, diferem entre si ao nível de 5% (Teste T)

Continuação do Apêndice 3

Variedades/ Isolados	Proteínas (mg SAB)	Erro padrão (3 repet.)	Fenóis (mg ác. clorog.)	Erro padrão (3 repet.)	Atividade glucanase (mmol glicose/seg/mg SAB)	Erro padrão (3 repet.)
BH						
'sadia	2,74 c	0,01	238,4 c	0,1	1,25 c	0,02
	2,74		238,4		1,25	
Isol Bb1	3,4	0,05	289	0,3	1,58	0,04
Isol Bb2	3,38	0,04	280	0,3	1,62	0,05
Isol Bb3	3,44	0,05	285,5	0,3	1,7	0,08
Isol Bb4	3,28	0,03	289,95	0,4	1,7	0,05
Média Bb	3,3 d		286,1 d		1,65 d	
Erro pad.méd.		0,04		0,3		0,05
	3,3		286,1		1,65	
Isol Bs 1	2,76	0,05	273	10,2	1,68	0,02
Isol Bs 2	2,9	0,03	268,3	10,5	1,63	0,02
Isol Bs 3	2,64	0,08	266	9,5	1,7	0,04
Isol Bs 4	2,6	0,05	170	9,2	1,6	0,05
Isol Bs 5	2,96	0,04	292,1	5,2	1,65	0,08
Isol Bs 6	2,8	0,06	285,4	4,6	1,72	0,08
Isol Bs 7	2,88	0,05	268,3	10,8	1,65	0,05
Isol Bs 8	2,84	0,04	280	10	1,6	0,06
Isol Bs 9	2,98	0,01	273,4	11,8	1,68	0,03
Isol Bs 10	2,78	0,02	266	11,2	1,75	0,02
Isol Bs 11	2,8	0,05	290,4	9,8	1,65	0,08
Isol Bs 12	2,7	0,08	260,3	9,6	1,53	0,1
Isol Bs 13	2,76	0,06	266,9	11	1,7	0,08
Média Bs	2,8 c		273,8 d		1,65 d	
Erro pad.méd.		0,04		9,5		0,05
	2,8		273,8		1,65	
Isol Dtr 1	2,88	0,05	302,7	0,3	2,25	0,09
Isol Dtr 2	2,6	0,06	300	0,35	2,05	0,1
Isol Dtr 3	2,76	0,05	301,5	0,28	1,8	0,05
Isol Dtr 4	2,8	0,08	298,5	0,18	1,95	0,06
Média Dtr	2,76 d		300,6 d		2,01 d	
Erro pad.méd.		0,06		0,27		0,08
	2,76		300,6		2,01	

* Média de três repetições significativamente iguais a nível de 5% (Teste T)

** Médias seguidas por letras distintas, em fileiras verticais, para cada variedade, diferem entre si ao nível de 5% (Teste T)

Apêndice 4 : Atividade da peroxidase (A470/min/mg proteína) e atividade da polifenoloxidase (A495/min/gPF) em extratos de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146, sadias e inoculadas com *B. bicolor*, *B. sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* após dois dias da infecção.

Variedades/ Isolados	Peroxidase A470/min/mg prot.	Erro padrão (3 repetições)	Polifenoloxidase A495/min/gPF	Erro padrão (3 repetições)
IAC				
sadia	10,57 a *	0,04	0,0170 a	0,002
	10,6		0,02	
Isol. <i>Bb</i> 1	23	0,04	0,011	0,004
Isol. <i>Bb</i> 2	23,6	0,02	0,011	0,02
Isol. <i>Bb</i> 3	21,8	0,03	0,015	0,01
Isol. <i>Bb</i> 4	22,5	0,03	0,012	0,02
Média <i>Bb</i>	22,72 b	0,03	0,012 b	0,002
	22,7		0,012	
Isol. <i>Bs</i> 1	21,5	2,8	0,008	0,002
Isol. <i>Bs</i> 2	24	3,5	0,012	0,001
Isol. <i>Bs</i> 3	22,8	3,2	0,01	0,005
Isol. <i>Bs</i> 4	21,8	2,4	0,008	0,003
Isol. <i>Bs</i> 5	22,1	2,8	0,01	0,004
Isol. <i>Bs</i> 6	21,8	2,9	0,009	0,001
Isol. <i>Bs</i> 7	22	3,5	0,012	0,001
Isol. <i>Bs</i> 8	22,4	3,4	0,008	0,002
Isol. <i>Bs</i> 9	22,3	1,9	0,009	0,003
Isol. <i>Bs</i> 10	24,2	5,4	0,008	0,001
Isol. <i>Bs</i> 11	22	3,2	0,008	0,001
Isol. <i>Bs</i> 12	22,4	2,5	0,013	0,002
Isol. <i>Bs</i> 13	21,5	3,1	0,01	0,001
Média <i>Bs</i>	22,36 b	3,1	0,009 b	0,002
	22,3		0,009	
Isol. <i>Dtr</i> 1	24,9	0,05	0,006	0,01
Isol. <i>Dtr</i> 2	25,3	0,03	0,005	0,01
Isol. <i>Dtr</i> 3	24	0,02	0,008	0,02
Isol. <i>Dtr</i> 4	24,2	0,04	0,006	0,01
Média <i>Dtr</i>	24,6 b	0,04	0,006 b	
	24,6		0,006	0,001

* Média de três repetições significativamente iguais a nível de 5% (Teste T)

** Média +/- erro padrão dos isolados.

Médias seguidas por letras distintas, em fileiras verticais, para cada variedade, diferem entre si ao nível de 5% (Teste T).

Continuação do Apêndice 4

Variedades/ Isolados	Peroxidase A470/min/mg prot. (3 repetições)	Erro padrão (3 repetições)	Polifenoloxidase A495/min/gPF (3 repetições)	Erro padrão (3 repetições)
BH				
sadia	9,8 c	0,9	0,034 c	0,001
	9,8		0,03	
Isol. <i>Bb 1</i>	11	1,1	0,039	0,001
Isol. <i>Bb 2</i>	12,3	1,2	0,042	0,002
Isol. <i>Bb 3</i>	16,2	0,9	0,04	0,001
Isol. <i>Bb 4</i>	14,2	0,9	0,037	0,001
Média <i>Bb</i>	13,42 d	1,02	0,039 d	0,001
	13,4		0,04	
Isol. <i>Bs 1</i>	15	3,2	0,04	0,01
Isol. <i>Bs 2</i>	17	3,5	0,038	0,009
Isol. <i>Bs 3</i>	16,8	2,8	0,046	0,008
Isol. <i>Bs 4</i>	15,4	2,5	0,038	0,01
Isol. <i>Bs 5</i>	15	4,5	0,04	0,012
Isol. <i>Bs 6</i>	16,2	2,6	0,044	0,008
Isol. <i>Bs 7</i>	15,5	2,8	0,039	0,009
Isol. <i>Bs 8</i>	14,2	3,2	0,035	0,012
Isol. <i>Bs 9</i>	15,8	3	0,035	0,012
Isol. <i>Bs 10</i>	16,5	2,4	0,038	0,008
Isol. <i>Bs 11</i>	15,8	2,8	0,036	0,009
Isol. <i>Bs 12</i>	16	3,5	0,038	0,005
Isol. <i>Bs 13</i>	16,2	3,4	0,04	0,004
Média <i>Bs</i>	15,8 d	3,01	0,039 d	0,008
	15,8		0,04	
Isol. <i>Dtr 1</i>	13,6	0,32	0,04	0,003
Isol. <i>Dtr 2</i>	12,8	0,38	0,036	0,005
Isol. <i>Dtr 3</i>	15	0,25	0,048	0,004
Isol. <i>Dtr 4</i>	13,8	0,21	0,038	0,002
Média <i>Dtr</i>	13,8 d	0,29	0,040 d	0,003
	13,8		0,04	

* Média de três repetições significativamente iguais a nível de 5% (Teste T)

** Média +/- erro padrão dos isolados.

Médias seguidas por letras distintas, em fileiras verticais, para cada variedade, diferem entre si ao nível de 5% (Teste T).

Apêndice 5:Quantificação de glicose presente nos extratos de plantas de trigo das variedades IAC-24 e BH-1146.

Variedades	ug glicose	Erro padrão	Variedades	ug glicose	Erro padrão
/Isolados		(3 repetições)	/Isolados		(3 repetições)
IAC			BH 1146		
Sadia	355,5 a *	2,5	Sadia	327,7 c	3,2
	355,5			327,7	
Isol Bb 1	428	8,2	Isol Bb 1	385,3	4,5
Isol Bb 2	440,8	5,6	Isol Bb 2	380	4,2
Isol Bb 3	430,5	6,5	Isol Bb 3	378,5	5,8
Isol Bb 4	441,5	7,2	Isol Bb 4	373,1	6,2
Média	435,2 b	6,9	Média	379,2 d	
	435,2			379,2	
Isol Bs 1	438	12,5	Isol Bs 1	400	9,6
Isol Bs 2	425,8	13,8	Isol Bs 2	390,5	9,8
Isol Bs 3	440	12,5	Isol Bs 3	405,2	10,5
Isol Bs 4	432,4	11,6	Isol Bs 4	398,4	10,8
Isol Bs 5	415,3	10,8	Isol Bs 5	395,2	11,5
Isol Bs 6	438,5	9,5	Isol Bs 6	425,9	11,8
Isol Bs 7	420,8	10,8	Isol Bs 7	405,8	12,2
Isol Bs 8	435,4	12,3	Isol Bs 8	408,4	9,4
Isol Bs 9	410	12,1	Isol Bs 9	410,5	12,5
Isol Bs 10	430	12	Isol Bs 10	420,4	8,6
Isol Bs 11	420,5	10,8	Isol Bs 11	408,3	9,1
Isol Bs 12	410,5	10,4	Isol Bs 12	390,5	9,5
Isol Bs 13	442,1	13,4	Isol Bs 13	401	10,5
Média	427,6 b	12	Média	404,6 d	
				404,6	
Isol Dtr 1	425,1	9,8	Isol Dtr 1	401,6	7,2
Isol Dtr 2	418,4	9,5	Isol Dtr 2	390,4	6,8
Isol Dtr 3	405,8	8,2	Isol Dtr 3	385,3	8,2
Isol Dtr 4	410,4	7,8	Isol Dtr 4	398,4	7,8
Média	414,9 b	8,8	Média	393,9 d	7,5
	414,9			393,9	

* Média de três repetições significativamente iguais a nível de 5% (Teste T)

** Média +/- erro padrão dos isolados.

Médias seguidas por letras distintas, em fileiras verticais, para cada variedade, diferem entre si ao nível de 5% (Teste T).

Apêndice 6: Quantidade de proteína, fenóis e, glicose, presentes nos extratos foliares de plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e induzidas a resistência com goma xantana (X) com o intervalo de tempo e, suspensão de conídio inativado (CI).

Tratamentos	Proteínas (mg SAB)	Erro padrão (3 repet.)	Fenóis (ug ác. clorogênico)	Erro padrão (3 repet.)	Açúcares (ug. glicose)	Erro padrão (3 repet.)
IAC sadia	2,94*a	0,03	296,8a	2,4	355,5a	2,5
X-24	2,82a	0,1	281,6a	3,1	492,4b	1,2
X-48	3,03a	0,2	293,0a	3,2	507,4b	1,5
X-72	3,05a	0,1	290,8a	3,5	510,8b	1,2
X-96	3,08a	0,1	290,0a	3,2	512,0b	1,8
Isol Bb	2,11b	0,1	290,8a	2,8	441,5b	7,2
X-24	2,89a	0,2	175,2b	4,1	571,7b	10,2
X-48	3,28b	0,2	215,6b	3,2	584,4b	12,5
X-72	4,18b	0,2	210,0b	2,8	595,6b	12
X-96	4,23b	0,3	208,0b	3,4	582,0b	12,4
CI-48	3,04a	0,2	236,9b	2,5	445,0b	8,1
Isol Bs	2,25b	0,04	329,1b	0,04	442,1b	13,4
X-24	2,92a	0,2	210,6b	0,5	597,2b	15,6
X-48	3,20b	0,3	263,5b	0,8	620,8b	18,5
X-72	3,59b	0,3	260,5b	0,3	636,0b	12,6
X-96	3,62b	0,2	230,0b	0,8	628,0b	17,2
CI-48	3,03a	0,2	321,4b	0,6	450,0b	14,9
Isol Dtr	1,95b	0,02	287,4b	8,2	425,1b	9,8
X-24	2,88a	0,1	186,7b	6,5	525,1b	10,2
X-48	3,78b	0,3	206,3b	5	599,8b	12,5
X-72	3,92b	0,2	200,8b	4,3	610,8b	10,4
X-96	4,10b	0,3	190,6b	5,1	603,0b	10,6
CI-48	2,93b	0,2	268,3b	3,2	440,0b	8,6

*Média de três repetições significativamente iguais ao nível de 5% (Teste T)

* Médias seguidas por letras distintas, em blocos verticais, para cada variedade, diferem em relação as sadias ao nível de 5% (Teste T).

Continuação do Apêndice 6

Tratamentos		Proteínas	Erro padrão	Fenóis	Erro padrão	Açúcares	Erro padrão
		(mg SAB)	(3 repet.)	(ug ác. clorogênico)	(3 repet.)	(ug. glicose)	(3 repet.)
BH	sadia	2,74 *a	0,01	238,4a	0,1	327,7a	3,2
	X-24	3,12b	0,02	171,7b	0,2	408,8b	5,4
	X-48	3,90b	0,01	167,4b	0,1	431,8b	5,6
	X-72	3,96b	0,01	170,0b	0,2	440,1b	5,2
	X-96	4,20b	0,01	170,8b	0,1	440,5b	6,1
	Isol Bb	3,28b	0,03	289,9b	0,4	373,1b	6,2
	X-24	4,80b	0,04	177,2b	0,1	573,1b	8,5
	X-48	4,76b	0,08	224,2b	0,2	607,0b	9,5
	X-72	4,76b	0,06	220,0b	0,1	612,0b	8,2
	X-96	4,76b	0,04	218,0b	0,1	605,2b	8,2
	CI	3,90b	0,04	185,3b	0,1	395,0b	6,2
	Isol Bs	2,76a	0,05	266,9b	10,2	401,0b	9,5
	X-24	3,94b	0,08	189,3b	5,1	491,2b	10,2
	X-48	4,92b	0,09	217,7b	4,2	522,1b	10,6
	X-72	5,72b	0,05	185,0b	3,5	538,4b	12,5
	X-96	5,70b	0,08	180,2b	4,2	540,8b	12,3
	CI	3,54b	0,08	185,0b	4,5	457,6b	12,4
	Isol Dtr	2,78a	0,05	302,7b	0,3	401,6b	7,2
	X-24	3,60b	0,05	214,0b	0,2	428,9b	9,8
	X-48	4,22b	0,08	226,3b	0,1	519,0b	10,5
	X-72	5,48b	0,07	226,0b	0,2	538,5b	10,6
	X-96	5,50b	0,08	225,4b	0,2	540,0b	10,8
	CI	3,90b	0,05	203,5b	0,1	428,3b	8,3

*Média de três repetições significativamente iguais ao nível de 5% (Teste T)

* Médias seguidas por letras distintas, em blocos verticais, para cada variedade, diferem em relação as sadias ao nível de 5% (Teste T).

Apêndice 7: Atividade da polifenoloxidase (A495/min/mg proteína) medida 48 horas após a inoculação, em plantas de trigo IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e, trata com goma xantana no intervalo de tempo (0h até 96horas) sendo as amostras colhidas 72 horas após a inoculação.

Variedades/tratamentos	Intervalo de horas				
	0 h.	24 h.	48 h.	72 h.	96 h.
IAC sadia	0,016	0,017	0,017	0,017	0,017
<i>B. bicolor</i>	0,017	0,015	0,011	0,007	0,005
<i>B. sorokiniana</i>	0,016	0,01	0,009	0,002	0
<i>D.tritici-repentis</i>	0,016	0,011	0,006	0,001	0
xantana	0,018	0,019	0,019	0,019	0,019
xantana- <i>B. bicolor</i>	0,019	0,02	0,025	0,025	0,028
xantana- <i>B. sorokiniana</i>	0,019	0,022	0,028	0,028	0,028
xantana- <i>D.tritici-repentis</i>	0,019	0,024	0,032	0,032	0,032
BH sadia	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034
<i>B. bicolor</i>	0,035	0,04	0,042	0,042	0,045
<i>B. sorokiniana</i>	0,034	0,034	0,035	0,036	0,038
<i>D.tritici-repentis</i>	0,034	0,036	0,04	0,041	0,042
xantana	0,038	0,04	0,04	0,04	0,04
xantana- <i>B. bicolor</i>	0,039	0,039	0,039	0,039	0,04
xantana- <i>B. sorokiniana</i>	0,039	0,041	0,047	0,048	0,048
xantana- <i>D.tritici-repentis</i>	0,038	0,046	0,051	0,051	0,051

As leituras representam médias de três repetições significativamente iguais ao nível de 5% (Teste T).

Apêndice 8: Atividade da peroxidase (A470/min/mg proteína) em plantas de trigo variedades IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e tratadas com goma xantana no intervalo de tempo (0h até 96horas) sendo as amostras coletadas após 72 horas da inoculação do patógeno.

Variedades/tratamentos	Intervalo de horas				
	0 h.	24 h.	48 h.	72 h.	96 h.
IAC sadia	10,2*	10,5	10,57	10,6	10,6
Isol <i>B. bicolor</i>	12	19,5	23,6	32	30
Isol <i>B. sorokiniana</i>	13,5	18	22,3	38	35
Isol <i>D.tritici-repentis</i> .	12	18,3	24,9	45,2	44,8
xantana	12	12,8	13,1	13	13
xantana/ <i>B. bicolor</i>	11,8	11	10,47	10,4	10,4
xantana/ <i>B. sorokiniana</i>	12	12	11,1	11	11
xantana/ <i>D.tritici-repentis</i>	11,9	12	12	12	12
BH sadia	9,5	9,8	9,8	9,9	9,9
Isol <i>B. bicolor</i>	9,8	11,4	12,3	12,5	12,5
Isol <i>B. sorokiniana</i>	9,9	12,8	15,8	16	16
Isol <i>D.tritici-repentis</i> .	10,1	11,2	13,6	13,8	13,8
xantana	11,3	11,5	11,5	11,5	11,5
xantana/ <i>B. bicolor</i>	11	9,8	9,67	9,6	9,6
xantana/ <i>B. sorokiniana</i>	11,2	10,8	10,6	9,8	9,8
xantana/ <i>D.tritici-repentis</i>	11	10,9	10,7	10	10

* As leituras representam médias de três repetições significativamente iguais ao nível de 5% (Teste T).

Apêndice 9: Atividade da enzima b-1,3-glucanase (mmol de glicose/min/ug SAB) medida 48 horas após a inoculação, em plantas de trigo IAC-24 e BH-1146 sadias, inoculadas e, tratadas com goma xantana e conídio inativado (CI), em 5 intervalos de tempo (0, 24, 48, 72, 96 horas) entre indutor e provocador.

Variedades/tratamentos	Intervalo de horas		
	24 h.	48 h.	72 h.
IAC sadia	1,07	1,07	1,16
Isol <i>B. bicolor</i>	1,04	0,97	0,2
Isol <i>B. sorokiniana</i>	1,34	0,8	0,15
Isol <i>D.tritici-repentis</i>	1,35	0,95	0,08
xantana	1,1	1,4	1,6
xantana- <i>B. bicolor</i>	1,51	2,85	3,8
xantana- <i>B. sorokiniana</i>	2,2	2,56	3,2
xantana- <i>D.tritici-repentis</i>	2,55	3,76	3,89
CI - <i>B. bicolor</i>	1,02	1,3	3,15
CI- <i>B. sorokiniana</i>	1,08	1,45	2,79
CI- <i>D.tritici-repentis</i>	1,35	2,69	2,98
BH sadia	0,9	1,1	1,15
Isol <i>B. bicolor</i>	1,35	1,45	1,4
Isol <i>B. sorokiniana</i>	1,3	1,44	1,38
Isol <i>D.tritici-repentis</i> .	1,43	1,6	1,58
xantana	0,88	1,2	1,25
xantana- <i>B. bicolor</i>	2,2	3,15	4,16
xantana- <i>B. sorokiniana</i>	1,94	3,03	3,48
xantana- <i>D.tritici-repentis</i>	2,66	3,65	4,03
CI - <i>B. bicolor</i>	1,8	2,4	3,15
CI- <i>B. sorokiniana</i>	1,5	2,1	3,05
CI- <i>D.tritici-repentis</i>	1,6	2,18	3,2

As leituras referem-se a médias de 5 extrações e 2 repetições em cada teste significativamente iguais ao nível de 5% (Teste T)..

Apêndice 10: Porcentagem de volume, área, média da absorbância e absorbância x área de bandas eletroforéticas marcadas por densitômetro e calculadas por computador e programa Analista molecular de variedades de trigo IAC-24 e BH-1146 sadias, infectadas e tratadas com goma xantana e/ou conídios inativado.

Variedade IAC-24																			
Tratamentos		1				2				3									
		Área (mm2)		Média Abs.	Abs. x área	%	Volume	Área (mm2)		Média Abs.	Abs. x área	%	Volume	Área (mm2)		Média Abs.	Abs. x área		
		%	Volume																
sadia		0,4	18,1	0,087	1,5	0,8	29,4	0,095	2,8	0,7	24,5	0,108	2,6						
XBb		4,1	49,7	0,296	14,6	6,4	64,3	0,355	22,8	4,4	38,4	0,404	15,5						
XBs		5,3	49,3	0,381	18,7	5,1	41,4	0,441	18,2	4,8	41,5	0,406	16,8						
XDtr		6,8	63,2	0,381	24,1	8,9	63,1	0,499	31,5	2,4	32,1	0,268	8,6						
CIBb		4,3	52,3	0,293	15,3	2,8	41,5	0,233	9,6	2,7	41,9	0,23	9,6						
CIBs		3,5	36,6	0,342	12,5	2,9	41,9	0,246	10,3	2,7	30,2	0,312	9,4						
CIDtr		4,7	49,3	0,343	16,9	2,8	39,6	0,252	9,9	3,2	39	0,293	11,4						
Bb		2,5	50,6	0,177	8,9	1,4	36,1	0,14	5,1	0,9	28,7	0,112	3,2						
Bs		3,6	56,3	0,228	12,8	1,9	35,9	0,186	6,6	1,8	35,1	0,186	6,5						
DTr		2,8	53,3	0,189	10,1	3,6	53,1	0,241	12,8	1,6	31,5	0,181	5,7						

Variedade BH-1146																	
Tratamentos		1				2				3				4			
		Área (mm2)		Média Abs.	Abs. x área	%	Volume	Área (mm2)		Média Abs.	Abs. x área	%	Volume	Área (mm2)		Média Abs.	Abs. x área
		%	Volume														
sadia		1,3	38,3	0,145	5,5	1,1	30,5	0,148	4,5	0,6	24,1	0,113	2,7	0,9	14,4	0,27	3,9
XBb		6,1	67,9	0,375	25,5	7,3	59,8	0,51	30,7	1,4	21,9	0,284	6,2	4,5	33,2	0,58	19,2
XBs		11,1	84,3	0,558	46,9	14,3	95,9	0,63	60,6	1,7	30,9	0,236	7,3	2,9	23,6	0,51	12,1
XDtr		7,4	82,7	0,382	31,6	4,1	50,5	0,34	17,2	1,6	29,2	0,242	7,1	4,4	29,2	0,645	18,8
Bb		4,1	48,8	0,34	16,9	3,2	34,8	0,39	13,6	0,5	15,6	0,153	2,3	1,1	12,1	0,362	4,3
Bs		6,6	84,1	0,33	28,2	2,6	35,5	0,31	11,1	0,9	24,6	0,169	4,1	2,6	24,6	0,45	11,1
Dtr		3,4	55,9	0,261	14,6	1,6	35,5	0,193	6,8	0,8	29,2	0,12	3,5	1,5	32,9	0,194	6,4

Apêndice 11: Dosagem da clorofila total (mg/gPF) das plantas de trigo tratadas com suspensão de fungos e goma xantana 48 h.

Isolados	IAC		BH	
	Planta	%	Goma	
	Inoculada	redução	Xantana	
<i>B. bicolor</i> 1	* 0,95	25a**	1,42	1,16 8,5 c
<i>B. bicolor</i> 2	0,89	29a	1,45	1,01 10 c
<i>B. bicolor</i> 3	0,98	23a	1,42	1,16 8,5 c
<i>B. bicolor</i> 4	0,95	25a	1,42	1,15 9 c
Erro padrão	0,001		0,005	0,004
Média	0,95		1,42	1,155
<i>B. sorokiniana</i> 1	0,79	38b	1,38	1,14 10 c
<i>B. sorokiniana</i> 2	0,63	50b	1,39	1,13 10,5c
<i>B. sorokiniana</i> 3	0,76	40b	1,4	1,13 10,5c
<i>B. sorokiniana</i> 4	0,76	40b	1,4	1,15 9,2 c
<i>B. sorokiniana</i> 5	0,75	41b	1,4	1,15 9 c
<i>B. sorokiniana</i> 6	0,79	38b	1,38	1,14 9,5 c
<i>B. sorokiniana</i> 7	0,84	34b	1,38	1,14 10 c
<i>B. sorokiniana</i> 8	0,62	51b	1,38	1,12 11 c
<i>B. sorokiniana</i> 9	0,87	32b	1,36	1,15 8,6 c
<i>B. sorokiniana</i> 10	0,88	31b	1,4	1,15 9 c
<i>B. sorokiniana</i> 11	0,75	41b	1,4	1,13 10,9c
<i>B. sorokiniana</i> 12	0,75	41b	1,36	1,14 9,5 c
<i>B. sorokiniana</i> 13	0,75	41b	1,4	1,14 10 c
Erro padrão	0,002		0,004	0,003
Média	0,76		1,39	1,14
<i>D. tritici-repentis</i> 1	0,43	67d	1,35	0,78 40e
<i>D. tritici-repentis</i> 2	0,42	60d	1,34	0,71 35e
<i>D. tritici-repentis</i> 3	0,42	64d	1,35	0,76 36e
<i>D. tritici-repentis</i> 4	0,42	66d	1,35	0,78 38e
Erro padrão	0,004		0,005	0,006
Média	0,42		1,35	0,77
água	1,27		1,27	1,26

*Médias de três repetições sendo significativamente iguais a nível de 5% (Teste T).

**Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% (Teste T).