**USO DE *Saccharomyces cerevisiae* NA PROTEÇÃO DE PLANTAS
DE SORGO (*Sorghum bicolor*), MARACUJÁ AZEDO AMARELO
(*Passiflora edulis*) E EUCALIPTO (*Eucalyptus* spp.) CONTRA
FITOPATÓGENOS FÚNGICOS E BACTERIANOS.**

EVERALDO PICCININ

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. SÉRGIO FLORENTINO PASCHOLATI

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, da Universidade de
São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em
Agronomia, Área de Concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Novembro de 1995

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

Piccinin, Everaldo

Uso de *Sacharomyces cerevisiae* na proteção de plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*), maracujá azedo amarelo (*Passiflora edulis*) e eucalipto (*Eucalyptus* spp.) contra fitopatógenos fúngicos e bacterianos / Everaldo Piccinin. - - Piracicaba, 1995.
107p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1996.
Bibliografia.

1. Bactéria fitopatogênica 2. Fungo fitopatogênico 3. Levedura para controle biológico 4. Planta - Doença - Controle biológico I. Título

CDD 589.23
632.96

**USO DE *Saccharomyces cerevisiae* NA PROTEÇÃO DE PLANTAS
DE SORGO (*Sorghum bicolor*), MARACUJÁ AZEDO AMARELO
(*Passiflora edulis*) E EUCALIPTO (*Eucalyptus* spp.) CONTRA
FITOPATÓGENOS FÚNGICOS E BACTERIANOS.**

EVERALDO PICCININ

Aprovado em: 30/01/1996

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Sérgio Florentino Pascholati

ESALQ -USP

Prof. Dr. Breno Leite

UFPR

PqC. Dr.^a Elza Maria Frias Martins

IB - SP

Prof. Dr. SÉRGIO FLORENTINO PASCHOLATI

Orientador

Aos meus pais Rosina e Celeste,
pelo apoio e incentivo em todos
os momentos

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Sérgio Florentino Pascholati do Departamento de Fitopatologia - ESALQ/USP, pelas sugestões e amizade na orientação deste trabalho.

A Prof^{te} Dr^a Lilian Amorim do Departamento de Fitopatologia - ESALQ/USP, pelo auxílio nas avaliações dos dados.

Ao Prof. Dr. Eric Balmer do Departamento de Fitopatologia - ESALQ/USP, pelas sugestões na instalação e condução dos ensaios de campo.

Ao Prof. Dr. Hiroshi Kimati do Departamento de Fitopatologia - ESALQ/USP, pelas sugestões no controle químico realizado nos campos de sorgo.

Ao Prof. Dr. Natal Antônio Vello do Departamento de Genética - ESALQ/USP, pelo empréstimo das trilhadeiras de sementes.

Ao Prof. Dr. Walter Rodrigues da Silva do Departamento de Agricultura - Setor de Sementes - ESALQ/USP, pelas sugestões e auxílio na secagem das sementes de sorgo.

Ao PqC Valdemar Atilio Malavolta Jr. do Instituto Biológico de Campinas pelo auxílio na elaboração dos ensaios com *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora* em maracujá.

Ao Dr. Alexandre S. Ferreira do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo CNPMS/EMBRAPA - MG, e Dr. Oswaldo A. P. Pereira (Sementes Agrocere S.A.) pelo fornecimento das sementes de sorgo utilizadas nos ensaios.

Aos funcionários da Biblioteca Central da ESALQ/USP e em especial a Luzia Fátima dos Santos Possato, Silvana Cristina N. Oliveira e a Eliana Maria Sabino pela ajuda prestada durante a Revisão bibliográfica.

Ao Eng. Agrônomo Odanil M. C. Leite (Ciba Geigy), pelo fornecimento do fungicida utilizado nos ensaios de campo.

À Cia. Suzano de Papel e Celulose pelo fornecimento das mudas de eucalipto para a condução dos ensaios e em especial aos Eng. Florestais Eduardo J. Mello e Wagner C. Manttoni.

Aos amigos Fabiana V. Hoto, Hélio M. Kamida, José R. Stangarlin, Robson M. Di Piero e Roberto V. Carvalho pela ajuda na implantação do campo de sorgo e a Cláudia V. de Godoy pelo auxílio no preparo dos gráficos e tabelas.

Aos colegas do laboratório de Fisiologia do Parasitismo e aos demais colegas do Departamento de Fitopatologia - ESALQ/USP, pelo apoio prestado durante todo o transcorrer do trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia - ESALQ/USP, e em especial a José Rodolfo Groppo, Pedro Artruso, Maria Heloisa D. de Moraes e Raquel F. Castelani.

Agradecimento especial a Thaís Rocha Pombo Pascholati, por todo o auxílio e apoio prestados durante a execução deste trabalho.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro fornecido.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	xi
RESUMO.....	xii
SUMMARY.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1. Indução de resistência em plantas.....	03
2.1.1. Introdução.....	03
2.1.2. Fisiologia da resistência de plantas - aspectos gerais.....	04
2.1.3. Indução de resistência - características.....	07
2.2. Controle biológico.....	12
2.3. Patossistemas.....	15
2.3.1. Sorgo - <i>Exserohilum turcicum</i>	15
2.3.2. Sorgo - <i>Colletotrichum graminicola</i>	17
2.3.3. Maracujá - <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflora</i>	20
2.3.4. Eucalipto - <i>Botrytis cinerea</i>	21
2.4. Perspectivas futuras.....	23
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
3.1. Plantas utilizadas nos ensaios.....	25
3.2. Patógenos utilizados e isolamento.....	26
3.2.1. <i>Colletotrichum graminicola</i>	26
3.2.2. <i>Exserohilum turcicum</i>	26
3.2.3. <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflora</i>	27
3.2.4. <i>Botrytis cinerea</i>	27
3.3. Métodos de preservação dos microorganismos utilizados nos ensaios.....	28
3.4. Patologia de sementes de sorgo.....	29

	Página
3.5. Produção massal de inóculo para inoculação em campo.....	30
3.5.1. <i>Colletotrichum graminicola</i>	30
3.5.2. <i>Exserohilum turcicum</i>	30
3.6. Instalação do campo experimental.....	31
3.6.1. Marcação de parcelas e plantas.....	33
3.6.2. Aplicação de levedura, fungicida e inoculação das plantas.....	33
3.6.2.1. Aplicação das suspensões de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33
3.6.2.2. Pulverizações com o fungicida.....	34
3.6.2.3. Inoculação com <i>Colletotrichum graminicola</i>	35
3.6.2.4. Inoculação com <i>Exserohilum turcicum</i>	35
3.6.3. Avaliação dos ensaios.....	37
3.6.3.1. Cultivar Tx398B - <i>Colletotrichum graminicola</i>	37
3.6.3.2. Cultivar 9107053 - <i>Exserohilum turcicum</i>	40
3.7. Produção e inoculação de plantas de maracujá azedo (amarelo).....	41
3.7.1. Preparo das suspensões de levedura e aplicação nas plantas.....	41
3.7.2. Inoculação da <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflora</i>	42
3.7.3. Avaliações dos sintomas nas plantas.....	42
3.8. Delineamento experimental e inoculação de mudas de eucalipto.....	42
3.8.1. Inoculação de <i>Botrytis cinerea</i>	43
3.8.2. Avaliações dos sintomas nas mudas.....	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1. Sorgo.....	45
4.1.1. <i>Colletotrichum graminicola</i>	45
4.1.2. <i>Exserohilum turcicum</i>	53
4.2. Maracujá - <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflora</i>	63
4.3. Eucalipto - <i>Botrytis cinerea</i>	72
5. CONCLUSÕES.....	82
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
01. Croqui de campo - cultivares de sorgo Tx398B e 9107053.....	32
02. Estágios fenológicos do sorgo.....	36
03. Escala diagramática para a determinação da severidade da doença causada por <i>Colletotrichum graminicola</i> em folhas de sorgo.....	38
04. Molde para avaliação da severidade de <i>Colletotrichum graminicola</i> em folhas de sorgo.....	39
05. Área sob a curva do progresso da doença (AUDPC), sorgo cv. Tx398B inoculada com <i>Colletotrichum graminicola</i>	46
06. Efeito de diferentes tratamentos no controle da antracnose causada por <i>Colletotrichum graminicola</i> em folhas de sorgo, sob condições de campo.....	48
07. Controle da antracnose, causada por <i>Colletotrichum graminicola</i> na expressão dos sintomas em folhas das plantas de sorgo tratadas com <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (aspersão semanal; E) ou Tilt (aspersão semanal; F) antes da inoculação. Plantas controle inoculadas com o fungo, sem nenhum tratamento posterior (controle - patógeno; B). As folhas ilustradas representam o máximo e mínimo de severidade observada em resposta aos diferentes tratamentos.....	49

Figura

08. Controle da antracnose, causada por *Colletotrichum graminicola*, na produção de panículas por plantas de sorgo tratadas com *Saccharomyces cerevisiae* (aspersão semanal; E) ou Tilt (aspersão semanal; F) antes da inoculação. Plantas controle inoculadas com o fungo, sem nenhum tratamento posterior (controle - patógeno; B)..... 50
09. Produção total de grãos por plantas de sorgo cv. Tx398B em resposta aos diferentes tratamentos para o controle de *Colletotrichum graminicola*..... 51
10. Área sob a curva do progresso da doença (AUDPC), sorgo cv. 9107053 inoculada com *Exserohilum turcicum*..... 55
11. Efeito de diferentes tratamentos no controle da helmintosporiose causada por *Exserohilum turcicum* em folhas de sorgo, sob condições de campo..... 56
12. Controle da helmintosporiose, causada por *Exserohilum turcicum*, na expressão dos sintomas em folhas das plantas de sorgo tratadas com *Saccharomyces cerevisiae* (aspersão semanal; E) ou Tilt (aspersão semanal; F) antes da inoculação. Plantas controle inoculadas com o fungo, sem nenhum tratamento posterior (controle - patógeno; B). As folhas ilustradas representam o máximo e mínimo de severidade observada em resposta aos diferentes tratamentos..... 58

Figura

13. Controle da helmintosporiose, causada por *Exserohilum turcicum*, na produção de panículas por plantas de sorgo tratadas com *Saccharomyces cerevisiae* (aspersão semanal; E) ou Tilt (aspersão semanal; F) antes da inoculação. Plantas controle inoculadas com o fungo, sem nenhum tratamento posterior (controle - patógeno; B)..... 59
14. Produção total de grãos por plantas de sorgo cv. 9107053 em resposta aos diferentes tratamentos para o controle de *Exserohilum turcicum*..... 61
15. Ilustração dos sintomas de lesão local (L) e sistêmica (S) na folha de maracujá inoculada com *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora*..... 67
16. Efeito da aplicação de *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora* em plantas de maracujá, com base no número de lesões locais nas folhas..... 69
17. Efeito da aplicação de *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora* em plantas de maracujá, com base no número de infecções sistêmicas nas folhas..... 70
18. Efeito de diferentes tratamentos com *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Botrytis cinerea* em mudas de eucalipto mantidas a 19°C..... 73

Figura

19. Efeito de diferentes tratamentos com <i>Saccharomyces cerevisiae</i> no controle de <i>Botrytis cinerea</i> em mudas de eucalipto mantidas a 15°C.....	74
20. Ilustração dos sintomas de necrose (N) em folhas de mudas de eucalipto devido a danos físicos e químicos.....	77
21. Ilustração dos sintomas causados por <i>Botrytis cinerea</i> em mudas de eucalipto: A - classe 1 = muda sadia; C - classe 3 = mudas mortas.....	78
22. Ilustração dos sintomas causados por <i>Botrytis cinerea</i> em mudas de eucalipto: B - classe 2 = mudas com sintomas leves.....	79

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
01. Coeficiente angular entre os dois últimos pontos e severidade média final relativa ao controle de <i>E. turcicum</i> em folhas de sorgo conforme ilustrado na Figura 9.....	57
02. Influência de <i>S. cerevisiae</i> na redução do número de lesões locais em folhas de maracujazeiro inoculadas com <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i>	64
03. Influência de <i>S. cerevisiae</i> na redução do número de infecções sistêmicas em folhas de maracujazeiro inoculadas com <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i>	65
04. Média de lesões locais por folha e por tratamento das plantas de maracujá inoculadas com <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i>	66
05. Média de lesões sistêmicas por folha e por tratamento das plantas de maracujá inoculadas com <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i>	66

**USO DE *Saccharomyces cerevisiae* NA PROTEÇÃO DE PLANTAS DE SORGO
(*Sorghum bicolor*), MARACUJÁ AZEDO AMARELO (*Passiflorae edulis*) E
EUCALIPTO (*Eucalyptus* spp.) CONTRA FITOPATÓGENOS FÚNGICOS E
BACTERIANOS.**

Autor: Everaldo Piccinin

Orientador: Sérgio Florentino Pascholati

Resumo

O trabalho visou comprovar a eficiência de *Saccharomyces cerevisiae* (Fermento Biológico Fresco Fleischmann) no controle de fitopatógenos fúngicos e bacterianos em sorgo, maracujá e eucalipto. Para o sorgo os ensaios foram realizados ao nível de campo, sendo que os patógenos utilizados foram representados por *Colletotrichum graminicola* e *Exserohilum turcicum* e as cultivares Tx 398B (suscetível a *C. graminicola*) e 9107053 (suscetível a *E. turcicum*). A levedura foi aplicada na concentração de 25 mg/ml, 24 horas antes ou após as inoculações, além de aplicações semanais da mesma. Como controle, utilizou-se tratamentos com o fungicida Tilt (Propiconazole), além de um tratamento controle inoculado e outro não inoculado. Os ensaios foram avaliados semanalmente, visando a obtenção das taxas de progresso da doença para cada tratamento. Ao final do experimento, foi avaliada a produção em cada um dos tratamentos efetuados, sendo possível observar que o tratamento com levedura aplicada semanalmente propiciou uma redução na severidade da doença para ambos os patógenos e um aumento na produtividade de grãos equivalente ao do tratamento químico.

Para o maracujá foram realizadas aplicações de levedura (25 mg/ml) 24 horas antes ou após a inoculação da bactéria *Xanthomonas campestris* pv.

passiflora. Os resultados evidenciaram uma redução no número de lesões locais em ambos os tratamentos com levedura e uma redução no número de infecções sistêmicas apenas para o tratamento efetuado 24 horas antes da inoculação do patógeno.

Mudas de eucalipto receberam os mesmos tratamentos efetuados em maracujá, porém as plantas foram inoculadas com o fungo necrotrófico *Botrytis cinerea*, e mantidas sob duas condições de temperatura de 19°C e 15°C. Além disso, os tratamentos foram subdivididos em dois outros com folhas exibindo pequenas necroses, de no máximo 2mm, causadas por injúria química ou mecânica, de ocorrência comum em viveiros de mudas de eucalipto. Observou-se um controle eficiente do patógeno quando a levedura foi aplicada 24 horas após o fungo a temperatura de 19°C. Porém, o controle pela levedura foi reduzido quando da utilização de mudas com tecidos necrosados ou mudas mantidas a temperatura de 15°C.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam a inexistência de especificidade no controle de diferentes fitopatógenos por *S. cerevisiae*, além do efeito de proteção ser inespecífico para o hospedeiro. Salienta-se, também, que não houve redução na produção de grãos por plantas de sorgo quando do emprego da levedura como indutor de proteção, o que demonstra a possibilidade do uso de *S. cerevisiae* ao nível de campo em estudos posteriores para o controle de fitopatógenos.

Protection of sorghum plants (*Sorghum bicolor*), yellow passionfruit (*Passiflora edulis*) and eucalyptus (*Eucalyptus* spp.) against fungal and bacterial plant pathogens by *Saccharomyces cerevisiae*

Author: Everaldo Piccinin

Adviser: Sérgio Florentino Pascholati

Summary

The aim of the present work was to use the yeast *Saccharomyces cerevisiae* ("Fleischmann baker's yeast") to control fungal and bacterial plant pathogens in sorghum, passionfruit and eucalyptus plants. Sorghum experiments were carried out under field conditions and the plants were inoculated with the pathogens *Colletotrichum graminicola* or *Exserohilum turcicum*. The sorghum cultivars Tx 398B (susceptible to *C. graminicola*) and 9107053 (susceptible to *E. turcicum*) were used as test plants. The yeast cell suspensions were at the concentration of 25 mg/ml and were sprayed 24 hours before or after the inoculations. Applications of yeast suspensions and fungicide (Tilt - propiconazole) were also carried out weekly. Control treatments were represented by inoculated and not inoculated plants. The experiments were evaluated weekly to obtain the disease progress curve for each treatment. At the end of the experiment, the grain production in each treatment was evaluated and it was possible to observe that weekly spraying of yeast cell suspensions reduced disease severity in sorghum plants to both pathogens and caused an increase on grain productivity that was equivalent to the chemical treatment.

For the passionfruit, yeast cell suspensions (25 mg/ml) were sprayed onto the plants 24 hours before or after the inoculations of the bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora*. The results showed a reduction in the number of local lesions in both treatments with yeast and a reduction in the number of systemic

lesions only in the treatment where the yeast suspension was sprayed 24 hours before the inoculation with the pathogen.

Eucalyptus seedling were inoculated with the necrotrophic fungus *Botrytis cinerea*, and incubated under two temperature conditions at 15°C and 19°C. Besides that the treatments were also subdivided in other two treatments, one having eucalyptus seedling with healthy leaves and other one having seedlings with leaves exhibiting some necrotic spots (maximum of 2mm), caused by chemical or mechanical injury. It was observed an efficient control of the pathogen where the yeast suspensions were applied 24 hours after the fungus at the temperature of 19°C on the healthy seedlings. On the other hand, the yeast cells were not effective in controlling the disease when the seedling with necrotic tissue or maintained at temperature of 15°C were used.

The results shown in this work point out the absence of specificity in the control of different plant pathogens by *S. cerevisiae*, and the protection effect were inespecific to the host plant. Finally, the grain production by sorghum plants was not reduced when the yeast cell suspensions were used to protect the plants indicating the possibility of using *S. cerevisiae* under field conditions in studies to control plant pathogens.

1. INTRODUÇÃO

As doenças de plantas sempre preocuparam o homem na obtenção de maiores produções e qualidade de produtos agrícolas, principalmente devido ao fato de ser difícil de se visualizar o agente causal a olho nú, o que conferia às doenças um certo aspecto místico no princípio da fitopatologia.

Com a descrição dos microrganismos e o desenvolvimento de técnicas básicas de microbiologia, o homem foi criando um conceito mais refinado sobre as doenças e consequentemente as técnicas de manejo e controle de doenças começaram a surgir em virtude deste maior conhecimento. A descoberta de que a calda bordalesa era capaz de controlar o míldio da videira foi um marco importante no controle das doenças de plantas, pois foi o primeiro fungicida utilizado pelo homem.

Inicialmente, apenas os fungicidas de ação protetora, os quais foram responsáveis por um grande avanço no controle das doenças de plantas, eram utilizados. Porém, existem algumas limitações quanto ao controle de doenças já instaladas nas culturas, bem como quanto a problemas de fitotoxidez. Com o avanço das pesquisas foram desenvolvidos os fungicidas sistêmicos, os quais apresentam maior especificidade de controle, menores riscos ao homem e menor grau de fitotoxidez, bem como permitem o controle de doenças já instaladas nas culturas. No entanto, alguns problemas como, ausência de produtos eficientes para todas as doenças e culturas ainda continuam a existir, além do surgimento de isolados resistentes dos microrganismos, para os quais os produtos são empregados.

Contudo, com o avanço da fitopatologia, novos métodos de controle e manejo cultural estão sendo desenvolvidos e aperfeiçoados. Atualmente, a necessidade de mercado exige que os produtos além de boa aparência e qualidade, apresentem riscos a

saúde humana, ou seja, cada vez mais o consumidor e os países importadores de produtos agrícolas apresentam maior rigor na obtenção de produtos que apresentem baixos resíduos de defensivos agrícolas. Assim sendo, existe a necessidade de criarmos condições de praticar uma agricultura com baixo impacto ambiental, ou mesmo visando a nossa permanência como país exportador de produtos agrícolas.

Neste sentido, atualmente uma das novas linhas de pesquisa no controle de doenças de plantas tem sido a proteção induzida as doenças, tomando por base a existência de mecanismos de resistência latentes na própria planta, os quais necessitam apenas serem ativados para que ocorra a proteção contra os fitopatógenos.

Em vista do exposto, o presente trabalho visa oferecer subsídios para o controle de doenças através da proteção de plantas, o que pode envolver tanto a indução de resistência e/ou o controle biológico. Desta maneira, pretende-se demonstrar a ocorrência do fenômeno da proteção de plantas de sorgo ao nível de campo, bem como demonstrar a inespecificidade da proteção nessa gramínea, de plantas de maracujá e de eucalipto por *Saccharomyces cerevisiae* e possível utilização do mesmo no manejo integrado de doenças. Os patossistemas a serem estudados envolvem sorgo-*Colletotrichum graminicola* e *Exserohilum turcicum*, maracujá-*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* e eucalipto-*Botrytis cinerea*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Indução de resistência em plantas

2.1.1. Introdução

Como regra geral na natureza, cada espécie vegetal possui mecanismos eficientes que impedem o estabelecimento e o desenvolvimento da maioria dos organismos patogênicos, porém, alguns conseguem vencer as defesas da planta e ocasionar a doença. Deste modo, resulta o conceito de que a resistência é a regra e a susceptibilidade uma exceção (MORAES, 1991; LOPEZ, 1993; PASCHOLATI & LEITE, 1994).

Quando o sistema de defesa da planta mostra-se ineficiente ou inoperante, o patógeno tem condições de iniciar o processo infeccioso e instalar-se nos tecidos do hospedeiro, ocasionando no mesmo distúrbios ao nível bioquímico e fisiológico, que se traduzem no surgimento dos sintomas da doença (LEITE & PASCHOLATI, 1995; MORAES, 1991).

Mas, porque a expressão de resistência de uma planta é funcional em apenas alguns casos ? Isto levou a hipótese de que os mecanismos de resistência estivessem inativos ou reprimidos nas interações compatíveis entre espécies ou cultivares susceptíveis e patógenos virulentos. Portanto, se os genes responsáveis pela defesa da planta estão inativos nestes casos, como ativá-los?

RAY (1901) foi um dos pioneiros em demonstrar o que classificou de “vacinação de plantas” com formas atenuadas de fungos causadores de ferrugem. Na mesma linha, BERNARD (1909) inoculou bulbos de orquídea com um isolado fraco de *Rhizoctonia*

repens, e demonstrou que quando estas mesmas plantas eram inoculadas com um isolado virulento do patógeno, as plantas não exibiam doença. Anos mais tarde, foi demonstrado que um dos fatores de proteção induzida nos bulbos de orquídea era devida em parte ao acúmulo de compostos fenólicos.

WARD (1905) e STACKMAN (1915) observaram também que plantas de trigo expostas a isolados avirulentos de fungos causadores de ferrugem, mostravam-se resistentes quando da inoculação de isolados virulentos do mesmo patógeno. SMITH et al. (1911) e BROWN (1923) demonstraram que a aplicação de preparações de *Agrobacterium tumefaciens*, inativados termicamente ou não, conferiam proteção às plantas a infecções posteriores pela própria bactéria.

MÜLLER e BÖRGER (1940) e MÜLLER (1956; 1961) demonstraram que tubérculos de batata quando inoculados com isolados avirulentos de *Phytophthora infestans*, tornavam-se resistentes à inoculações subsequentes com formas virulentas do fungo.

A partir da demonstração da existência do fenômeno de indução de resistência em plantas, muitos trabalhos começaram a ser conduzidos visando o entendimento dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos decorrentes da ativação dos genes de defesa.

2.1.2. Fisiologia da resistência de plantas - aspectos gerais

A resistência de um hospedeiro, dentro do contexto da fisiologia do parasitismo, pode ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e ou a subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Neste sentido, as plantas apresentam diversos mecanismos de resistência que são divididos didaticamente em duas categorias: a) mecanismos pré-formados (passivos, constitutivos), que são subdivididos ainda em estruturais (cutícula, tricomas, estômatos, vasos condutores, etc) e bioquímicos (fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos cianogênicos, glicosídeos fenólicos, fototoxinas, inibidores

proteicos, β -1,3 glucanase, quitinase, etc) e mecanismos pós-formados (ativos; induzíveis), que também são subdivididos em estruturais (papilas, halos, lignificação, camadas de cortiça, tiloses, etc) e bioquímicos (fitoalexinas) (MORAES, 1991; BELL, 1981; ISAAC, 1992; MANSFIELD, 1983; AIST, 1983; PASCHOLATI & LEITE, 1994).

De modo geral, a indução de resistência em plantas está relacionada a mecanismos estruturais e bioquímicos pós-formados. Os mecanismos bioquímicos pré-formados podem ser considerados também como passíveis de serem induzidos, pois como resultado da infecção as substâncias já existentes, podem ser convertidas em outras substâncias altamente tóxicas aos fitopatógenos, ou ainda podem ter seu acúmulo aumentado rapidamente em resposta a uma possível agressão externa (PASCHOLATI e LEITE, 1994).

Dentre os mecanismos bioquímicos de resistência pós formados, as fitoalexinas ocupam lugar de destaque. Neste sentido, devido a importância das mesmas na proteção de diversas plantas inclusive sorgo, abordaremos a seguir alguns aspectos desse mecanismo de resistência à fitopatógenos.

As fitoalexinas são compostos anti-microbianos, de baixo peso molecular, que são sintetizados pelas plantas e se acumulam nas células vegetais em resposta a uma infecção microbiana (PAXTON, 1981; STOESSL, 1986). Atualmente, sabe-se que não apenas os fitopatógenos são capazes de induzirem ou elicitarem a produção de fitoalexinas, mas também outros microrganismos não patogênicos, como por exemplo, *Saccharomyces cerevisiae* e *Bacillus thuringiensis* e agentes abióticos, como $HgCl_2$ e luz U.V. (FREITAS et al., 1993).

As fitoalexinas podem ser elicitadas endogenamente devido a ação de oligossacarídeos dos fitopatógenos, liberados em função da ação das β -1,3 glucanases e quitinases sobre a parede celular (PASCHOLATI & LEITE, 1994).

RONCATTO & PASCHOLATI (1993) evidenciaram a produção de fitoalexinas em mesocótilos estiolados de sorgo, a partir do tratamento com filtrado de suspensões da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e "Fermento Biológico Fresco Fleischmann". Foi observado também que o aumento da resposta de proteção foi linear ao aumento da concentração de levedura aplicada, assim como a produção de fitoalexinas foi mais

intensa quando aplicado o fermento biológico, indicando que a presença das células de levedura está ligada diretamente ao efeito de proteção.

LOPEZ (1993) e TENKOUANO et al. (1993) consideram a utilidade de seleção de plantas de sorgo que expressam mais rapidamente e eficientemente o acúmulo das fitoalexinas, pois como já demonstrado que as mesmas estão intimamente relacionadas com a defesa do sorgo contra fitopatógenos.

SNYDER & NICHOLSON (1990) demonstraram a formação de fitoalexinas em sorgo 24h após a aplicação de suspensões conidiais de *Colletotrichum graminicola*. Foi observado o aparecimento de pequenas inclusões, contendo fitoalexinas conhecidas como apigeninidina e luteolinidina. Estas inclusões acumulavam-se ao redor do ponto de infecção impedindo o estabelecimento do patógeno. Outro aspecto importante diz respeito à coloração das fitoalexinas de sorgo, visto serem as únicas fitoalexinas coloridas que se conhece, o que facilita a visualização direta do acúmulo das mesmas nas células de plantas dessa gramínea.

O controle da antracnose do sorgo causada por *C. graminicola*, entre outros fatores deve-se ao efeito protetor das fitoalexinas, bem como a velocidade de resposta da planta no acúmulo destes compostos (SNYDER & NICHOLSON, 1990; TENKOUANO et al., 1993; LOPEZ, 1993).

STANGARLIN et al. (1994) relataram que a resposta de plantas de sorgo a “queima das folhas” ou mancha foliar causada por *Exserohilum turcicum* também envolve o acúmulo de fitoalexinas do tipo apigeninidina, luteolinidina e ester de apigeninidina, sendo semelhantes às produzidas contra *C. graminicola*, demonstrando também a inespecificidade dessas substâncias quanto aos fitopatógenos controlados.

HOOS & BLAICH (1990) e JEANDET et al. (1995) demonstraram que videiras acumulam a fitoalexina resveratrol em resposta a infecção de *Botrytis cinerea*, *Phomopsis viticola* e outros fitopatógenos. HOOS & BLAICH (1990) observaram através de estudos *in vitro* que *B. cinerea* e *P. viticola* tem o crescimento micelial reduzido na concentração de 50 ppm de resveratrol, enquanto que 500 ppm induz ao crescimento rítmico e lento até paralisar o crescimento fúngico. Porém, *B. cinerea* possui mecanismos enzimáticos capazes de degradar o resveratrol, através da produção

de lactases, às quais promovem a detoxificação da fitoalexina através de reações oxidativas.

PEZET & PONT (1990) descrevem a fitoalexina pterustilbeno, produzida pela videira, capaz de atuar diretamente sobre ribossomos, retículo endoplasmático, mitocôndrias e membrana nuclear do *B. cinerea*. Essa fitoalexina age sobre a membrana plasmática desorganizando-a completamente em 3 horas e inibindo totalmente a respiração em 10 minutos. Essa diferindo do resveratrol, principalmente pela velocidade de acúmulo e modo de ação sobre o patógeno.

2.1.3. Indução de resistência - características

O tratamento prévio de plantas, a fim de conferir proteção pela ativação dos mecanismos de defesa estruturais e bioquímicos das plantas, protegendo-as contra fungos, vírus e bactérias é conhecido como indução de resistência (MADAMANCHI & KUĆ, 1991; MARTINELLI, 1992; MARTINS, 1991; MORAES, 1991; PASCHOLATI, et al. 1986; PASCHOLATI e LEITE, 1994; 1995).

Para que o processo de indução de resistência seja desencadeado é necessário que ocorra algum estímulo na planta hospedeira para que os mecanismos latentes de resistência da planta sejam ativados (PASCHOLATI & LEITE, 1995). Os agentes capazes de provocar este estímulo nas plantas são chamados de indutores ou elicitores, os quais podem ser divididos em bióticos e abióticos. Os elicitores bióticos são representados por microrganismos saprófitas, próprio patógeno ou patógenos de outras culturas, onde os mesmos podem estar na forma virulenta, avirulenta ou inativada. Também podem englobar metabólitos microbianos e extratos de plantas sadias ou imunizadas (SEQUEIRA, 1979; KUĆ & RUSH, 1985; DUKE et al 1987; MORAES, 1989; 1990). A maioria dos pesquisadores prefere o uso de não patógenos para as investigações sobre a indução de resistência em plantas. No Brasil, alguns dos microrganismos comumente utilizados são *Bacillus thuringiensis* e *Saccharomyces cerevisiae*, devido as facilidades encontradas na aquisição de formulações comerciais,

além dos resultados já obtidos com os mesmos serem promissores (FREITAS et al., 1993; LOPEZ, 1991; MORAES, 1991; RONCATTO & PASCHOLATI, 1993; ROVERATTI, 1989; SILVA, 1989; STANGARLIN & PASCHOLATI, 1994).

Os mais variados tipos de elicitores abióticos são utilizados no estudo do fenômeno de indução de proteção. Dentre eles, temos: luz UV, injúria mecânica com carborundum, tratamento com HgCl_2 , NaCl e nitrogênio líquido (FREITAS et al., 1993; PASCHOLATI & LEITE, 1995). Atualmente, o ácido acetil salicílico vem recebendo maior atenção em estudos exploratórios devido à sua rápida e eficiente atuação na ativação dos sistemas de defesa das plantas, em baixas dosagens e o seu papel como possível sinal translocado durante o fenômeno de proteção sistêmica (KLESSING, 1994). HADWIGER et al. (1994) e BENHAMOV et al. (1994) relatam também a quitosana, como um produto muito promissor no controle de fitopatógenos, visto que a mesma encontra-se intimamente relacionada com fatores de reconhecimento na interação patógeno hospedeiro.

É importante lembrar que a velocidade de expressão dos mecanismos de resistência pós-formados estruturais e bioquímicos são de vital importância no bloqueio ou não do patógeno (MORAIS, 1991). MARLEY & HILLOCHS (1993) demonstraram que o feijão guandu tinha sua expressão de resistência condicionada a produção de uma fitoalexina conhecida por cajanol. Os autores estudaram os cultivares ICP 9145 e Malawi, sendo que ambos apresentavam a produção deste composto, porém a velocidade de acúmulo da fitoalexina pelo cultivar ICP 9145 era aproximadamente 10 vezes mais rápida do que no cultivar Malawi. Através de inoculação de ambos os cultivares com o fungo *Fusarium udum* foi observado que apenas o cultivar ICP 9145 apresentava resistência ao patógeno.

Outra característica importante do processo de indução de resistência em plantas, é que o mesmo é inespecífico, podendo proteger as plantas contra qualquer fitopatógeno (KUĆ, 1985). DEAN & KUĆ (1986a) utilizando suspensões de *Colletotrichum lagenarium* aplicado como elicitor em folhas cotiledonares de pepino, obtiveram proteção sistêmica a mais de 13 fitopatógenos, representados por fungos, vírus e bactérias.

A proteção induzida também depende do intervalo de tempo entre o tratamento inicial (elicitador) e a inoculação do patógeno, bem como do agente elicitador envolvido (MORAES, 1991; SILVA, 1989). O efeito da proteção normalmente não é imediato, para a expressão de resistência como o observado para o caso de feijão guandu (SILVA, 1989; MARLEY & HILLOCKS, 1993). Esta dependência de tempo para a expressão da resistência irá determinar em parte a eficiência ou não do processo de proteção, pois quanto mais rápido a planta defender-se do patógeno, maiores serão as chances de impedir que o patógeno estabeleça-se no hospedeiro causando a doença.

A concentração do elicitador para a proteção de plantas também pode afetar a ativação da resistência da planta. CARUSO & KUĆ (1979) utilizando de *Colletotrichum lagenarium*, como indutor de resistência em folhas de melão e melancia, através da aplicação de uma suspensão de 10^3 conídios/ml, obtiveram controle de 90 e 95% respectivamente, para uma posterior infecção com o patógeno. Quando do aumento da concentração da suspensão elicitora para 10^7 conídios/ml, o efeito protetor caiu para 35 e 13%, respectivamente.

A duração do efeito protetor pode ser duradouro ou temporário. ROSS (1961) obteve indução de resistência sistêmica em fumo até 7 dias após a elicitação. KUĆ & RICHMOND (1977) obtiveram proteção sistêmica por 4-5 semanas em plantas de abóbora contra *Colletotrichum lagenarium*. ROVERATTI et al. (1987) e ROVERATTI (1989) obtiveram também proteção sistêmica à *Hemileia vastatrix* em cafeeiros, onde o efeito protetor manteve-se viável durante 4-5 semanas. LOPEZ (1991) demonstrou que a proteção de plantas de sorgo era efetiva por um período de 7 dias contra o patógeno *C. graminicola*, através do uso de *S. cerevisiae*, como indutor de proteção.

JENNS & KUĆ (1979) e DEAN & KUĆ (1986a,b) destacam também a possibilidade da transmissão de proteção através de enxertia. Os autores sugeriram que um “sinal” químico é produzido no local de indução e que este sinal seria translocado para os demais tecidos conferindo a proteção.

De acordo com MORAES (1991), o processo de indução de proteção envolve a ativação de processos bioquímicos. Visto que a resposta de proteção irá envolver a síntese e o movimento de metabólitos, e que estes são originários de processos que

requerem energia, supõem-se que a luz deva se constituir em importante fator envolvido em alguns processos de proteção. LOZANO & SEQUEIRA (1970), utilizando-se de células de *Pseudomonas solanacearum* inativadas termicamente e de *P. Solanacearum* virulentas, aplicadas em folhas de fumo, observaram que a presença de luz era necessária para a manifestação da resistência induzida. Porém, CARROL & LUKEZIC (1972) obtiveram resultados contrários a influência da luz na proteção de folhas de plantas de alfafa tratadas com mutantes de *Corynebacterium insidiosum*. Os autores evidenciaram maior resistência aos isolados virulentos, quando as plantas foram mantidas por 24h no escuro antes da inoculação do patógeno.

KLEMENT & GOODMAN (1968) demonstraram também a sensibilidade do processo de indução de resistência à temperatura. Foram utilizadas plantas de fumo crescidas à 20, 24 e 30°C, sendo procedidas então inoculações com o vírus do mosaico do fumo. Os resultados evidenciaram lesões locais como reação de resistência apenas para as plantas crescidas à 20 e 24°C, mas não naquelas mantidas à 30°C.

ELLISTON et al. (1977) também demonstraram perda da eficiência da resistência induzida em plantas de feijão à *Colletotrichum lindemuthianum* e a *Colletotrichum lagenarium*, quando as plantas foram mantidas à 37°C.

Indução de resistência local ou sistêmica

A proteção de plantas pode ocorrer de dois modos distintos: local ou sistemicamente. A proteção local tem como característica o controle do patógeno no sítio onde o agente elicitor foi aplicado. OUCHI et al. (1976) evidenciaram proteção local em plantas de pepino a *Erysiphe graminis*, onde a indução foi obtida apenas nos pontos de aplicação do inóculo. PASCHOLATI et al. (1986), através do tratamento de folhas de plantas de melão com *Helminthosporium carbonum* ou *Mycosphaerella melonis* inativada termicamente utilizados como indutores contra *M. melonis*, não demonstraram proteção a distância do ponto de aplicação dos agentes indutores caracterizando assim uma proteção do tipo localizada. Por sua vez, SILVA (1989)

obteve apenas proteção local contra *C. graminicola* em milho, quando utilizou como elicitor a levedura *S. cerevisiae*.

A proteção sistêmica é caracterizada quando a mesma ocorre no hospedeiro em locais distantes ao da aplicação do elicitor (SILVA, 1989). ROVERATTI et al. (1987) e ROVERATTI (1989) demonstraram que a ferrugem do cafeeiro pode ser controlada através do uso de indutores como *Bacillus thuringiensis*, *Saccharomyces cerevisiae* ("Fermento Biológico Fresco Fleischmann"), *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* e outros. Os indutores conferiram resistência do tipo sistêmica à ferrugem, sendo que o efeito de proteção foi possível ser observado nas direções ascendentes e descendentes, a partir do ponto de aplicação dos elicitores. GUEDES et al. (1980) demonstraram que a indução de proteção em pepino contra o patógeno *Colletotrichum lagenarium* era mais evidente em folhas de pepino localizadas acima da folha induzida do que nas folhas que estavam abaixo do local de indução ou nos próprios sítios de aplicação do indutor.

Indução de suscetibilidade

O tratamento de plantas com indutores de resistência, às vezes pode provocar efeito contrário à resistência ou seja pode ocasionar a supressão da resistência, fenômeno este chamado de suscetibilidade induzida (OUCHI, 1983). PASCHOLATI & NICHOLSON (1983) e PASCHOLATI et al. (1985), utilizando *Helminthosporium maydis* em plantas de milho suscetíveis e resistentes a *Helminthosporium carbonum*, tornaram plantas resistentes em suscetíveis ao *H. carbonum*, quando previamente inoculadas com *H. maydis*.

A suscetibilidade induzida provavelmente está relacionada à capacidade de alguns patógenos impedirem a ativação dos mecanismos de resistência das plantas pelo interrompimento do processo de reconhecimento, que pode ser feito através da produção por parte do patógeno de polissacarídeos extracelulares de cápsulas, produção de enzimas e ou toxinas extracelulares, as quais irão interferir diretamente na permeabilidade da membrana plasmática ou outras atividades celulares como

supressores, os quais interferem no processo de reconhecimento, através do condicionamento celular em direção a resistência.

2. 2. Controle biológico

Se tomarmos como base que as doenças das plantas são oriundas de um desequilíbrio da microflora benéfica anteriormente associada à planta, e a maneira que os tratos culturais são realizados na agricultura moderna, onde a falta de critérios para a realização do controle químico contribui ainda mais para aumentar o desequilíbrio microbiano, considerando ainda que os fitopatógenos recebem continuamente uma pressão de seleção a cada aplicação de defensivos que realizamos. Desse modo os fitopatógenos apresentam-se mais aptos a sobrevivência após um controle químico que os não patógenos. Após realizarmos um controle químico propiciamos a eliminação de grande parte da microflora existente, facilitando assim o desenvolvimento dos patógenos (BAKER, 1994; BOLAND, 1990; TOKESHI, 1991).

Visando o restabelecimento destas relações hospedeiro e microflora benéfica, surgiram estudos procurando encontrar microrganismos antagonísticos para os mais variados patógenos para o controle de doenças, dando origem então ao que conhecemos por controle biológico de doenças de plantas. COOK & BAKER (1983) definiram o controle biológico de doenças de plantas como a redução do potencial de inóculo e ou patogenicidade, pelo uso de um ou mais organismos, exceto o homem.

O mecanismo de ação dos agentes de biocontrole, pode ser ilustrado através de três métodos básicos de controle: antibiose, parasitismo e competição. A antibiose baseia-se na produção de substâncias com efeito fungicida ou fungistática, bactericida e nematocida. Estas substâncias são produzidas pelos organismos antagonistas como um mecanismo de proteção à sua sobrevivência diante dos demais microrganismos existentes na microflora que ocupa (LUZ, 1995).

Entre os microrganismos produtores de antibióticos e utilizados no controle biológico de doenças de plantas, temos o *Bacillus subtilis* (SANHUEZA, 1987). Essa

bactéria produz uma enorme gama de antibióticos tais como micosubtilina, bacillomicina (KAREL & ROACH, 1951), bacilizina e fungimicina (LOEFFLER et al., 1986; TSCHEN, 1987) e bulbiformina (VASUDEVA et al., 1958), os quais exibem a capacidade de inibir uma vasta gama de bactérias e fungos fitopatogênicos (DUNLEAVY, 1955). Por sua vez, os fungos do gênero *Trichoderma* spp também produzem antibióticos de vários tipos, porém nem todas as espécies do fungo tem ação de antibiose, pois se valem de outros mecanismos no biocontrole das doenças de plantas (BAKER, 1994; SANHUEZA, 1991).

Um dos mais famosos produtos de uso comercial para o controle da galha da coroa das rosáceas é derivado de bactérias do gênero *Agrobacterium*. Neste caso a bactéria *A. radiobacter* produz uma substância antibiótica chamada bactericina, que é capaz de controlar a *A. tumefaciens* (KERR, 1980).

O mecanismo de parasitismo ou hiperparasitismo por microrganismos, consiste na degradação da parede celular ou estruturas de resistência dos fungos fitopatogênicos, com posterior penetração no fungo e absorção do conteúdo celular (CHET, 1987; CHET et al., 1990). ELAD et al. (1982) demonstraram que as enzimas celulase e β -1,3 glucanase são produzidas por *Trichoderma* spp, quando o fungo hiperparasita a parede celular de *Pythium* sp e que enzimas como quitinase e β -1,3 glucanase são produzidas quando o fungo é colocado em presença de *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.

A competição é praticamente o mecanismo que coordena a existência de todos os demais mecanismos de biocontrole, pois o que leva um microrganismo a controlar outro, é exatamente a necessidade de sobrevivência em determinado habitat, e esta competição confere muitas vezes o equilíbrio entre a população de patógenos e não patógenos. REIS (1987; 1989) cita o fenômeno conhecido por declínio do mal do pé do trigo causado por *Gaumannomyces graminis* var. *tritici*, onde a doença surge no 2º ou 3º ano de cultivo, aumenta a severidade nos anos subsequentes, e com o passar dos anos diminui até estabilizar-se em níveis que não comprometem economicamente a cultura.

LOUVET et al. (1981) e ROVIRA & WILDERMUTH (1981) também observaram fenômeno semelhante ao do *Gaumannomyces graminis* em trigo, onde em alguns solos foram encontradas altas populações de *Fusarium roseum*, *Verticillium*

albo-atrum, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* e *Phytophthora cinnamomi*, e mesmo assim as culturas presentes nestes locais não apresentavam danos econômicos. O fato acima deu origem ao nome de solos supressivos para este tipo de ocorrência. A única diferença observada em relação a um solo aparentemente sem este efeito supressor era a população microbiana existente. Para os solos supressivos, a população de microrganismos era extremamente elevada, o que leva a supor que devido à competição com a microflora nativa, estes patógenos atuam como habitantes naturais do solo e com baixa virulência, pois isto poderia ocasionar perda da capacidade competitiva e consequente morte dos mesmos.

O fenômeno do controle biológico através da competição, envolve principalmente a disputa por nutrientes e espaço. A velocidade de crescimento, bem como a eficiência na absorção de determinadas formas de carbono, nitrogênio e outros nutrientes minerais determina a sobrevivência dos microrganismos em alguns ambientes, assim como a sucessão de populações (PAULITZ, 1990; CAMPBELL, 1994).

LEITE et al. (1995) citam também a existência de compostos voláteis produzidos tanto por microrganismos quanto pelas plantas, os quais podem atuar tanto inibindo como estimulando a germinação e o desenvolvimento de patógenos fúngicos, sendo este um importante mecanismo de controle dos fungos de solo.

LEONG (1986) demonstrou a existência de um composto denominado de sideróforo, produzido por *Pseudomonas fluorescens*, o qual apresenta um efeito quelante por Fe^{+3} . O sideróforo torna o ferro indisponível aos demais microrganismos que não disponham dos mecanismos de quelatização.

LOCKWOOD (1989) faz uma séria crítica ao controle biológico utilizado atualmente, ou seja, o mesmo discorda do uso de apenas um único microrganismo no processo de biocontrole. Na natureza, o que ocorre, é uma interação de várias populações microbianas, sendo que muitas vezes os organismos envolvidos não passam de saprófitas e que de maneira direta competem por espaço e nutrientes tanto ao nível de solo, rizosfera e filoplano.

WINDELS & LINDOW (1985) relatam o caso do CBD ("coffee berry disease") do cafeeiro causado por *Colletotrichum coffeanum*, e ainda inexistente no Brasil. Nos países onde a doença ocorre foi observado que as aplicações de fungicidas, em especial os cúpricos, aumentavam a incidência e severidade da doença. Esse fato foi explicado com base na observação de que o controle biológico de *Colletotrichum* era devido principalmente a competição por nutrientes (em especial açúcares) com a microflora natural (leveduras) das folhas.

Em concordância com as observações acima, TOKESHI (1991) afirma que somente retornando a um equilíbrio tanto ao nível de nutrição, como ocorre nos centros de origem ou mesmo florestas, assim como o restabelecimento de uma microflora estável e competitiva, é que poderemos obter resultados satisfatórios no controle biológico de doenças. Deste modo, o manejo integrado de todos os fatores de controle são de vital importância para a manutenção e retorno do equilíbrio biológico perdido.

2.3. Patossistemas

2.3.1. Sorgo - *Exserohilum turcicum*

A mancha foliar de *E. turcicum* é uma das principais doenças que afeta a cultura do sorgo, distribuída praticamente por todas as regiões produtoras de sorgo, onde os prejuízos atingem até 50% da produção (COELHO, 1983; FERREIRA, 1984; FREDERIKSEN, 1991).

Os sintomas caracterizam-se pelo surgimento de pequenas manchas descoloridas nas folhas e que evoluem para lesões do tipo necróticas, de formato elipsoidal com centro palha, acompanhadas de um halo avermelhado que delimita as lesões. Com a evolução da doença, as lesões tendem a coalescer tomando grandes áreas do limbo foliar o que acaba por acarretar a seca das folhas afetadas (FREDERIKSEN, 1991).

Os sintomas iniciam em geral pelas folhas da base, ou seja as folhas mais velhas e depois evoluem para as folhas do topo, até atingirem a folha bandeira. O patógeno não

danifica os grãos de sorgo, porém, quebras na produção podem ser sentidas devido a redução da área fotossintética pela seca das folhas (ESTEVES, 1984; FREDERIKSEN, 1991).

O patógeno *Exserohilum turcicum* (Pass.), agente causal da mancha foliar do sorgo, corresponde em sua fase perfeita ao fungo ascomiceto *Trichometasphaeria turcica* Luttrell, sendo sua fase sexual raramente encontrada na natureza (FREDERIKSEN, 1991; MUCHOVEJ et al., 1988; ALCORN, 1988). Os conídios medem 10-29 a 28-153µm, sendo os mesmos produzidos isoladamente em cada conidióforo, sem a formação de cadeias. Apresentam segmentação que varia de 3 a 8, e disseminação feita principalmente pelo vento, além da possibilidade de transmissão via semente (BALMER, 1980; FREDERIKSEN, 1991; MUCHOVEJ et al., 1988).

As condições ideais para a ocorrência de infecção são: temperatura na faixa de 20 a 25°C e umidade relativa acima de 90% (FREDERIKSEN, 1991; LASCA et al., 1986). A condição de escuro é ideal para que ocorra a infecção, pois a luz exerce fator negativo na germinação e esporulação do patógeno, assim como níveis elevados de açúcares na folha do hospedeiro. Por esse motivo o patógeno é conhecido como "low sugar" ou fungo não açucareiro. A penetração do patógeno é feita via direta ou indireta através dos estômatos (BALASS & LEVY, 1984; LEVY & TAL, 1985; LEVY & COHEN, 1991, 1984).

A sobrevivência do patógeno de um ano para outro ocorre em restos de cultura infectados pelo fungo, sendo que na ausência de material infectado o patógeno não é capaz de sobreviver de forma saprofítica no solo (SHREE & LUKE, 1983). Outra possibilidade da permanência do patógeno de um ano para outro é através de plantas hospedeiras, como por exemplo o *Sorghum halepense* (capim massambará), ou mesmo em soca da cultura de sorgo ou plantas oriundas de restos de sementes que ficam no campo após a colheita das plantas (LEVY, 1984).

O controle da mancha foliar é feito basicamente pelo uso de variedades resistentes, devido a existência de muitas raças do patógeno e os programas de melhoramento, de uma maneira geral, serem direcionados para a resistência do tipo vertical (COELHO, 1983; FERREIRA, 1984; ULLSTRUP, 1970; MOURA e DA

SILVA, 1981; MISRA, 1989; PRABHU & MORAIS, 1993; BLEICHER et al, 1993). Assim sendo, o processo de seleção passa a ser contínuo e de curta duração (CAMARGO & BERGAMIN FILHO, 1995).

O uso do controle químico mostrou-se como alternativa, quando não é possível a obtenção de um controle satisfatório com o melhoramento. O uso de fungicidas inibidores da biossíntese de esteróis tal como o propiconazole tem demonstrado grande eficiência no controle de *E. turcicum* (BOWEN & PEDERSEN, 1988). Porém, alguns problemas como aplicação e custos, além de problemas de resistência ao produto podem inviabilizar o seu uso. Nesse caso, mostra-se necessária a aplicação de outras medidas de controle conjuntamente ao controle químico (KIMATI, 1995; FORCELINI, 1994).

2.3.2. Sorgo - *Colletotrichum graminicola*

A antracnose é considerada a principal doença do sorgo no Brasil, sendo uma das mais importantes doenças dessa gramínea em todas as regiões produtoras no mundo (FREDERIKSEN, 1991; FERNANDES & SCHAFFERT, 1978; CASELA & FERREIRA, 1988a,b)

CASELA & FERREIRA (1987a) obtiveram através de inoculações artificiais, perdas de 88% no rendimento de grãos, 23,9% no peso de 100 sementes e 54,3% na produção por hectare. CASELA & FREDERIKSEN (1993b) e ALI & WARREN (1987) relataram prejuízos acima de 50% na produção, quando apenas as folhas de cultivares suscetíveis foram afetadas pelo patógeno.

O patógeno caracteriza-se por afetar folhas, caule, haste floral, flores e sementes de sorgo em qualquer idade. Os sintomas em folhas se iniciam por pequenas lesões circulares ou elípticas de coloração arroxeada e que com a evolução da doença coalescem tomando grandes áreas do limbo foliar. O centro das lesões adquirem tonalidade palha com o envelhecimento, e os sintomas de necrose foliar avançam até ocasionarem a seca das folhas afetadas (FREDERIKSEN, 1991).

A doença afeta severamente também as hastes florais e o caule das plantas, sendo os sintomas semelhantes aos que ocorrem nas folhas, porém, acompanhado de podridão dos pontos atacados, onde em corte observa-se um avermelhamento dos tecidos infectados. Em geral, as podridões de caule permitem o ataque de outros fitopatógenos, quase sempre levando a morte da planta. Os sintomas nas hastes florais levam desde a quebra das hastes até a interrupção do fluxo da seiva acarretando o não enchimento dos grãos (FREDERIKSEN, 1986; CASELA & FREDERIKSEN, 1993a).

Os efeitos do patógeno nas flores ou grãos são muito severos, pois afetam diretamente a produção, além de prejudicarem a qualidade de grãos e ou sementes (CARDWELL, 1989; LASCA et al., 1986).

A antracnose do sorgo causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola* Ces. G. W. Wils., que na fase perfeita corresponde a *Glomerella graminicola*, produz conídios isolados e simples (FREDERIKSEN, 1991; NICHOLSON, 1992). Os esporos do *C. graminicola* são produzidos em associação a uma matriz mucilaginosa solúvel em água. Em condições de baixa umidade relativa (abaixo de 45%), a matriz torna-se seca e pulverulenta em 48h, o que permite também a possibilidade da disseminação aérea do patógeno (NICHOLSON & MORAES, 1980). A importância da matriz mucilaginosa está no efeito da mesma conferir ao patógeno proteção a dissecação dos conídios e maior sobrevivência dos mesmos. Com a remoção da matriz, via água, os conídios tem sua viabilidade reduzida para 24h, sendo completamente perdida em 48h. A matriz também tem efeito inibitório na germinação dos conídios, impedindo que todos germinem de uma única vez, além de conferir importante papel na penetração do patógeno no hospedeiro, devido conter enzimas do tipo invertase, β -glucosidase, cutinase, esterases, DNases, RNases, lacase, protease e fosfatase alcalina (NICHOLSON & MORAES, 1980; NICHOLSON, 1992; PASCHOLATI et al., 1993; RAMADOSS et al., 1985).

As condições ideais para que ocorra a penetração, envolvem temperaturas na faixa de 22 à 30°C, umidade relativa acima de 90%, e a presença de água livre (FREDERIKSEN, 1991; LEONARD & THOMPSON, 1976; NICHOLSON & WARREN, 1976; NICHOLSON, 1992). Nestas condições, as primeiras lesões do

patógeno podem ser observadas de 3 a 5 dias após as inoculações, sendo que as primeiras manchas cloróticas podem ser observadas 24 a 48h.

A disseminação do patógeno é feita basicamente por sementes infectadas as quais podem levar o patógeno à grandes distâncias e novas áreas geográficas (CARDWELL, 1989; CHAUDHARY & MATHUR, 1979; SIDDIQUI et al., 1983; PRASAD, et al., 1985; LASCA, et al., 1986). Por sua vez, a disseminação do patógeno de uma planta para outra, dentro de uma mesma cultura ou culturas próximas, ocorre principalmente devido as condições de alta umidade relativa, em geral chuvas, que solubilizam a matriz mucilaginosa. Quando as chuvas são acompanhadas de vento, a disseminação torna-se mais eficiente à maiores distâncias (AMORIM, 1995a; NICHOLSON, 1992; FREDERIKSEN, 1991).

A sobrevivência do patógeno de um ano para outro ocorre em geral pela presença de plantas de sorgo remanescentes e infectadas, plantas daninhas hospedeiras ou restos de cultura infectadas folhas, sementes e ou panícula, caule, etc.(FREDERIKSEN, 1991; LIPPS, 1983). No solo, o patógeno perde sua viabilidade em pouco tempo (11 a 16 dias) (VIZVARY & WARREN, 1981).

NAKAMURA & FERNANDES (1982) relataram pela primeira vez, a ocorrência de raças fisiológicas de *C. graminicola* em sorgo. Atualmente, diversas pesquisas procuram caracterizar e diferenciar raças de *C. graminicola*, visando a obtenção de cultivares resistentes e fornecer suporte nos programas de melhoramento, visto que a resistência genética é um dos meios mais eficientes e baratos para o controle da antracnose (CASELA & FERREIRA, 1987a,b; 1988a,b; CASELA & FREDERIKSEN, 1994; PAIVA, et al., 1990; FERREIRA & CASELA, 1986; ALI, 1987). No Brasil, a totalidade dos trabalhos destinados a obtenção de resistência para o *C. graminicola* em sorgo são para a resistência do tipo vertical ou completa (CASELA & FERREIRA, 1987a,b; FERREIRA & WARREN, 1982; CASELA & FREDERIKSEN, 1993a; CASELA & FERREIRA, 1988a,b). Isso leva a um contínuo programa de seleção devido a grande quantidade de raças fisiológicas existentes e descritas por diversos autores (VANDERPLANK, 1963, 1968; PRABHU & MORAES, 1993), fato este que

pode ser confirmado pelos trabalhos publicados sobre melhoramento a *C. graminicola* no Brasil que vão de 1982 até o presente momento.

2.3.3. Maracujá - *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*

Os sintomas da bactéria manifestam-se de duas formas distintas: a) lesões locais as quais são caracterizadas por distribuição bastante desuniforme no limbo foliar e aparência grosseiramente arredondada, bem delimitadas, raramente de formato angular e com pequeno halo clorótico. Sendo a lesão de aparência oleosa, a mesma é facilmente visualizada em contraste com a luz.; b) Infecções sistêmicas - este tipo de infecção difere das locais por apresentar grandes áreas de tecido infectado, e não se restringir localmente nas células do ponto de infecção nas folhas, mas se alastrando através dos feixes vasculares para outras partes da planta como, pecíolos, ramos e frutos (PEREIRA, 1968; MATTA, 1982; TOLEDO, 1992).

A mancha oleosa do maracujazeiro ou morte precoce do maracujazeiro foi encontrada pela primeira vez, ocorrendo na região de Araraquara Estado de São Paulo, sendo o primeiro relato desta bactéria no continente americano (PEREIRA, 1968; TOLEDO, 1992).

A bactéria apresenta forma de bastonetes curtos, que medem em média de 0,5x1,5 µm, e com extremidades arredondadas. Os bastonetes geralmente ficam isolados aos pares, raramente em cadeias, possuem flagelo polar, no entanto exibindo pequena mobilidade. São bactérias do tipo gram negativas, apresentando cápsula e aeróbias restritas (PEREIRA, 1968). A penetração da bactéria no hospedeiro ocorre via aberturas naturais (estômatos, hidatódios, ostíolos, botão floral, etc..) ou por ferimentos, sendo necessária a presença de água livre na superfície foliar para que a infecção ocorra (AMORIM, 1995a).

As infecções bacterianas do tipo sistêmica, tendem a afetar toda a planta, sendo o controle da doença impossibilitado de ser feito. Dessa maneira, o controle da mancha

oleosa do maracujazeiro pode ser realizada com sucesso somente quando existirem apenas lesões do tipo local (PICCININ et al., 1995; TORRES FILHO & PONTE, 1994).

Esta doença tem sido observada com maior severidade em regiões de temperaturas médias mais elevadas, constituindo-se em fator limitante de produção em algumas áreas (TORRES FILHO & PONTE, 1994). Essa característica também foi verificada em experimentos de inoculação da bactéria sob diferentes condições de temperaturas (PICCININ et al., 1995).

Além dos sintomas da bacteriose que evoluem para a seca de folhas e ramos das plantas, esta doença propicia o surgimento de infecções de *Colletotrichum gloeosporioides*, outra importante doença do maracujazeiro (FRANCISCO NETO, et al., 1994; TORRES FILHO & PONTE, 1994).

Atualmente, o controle da bactéria é feito de modo preventivo, evitando-se a chegada do patógeno nos locais de cultivo, através de medidas como a aquisição de mudas saudáveis. Nas culturas onde a bactéria já se encontra instalada, a única alternativa é o uso de fungicidas cúpricos ou do grupo dos ditiocarbamatos (Zineb, Maneb, Thiram, etc), quando ainda existirem apenas lesões locais (TORRES FILHO & PONTE, 1994). ROMEIRO & MUCHOVEJ (1990) citam a possibilidade do uso de antibióticos para o controle da bactéria. Porém, por não apresentarem efeito curativo, o uso dos mesmos em relação aos fungicidas cúpricos mostra-se inviável, pois além de serem mais baratos, os cúpricos não propiciam o aparecimento de isolados resistentes.

2.3.4. Eucalipto - *Botrytis cinerea*

O *Botrytis cinerea* é um patógeno necrotrófico, que afeta um grande número de hospedeiros além do eucalipto. Este fungo representa problema à cultura apenas na fase de viveiro. Os sintomas típicos da doença são facilmente observado pela morte dos ponteiros apicais ou de brotações laterais, sendo que no caso das brotações laterais o patógeno pode progredir até atingir o caule causando sintomas de anelamento com

consequente quebra e morte das plantas afetadas (KRÜGNER, 1980; FERREIRA, 1989; PICCININ & PASCHOLATI, 1995)

Este patógeno tem uma grande afinidade por tecidos jovens senescentes necrosados e ou mortos, o que pode ser facilmente encontrado em viveiro de mudas na fase de fechamento de canteiro. Nesta fase, o patógeno encontra condições microclimáticas ideais no interior dos canteiros devido a alta umidade relativa, bem como a presença de grande quantidade de folhas senescentes e mortas (FERREIRA, 1989; KRÜGNER, 1980; HAUSBECK, 1991; BROOK, 1991).

A doença tem grande importância principalmente em viveiros de mudas localizados em regiões de temperatura mais fria, pois o patógeno necessita de condições de umidade relativa acima de 90% e temperaturas entre 15 e 21°C. O patógeno torna-se mais agressivo em condições de temperaturas mais baixas (KRÜGNER, 1980; FERREIRA, 1989; PICCININ & PASCHOLATI, 1995; HORST, 1983; BULGER et al., 1987; SOSA ALVAREZ et al., 1995; SALINAS et al., 1989; SHARROCK & HALLET, 1991)

A dispersão do patógeno é basicamente feita pelo vento e dentro da cultura, pelo impacto das gotas de água sobre a massa de conídios, espalhando-os para as plantas adjacentes (CHASTAGNER et al., 1978; HAUSBECK, 1991; HARRISON & LOWE, 1987).

A infecção do patógeno em tecidos novos ou senescentes é facilitada pela ação de enzimas pectinolíticas e proteolíticas produzidas pelo mesmo (GOLAN et al., 1988; EDLICH et al., 1989).

O fungo pode permanecer viável por longos períodos, mesmo em condições adversas, através de estrutura de resistência do tipo clamidósporo, a qual pode servir como inóculo secundário. No entanto, para a cultura do eucalipto a ocorrência de clamidósporos é um tanto que rara, devido a facilidade de observação do surgimento da doença nas condições de viveiro e facilidades de manejo e limpeza dos mesmos (URBASCH, 1986; FERREIRA, 1989).

O controle do *B. cinerea* em viveiro de mudas de eucalipto é feito basicamente pela associação de medidas de controle, ou seja manejo cultural, que inclui: "rouguing"

de plantas doentes e tecidos necrosados e eliminação de matéria orgânica nos canteiros de mudas (GUBLER, 1987; FERREIRA, 1989); redução da irrigação e consequentemente da umidade (HAMMER & MAROIS, 1989); observação de balanço nutricional adequado, evitando-se principalmente excessos de nitrogênio e incrementos na adubação com cálcio (ELAD & KIRSHNER, 1992). ELAD et al. (1990) também sugerem o uso de polímeros, utilizados como antitranspirantes, no controle de *B. cinerea*. Porém, para a cultura de eucalipto esta prática não tem sido adotada no controle do patógeno em condições brasileiras. O controle químico tem sido o método usualmente empregado para o controle de doenças em viveiro (FERREIRA, 1989). No entanto, o controle químico de *B. cinerea* tem demonstrado apresentar eficiência por curtos períodos, devido a variabilidade do patógeno e a rápida expressão de resistência a quase todos os fungicidas utilizados no seu controle (CHIBA & NORTHOVER, 1988; JOHNSON et al., 1994; MOORMAN et al., 1994; WANG et al., 1986; FERREIRA, 1989; GULLINO et al., 1989; JORDAN & RICHMOND, 1974; BROOK, 1991). MAROIS et al. (1987) obtiveram resultados que indicam a ineficiência do uso de adjuvantes ou surfactantes na calda de fungicida para o controle do *B. cinerea*. Esse fato complica o controle químico do patógeno, o qual é realizado em condições de alta umidade relativa, em geral com a ocorrência de chuvas (PICCININ, 1995 & PASCHOLATI).

2.4. Perspectivas futuras

Embora a área de Fisiologia do Parasitismo seja vista como pesquisa básica, as contribuições no esclarecimento das bases bioquímicas e fisiológicas do processo das interações patógeno hospedeiro, tem fornecido subsídios para que sejam encontrados e desenvolvidos novos métodos de controle de doenças, como por exemplo, o possível uso de antipenetrantes, e a indução de proteção em plantas. Além disso contribue para a pesquisa em resistência a doenças, principalmente na área de biotecnologia (PASCHOLATI, 1993).

Diversos autores já demonstraram a indução de proteção em plantas em condições controladas (SEQUEIRA, 1983), e raramente em condições de campo (ROVERATTI, 1989). A indução de proteção sistêmica em plantas é altamente desejável, devido principalmente ao fato de que essa medida de controle de doença não ser poluente ou tóxica ao homem, plantas ou animais. Deve-se levar em consideração que nos últimos anos, os defensivos agrícolas vem sendo banidos gradualmente de uso, em função de produtos menos tóxicos ao homem, o que implica no desenvolvimento de novas tecnologias alternativas para o controle de doenças de plantas. Portanto a indução de resistência em plantas mostra-se como um dos métodos de controle de doenças com grande potencial de uso, devido a possibilidade de se obter proteção a doenças de modo sistêmico e duradouro, além de possibilitar a combinação com outros métodos no controle de doenças para um possível manejo integrado (SEQUEIRA, 1983).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido nos laboratórios, casas de vegetação e Campo Experimental do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"- ESALQ/USP, Piracicaba/SP.

3.1. Plantas utilizadas nos ensaios

Sorgo (*Sorghum bicolor*) - foram utilizados os cultivares Tx-398B (resistente a *E. turcicum* e suscetível a *C. Graminicola*) e 910753 (sorgo branco; resistente a *C. graminicola* e suscetível a *E. turcicum*). Ambas as variedades de sorgo empregadas são de sorgo grânifero e as sementes foram fornecidas pelo CNMS/EMBRAPA de Sete Lagoas-MG.

Maracujá (*Passiflorae edulis*) - a variedade empregada foi a de maracujá amarelo (azedo), sendo as sementes fornecidas pela Seção de Fitopatologia do Instituto Biológico de Campinas.

Eucalipto (*Eucalyptus* sp.) - o material empregado era constituído de híbridos de *Eucalyptus grandis*. As plantas utilizadas foram fornecidas na forma de mudas, acondicionadas em tubetes, pelo viveiro de mudas da Cia. Suzano de Papel e Celulose, Itapetininga/SP.

3.2. Patógenos utilizados e isolamento

3.2.1. - *Colletotrichum graminicola*

O fungo foi isolado de folhas de sorgo cv. Tx398B. Para o isolamento, procedeu-se o corte das folhas nas proximidades do tecido lesionado, em-se pedaços de aproximadamente 8 mm². Estes pequenos pedaços de folha foram colocados em solução de hipoclorito de sódio comercial (1%), na diluição de 3 partes de água para 1 parte de hipoclorito. Após 5 minutos, as folhas foram lavadas 3 vezes em água destilada para a remoção do excesso de hipoclorito e dispostas em placas de Petri (5 segmentos de folha por placa), contendo 3 folhas de papel de filtro umedecidos com água destilada. As placas, assim preparadas, foram incubadas sob condição de luz constante a 25°C durante 10 dias. Após esse período, procedeu-se a tomada de pequenas porções da matriz conidial, e a transferência das mesmas para meio de aveia (LOPEZ, 1991).

3.2.2. *Exserohilum turcicum*

E. turcicum foi isolado de folhas de sorgo branco cv. 9107053 contendo lesões típicas do patógeno. Para tanto, procedeu-se ao corte dos tecidos lesionados, desinfecção e preparo das placas de Petri do mesmo modo descrito para *C. graminicola*. Para a incubação das placas do *E. turcicum*, as mesmas foram mantidas em condições de escuro à 25°C. Após 15 dias, através de observação em microscópio estereoscópico, já era possível observar a presença de conídios, os quais foram colocados em meio LCH (FROSI, 1978).

3.2.3. *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*

A bactéria foi isolada a partir de folhas de maracujazeiro infectadas sistemicamente. As folhas contendo a bactéria sofreram uma lavagem prévia em água corrente, sendo em seguida secas em papel de filtro. Para o processo de isolamento, utilizou-se uma lâmina de vidro, a qual foi limpa com álcool 70% e em seguida acetona. Após esta etapa, procedeu-se o corte das folhas nos pontos das infecções sistêmicas, sendo pequenos pedaços do tecido foliar infectados com a bactéria colocados sobre a lâmina. A seguir, procedeu-se a colocação de uma gota de água destilada sobre os pedaços de tecido para a observação de corrida bacteriana, sob microscópio óptico. Terminada a observação, efetuou-se a maceração das folhas sobre a lâmina, com um escalpelo. Depois da maceração dos tecidos, inclinou-se ligeiramente a lâmina de vidro, a fim de separar a gota dos tecidos macerados da folha. A seguir, utilizando-se de uma alça de platina, foram tomadas amostras do líquido proveniente da lâmina, as quais foram plaqueadas em estrias sobre meio nutriente agar (NA). Decorridos 2 dias, procedeu-se a coleta das colônias individuais de *Xanthomonas*, as quais apresentavam como características coloração amarelada, formato arredondado, além do odor de amônia. Uma vez obtidas as colônias bacterianas, procedeu-se a multiplicação das mesmas em meio NA, mantido no escuro, a 25°C, sendo as culturas utilizadas após 3 dias de crescimento.

3.2.4. *Botrytis cinerea*

O patógeno foi isolado diretamente de mudas de *E. grandis* severamente atacadas pelo patógeno, exibindo conídios e conidióforos sobre os tecidos necrosados. Utilizando-se de um microscópio estereoscópico e uma agulha foram tomadas amostras dos conídios, as quais foram colocadas sobre meio BDA. As placas foram incubadas à 19°C e luz negra constante para a esporulação do patógeno. Após 15 dias, já era

possível observar a presença de conídios e diferenciar o patógeno, procedendo-se a repicagem do mesmo para novo meio de BDA.

3.3. Métodos de preservação dos microorganismos utilizados nos ensaios

Exserohilum turcicum* e *Colletotrichum graminicola

E. turcicum foi preservado através da manutenção das colônias em tubos de ensaio contendo meio LCH inclinado. Após o crescimento do patógeno, foi adicionado óleo mineral Nujol até cobrir totalmente o meio de cultura, sendo então os tubos guardados em armário escuro a temperatura ambiente. E em folhas de sorgo cv. 9107053 contendo lesões, sendo as mesmas guardadas em papel e câmara fria. A preservação do *C. graminicola* foi feita em folhas de sorgo, como descrito para *E. turcicum* e pelo método de Castellani, o qual envolve o uso de tubos contendo água destilada esterilizada, mais pedaços de meio contendo crescimento micelial e conídios do patógeno (PICCININ & PASCHOLATI, 1993).

Xanthomonas campestris* pv. *passiflora

As suspensões bacterianas foram preservadas em água no interior de tubos de ensaio protegidos da luz. As colônias foram mantidas durante 3 meses em condições de temperatura ambiente. Utilizou-se também da técnica de preservação em folhas, como descrito para *Colletotrichum* e *Exserohilum*, sendo as mesmas acondicionadas em papel e preservadas até o momento de sua utilização em câmara fria.

Betrytis cinerea

O patógeno foi preservado em óleo mineral, como descrito para o *E. turcicum* do sorgo.

3.4. Patologia de sementes de sorgo

A cultura do sorgo apresenta sérios problemas de disseminação de patógenos, e em especial *C. graminicola* e *E. turcicum*. Visto que as sementes disponíveis não terem sido tratadas com nenhum fungicida, além do desconhecimento do estado fitossanitário das mesmas, decidimos por realizar a patologia de sementes e tratamento das mesmas se necessário, antes da instalação dos ensaios de campo.

Para os ensaios de patologia de sementes foram empregadas placas de Petri de plásticos, nas quais foram colocadas 3 folhas de papel de filtro por placa. Em seguida, os mesmos foram umedecidos com água destilada, sendo o excesso de água escorrido.

Foram utilizados os cultivares de sorgo Tx398B e 9107053. Para cada cultivar foi realizado o tratamento das sementes com hipoclorito de sódio e água (na proporção de 1:2), durante 3 minutos, e em seguida procedido o plaqueamento. O tratamento controle foi representado por sementes sem desinfecção e o plaqueamento direto das mesmas. Para cada tratamento foram utilizadas 100 sementes, sendo que em cada placa foram dispostas 25 sementes. As sementes foram dispostas na circunferência da placa do seguinte modo: 15 sementes na periferia, 1 semente no centro e 9 na posição intermediária entre a periferia e a parte central.

Após as avaliações dos patógenos presentes nas sementes, procedeu-se o tratamento das mesmas com o fungicida ROVRIN-PS (Rovral + Thiram), iprodione + óxido de zinco (VALARINI et. al., 1988), na dosagem de 250g/100kg de sementes. Para o tratamento das sementes, as mesmas foram colocadas em sacos plásticos, sendo a seguir adicionado o fungicida. Efetuou-se a mistura dos mesmos até a adesão completa

as sementes. Finalmente, as sementes tratadas foram armazenadas em sacos de papel e câmara fria a 10°C, até o momento de serem utilizadas no plantio.

3.5. Produção massal de inóculo para inoculação em campo

3.5.1. *Colletotrichum graminicola*

A produção de inóculo de sorgo foi realizada previamente em dois meios básicos representados por BPDA (BDA + 20g de peptona/litro de água) e meio de aveia, a fim de se verificar o meio em que o patógeno apresentava maior esporulação. Os resultados evidenciaram que o *C. graminicola* de sorgo ao contrário do *C. graminicola* de milho não apresenta boa esporulação em BPDA, indicando assim o meio de aveia como o mais adequado para os propósitos experimentais.

As culturas de *C. graminicola* foram cultivadas em meio de aveia e luz (U.V., comprimento de onda longo) a 25°C durante 15 dias. Após esse período, as mesmas foram repicadas para 30 novas placas contendo meio de aveia e mantidas nas mesmas utilizadas após 21 dias de crescimento nas inoculações.

3.5.2. *Exserohilum turcicum*

Devido à baixa esporulação do patógeno, mesmo em meios específicos como o LCH, optou-se por sementes de sorgo. As sementes foram previamente lavadas em água corrente e adicionadas em erlenmeyers com capacidade para 500 ml. Em cada frasco foi adicionado um volume aproximado de 50 ml de sementes e 40 ml de água. Em seguida, os frascos foram fechados com algodão protegido com jornal e autoclavados durante 30 minutos. Após 24h, nova autoclavagem dos frascos foi efetuada. Decorridos 3 dias após a última autoclavagem, procedeu-se a repicagem de 6 discos (0,5 cm de diâmetro), contendo o micélio e conídios de *E. turcicum* para os frascos, os quais foram mantidos

mantidos em estufa a 25°C e condições de escuro. Três dias mais tarde, iniciou-se a agitação diária dos frascos para se homogeneizar o desenvolvimento do patógeno e evitar a agregação das sementes. Após 40 dias, as sementes estavam completamente tomadas por crescimento micelial e conídios, apresentando uma coloração negra, sendo nesse ponto as sementes empregadas na inoculação das plantas (FROSI & BALMER, 1980).

3.6. Instalação do campo experimental

Para o ensaio de campo utilizou-se os cultivares de sorgo Tx398B e 9107053, plantados com espaçamento de 1m entre linhas e 15 sementes por metro linear, com a finalidade de obter-se uma germinação de 10 plantas por metro. Cada linha de plantio apresentava 30m de comprimento, sendo 20m correspondente as linhas de tratamentos e 5m de bordadura de cada um dos lados. Nas laterais, os campos apresentavam 2m de bordadura, constituída das próprias plantas de sorgo.

Os cultivares foram plantados em campos vizinhos, sendo separados por uma bordadura central de 2m, constituída por plantas de ambos os cultivares (1m de bordadura cada cultivar). Para cada cultivar foram feitas 7 linhas de plantio, sendo que cada linha apresentava um comprimento total de 20m descontadas as bordaduras. Cada linha de 20m foi subdividida em 4 linhas de 5m, as quais constituíam as parcelas, num total de 28 parcelas. Para os ensaios de campo, foram efetuados 7 tratamentos por cultivar de sorgo, que é ilustrado na Figura 1:

Tratamentos:

- (A) Testemunha (água)
- (B) Patógeno
- (C) Patógeno + Levedura 24h antes
- (D) Patógeno + Levedura 24h depois
- (E) Patógeno + Levedura 24h antes + Levedura semanalmente
- (F) Patógeno + fungicida 24h antes + fungicida semanalmente
- (G) Fungicida + Patógeno

Figura 1. Croqui de campo - cultivares de sorgo Tx398B e 9107053.

3.6. 1. Marcação de parcelas e plantas

As parcelas foram identificadas com estacas e letras, como indicado no item anterior, sendo que para a padronização das plantas e folhas a serem avaliadas, adotou-se o critério de marcação das folhas com tiras de plástico colorido e presas com grampos de papel. As folhas marcadas correspondiam a 5ª folha totalmente aberta, contando-se da base para o cartucho da planta, sendo as marcações efetuadas 30 dias após o plantio.

3.6.2. Aplicação de levedura, fungicida e inoculação das plantas

3.6.2.1 Aplicação das suspensões de *Saccharomyces cerevisiae*

No tratamento com levedura utilizou-se do Fermento Biológico Fleischmann (Fleischmann Royal, Jundiaí, SP) na dosagem de 25 mg/ml, ou seja, um tablete de 15g de fermento dissolvido em 600 ml de água destilada (LOPEZ, 1991; SILVA, 1989). Para o tratamento C (patógeno+levedura 24h antes) (LOPEZ, 1991; SILVA, 1989; STANGARLIN & PASCHOLATI, 1994) foi realizada uma aplicação da suspensão de levedura na dosagem indicada 24 horas antes da inoculação do patógeno, enquanto no tratamento E (levedura semanalmente+patógeno) (LOPEZ, 1991), as aplicações prosseguiram semanalmente até a colheita do experimento. No tratamento D, a aplicação de levedura foi realizada 24 horas após a inoculação das plantas.

Os tabletes de fermento foram mantidos no congelador, visto que a viabilidade dos mesmos nestas condições permanece inalterada por um longo período. Porém, adotou-se 1 mês após a compra da levedura (levando-se em conta o prazo de validade das mesmas), como prazo limite de preservação das leveduras na condição de congelamento. Para facilitar o preparo das suspensões de leveduras, os tabletes eram previamente dissolvidos em água destilada e depois adicionados em volume maior de água para a pulverização no campo. As suspensões de levedura foram somente preparadas no momento da aplicação das mesmas sobre as plantas.

As pulverizações das suspensões de levedura foram sempre realizadas de modo a cobrir toda a superfície foliar até o ponto de escoamento, sendo aplicadas sobre todas as plantas dentro dos tratamentos indicados. O horário de aplicação da suspensão de levedura foi mantido entre 17:30h e 18:00h, momento em que o calor diminuía e o sol praticamente já havia se escondido. As pulverizações foram realizadas mediante o uso de um pulverizador com capacidade para 5 litros da marca Brudden e bicos do tipo leque 8003 por permitir um melhor molhamento foliar. O pulverizador utilizado para as suspensões de levedura foi adquirido e utilizado durante todos os ensaios apenas para esta finalidade.

3.6.2.2. Pulverizações com o fungicida

O fungicida escolhido para o ensaio foi o Tilt (BOWEN & PEDERSEN, 1988), com base em teste rápido de incorporação em meio de cultura e aplicação do fungicida *in vivo* sobre ambos os cultivares de sorgo, com os respectivos patógenos. A dosagem de Tilt empregada foi de 2,5 ml/litro de água, onde também utilizou-se um pulverizador Brudden com capacidade para 5 litros e bico leque 8003, destinado exclusivamente para o fungicida.

A aplicação do fungicida seguiu o mesmo critério de horário de aplicação e preparo das suspensões de levedura. A primeira aplicação do fungicida nos tratamentos G (fungicida+patógeno) e F (fungicida semanalmente+patógeno) foi realizada 24h antes da inoculação do patógeno, sendo que para o tratamento F nova aplicação de fungicida foi realizada a cada 7 dias (de maneira idêntica ao tratamento E levedura semanalmente+patógeno) (LOPEZ, 1991).

3.6.2.3. Inoculação com *Colletotrichum graminicola*

As inoculações do fungo foram realizadas 36 dias (estágio fenológico - 15; Figura-2) após o plantio do sorgo. Para a inoculação, utilizou-se das placas de meio de aveia contendo o patógeno, as quais foram incubadas em luz negra constante e temperatura de 25°C. Para tanto, adicionou-se água destilada esterilizada (contendo 1 gota de Tween 20/200 ml de água), sobre as superfícies das placas contendo o patógeno, e com o auxílio de uma borracha macia, procedeu-se a raspagem do meio para a liberação dos conídios. Após preparadas as suspensões, procedeu-se a contagem dos conídios em câmara de Neubauer (hematocitometro) ajustando-se a suspensão para $4,5 \times 10^5$ conídios/ml (NAKAMURA et al., 1985). Foram preparados 6 litros de suspensão de esporos, os quais foram pulverizados sobre as plantas de sorgo do cultivar Tx398B, com o auxílio de um pulverizador Brudden com capacidade para 5 litros e bico de tipo leque 8001, distribuindo aproximadamente 10 ml de suspensão de esporos/planta. As pulverizações foram feitas de modo a dar completo molhamento de todas as plantas tratadas, sendo que todo o campo contendo o cultivar Tx398B recebeu o patógeno, exceto o tratamento A (testemunha água). As inoculações foram realizadas no final do dia e 24h após a inoculação procedeu-se a irrigação diária de 15 min, 3 vezes ao dia, durante 3 dias.

3.6.2.4. Inoculação com *Exserohilum turcicum*

A inoculação do *E. turcicum* foi efetuada nas plantas do cultivar 9107053, sendo utilizadas as sementes de sorgo contendo o crescimento micelial e esporos do patógeno. Para cada uma das plantas do cultivar, exceto para o tratamento A (testemunha água), foram colocadas 3 sementes de sorgo, contendo o patógeno, no cartucho das mesmas. A inoculação foi realizada 37 dias após o plantio (estágio fenológico - 15; Figura-2), sendo a seguir efetuada uma irrigação rápida de 15 min. Durante os 3 dias subsequentes, foram efetuadas novas irrigações de 15 min, 3 a 4 vezes ao dia.

- 00 - Plantio
- 01 - Início da embebição
- 05 - Emergência da radícula a partir da cariopse
- 07 - Emergência do coleóptilo a partir da cariopse
- 09 - Folha no ápice do coleóptilo
- 10 - Emergência
- 11 - Primeira folha visível
- 13 - Terceira folha aberta e visível
- 15 - Quinta folha aberta e visível
- 20 - Início do perfilhamento
- 21 - Haste principal e primeiro perfilho
- 22 - Haste principal e vários perfilhos
- 30 - Elongação do caule (último estágio vegetativo)
- 39 - Folha bandeira visível, enrolada à panícula
- 40 - Entumescimento da folha que envolve a panícula e abertura da folha bandeira
- 50 - Início do aparecimento da panícula, emergência de inflorescência
- 51 - Metade da panícula visível
- 52 - Toda a panícula visível
- 60 - Antese
- 70 - Estágio de grão leitoso (não mostrado)
- 80 - Estágio de grão pastoso (não mostrado)

(extraído de FREDERIKSEN, 1991)

Figura 2. Estágios fenológicos do sorgo

3.6. 3. Avaliação dos ensaios

3.6.3.1. Cultivar Tx398B - *Colletotrichum graminicola*

As avaliações foram iniciadas 5 dias após as inoculações (NICHOLSON & WARREN, 1976), sendo utilizada uma escala diagramática construída para tal finalidade, conforme descrito por (CHESTER, 1950; JAMES, 1971; AMORIM et al, 1993; AMORIM, 1995b) (vide Figura 3). A escala visa avaliar apenas parte das folhas, o que explica, o formato retangular das ilustrações.

Devido ao crescimento da folha ser da base para o ápice, adotou-se como local de medição uma distância de 10 cm a partir do ápice para base, sendo avaliado apenas 25 cm do comprimento da folha. Para facilitar o processo de avaliação, construiu-se um quadro de papelão (vide Figura 4), o qual era levado ao campo juntamente com a escala diagramática. As avaliações foram efetuadas a cada 7 dias, iniciando-se pelo 42º dia após o plantio ou 5º dia após a inoculação, sendo realizadas 7 avaliações de severidade.

A colheita foi realizada 110 dias após o plantio do sorgo, sendo que as plantas marcadas foram colhidas separadamente das demais parcelas. Todas as plantas restantes em cada um dos tratamentos e parcelas foram colhidas e marcadas. Após a colheita, as panículas foram secas durante 7 dias em estufa com circulação de ar forçado a 45°C. Finda a secagem, as sementes foram retiradas e cada lote de panículas trilhado em trilhadeiras individuais ou de parcela. Após a trilhagem, procedeu-se a pesagem de todo o lote de sementes de plantas individuais e em parcelas.

Figura 3. Escala diagramática para a determinação da severidade da doença causada por *Colletotricum graminicola* em folhas de sorgo.

Figura 4. Molde para avaliação da severidade de *Colletotrichum graminicola* em folhas de sorgo.

3.6.3.2. Cultivar 9107053 - *Exserohilum turcicum*

As avaliações foram iniciadas 17 dias após o plantio ou 10 dias após as inoculações, sendo realizadas um total de 7 avaliações. Para as avaliações, adotou-se o critério de severidade, sendo o mesmo obtido com base na área foliar sadia e área lesionada das folhas. Para a determinação da área foliar total utilizou-se a fórmula empregada para folhas de milho. Para a determinação da área das lesões, a mesma fórmula adotada para o *E. turcicum* em milho foi usada, visto a área das lesões serem semelhantes a uma elipse. Assim sendo, utilizou-se as seguintes fórmulas:

a) Determinação da área foliar (FRANCIS et al., 1969)

Área foliar = $L \times C \times 0,75$, onde

L = comprimento (cm)

C = largura (cm)

b) Determinação da área das lesões (KOCHMAN & BROWN, 1975)

Σ área lesões = $a \times b \times \frac{\pi}{4}$, onde

a = comprimento da lesão (cm)

b = largura da lesão (cm)

Na determinação da severidade da doença empregou-se a fórmula:

$$\text{Severidade} = \frac{\sum \text{Área das lesões}}{\text{Área foliar}} \times 100\%$$

A colheita do sorgo branco foi realizada 140 dias após o plantio, sendo os critérios de colheita, identificação, secagem, trilhagem e pesagem os mesmos adotados para o cultivar Tx-398B.

3.7. Produção e inoculação de plantas de maracujá azedo (amarcho)

Para a produção de mudas foram empregadas sementes de maracujá azedo. Para o plantio das sementes, utilizou-se de 3 vasos de 2 kg contendo solo autoclavado, sendo que em cada vaso foram colocadas 20 sementes de maracujá e os vasos mantidos em casa de vegetação. Após 20 a 25 dias, já era possível observar o início da germinação das sementes. Aproximadamente 40 dias após o plantio, as plantas apresentavam dois pares de folhas e o início da emissão da terceira folha, sendo procedido o transplante de 1 planta para cada vaso de 2 kg, contendo solo esterilizado. Seguindo o transplante, 60 à 70 dias mais tarde, as plantas iniciavam a formação das primeiras folhas trilobadas. Neste momento, era realizada uma poda a fim de se manter aproximadamente 10 folhas por planta, sendo removidos todos os brotos e folhas jovens existentes. As podas eram realizadas 48 horas antes das inoculações.

3.7.1. Preparo das suspensões de levedura e aplicação nas plantas

As suspensões de levedura foram preparadas nas concentrações de 25 mg/ml, sendo aplicadas do mesmo modo descrito para o sorgo. Porém, as aspersões foram realizadas em ambos os lados das folhas através de um pulverizador de 0,5 litros BRUDDEN.

Os tratamentos, com 4 plantas cada, sendo cada folha uma repetição, compreenderam:

- a) Suspensão de levedura aplicada 24h antes do patógeno;
- b) Suspensão de levedura aplicada 24h depois do patógeno;
- c) Patógeno (sózinho);
- d) Controle (sem patógeno).

3.7.2. Inoculação da *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*

As colônias da bactéria em meio N.A. foram suspensas em água destilada e calibradas através da escala de Mc Farland para 8×10^9 células/ml. A partir desta suspensão inicial foi preparada, através de diluição, uma suspensão de 10^7 células bacterianas/ml (PICCININ et al., 1995). As inoculações foram efetuadas mediante aspersão da suspensão na superfície abaxial das folhas, a uma distância de 20cm. Logo em seguida às inoculações, as plantas foram colocadas em câmara úmida à 30°C, durante 3 dias sob luz natural, a fim de se evitar o secamento das gotículas de inóculo.

3.7.3. Avaliações dos sintomas nas plantas

As avaliações foram efetuadas 19 dias após a inoculação da bactérias, com base no número de lesões locais e infecções sistêmicas ocorridas por folha.

3.8. Delineamento experimental e inoculação de mudas de eucalipto

As mudas utilizadas nos ensaios, com 35 dias de idade, foram mantidas durante 20 dias em condições de luz artificial e 20°C para adaptação antes das inoculações. Para as inoculações, as mudas foram divididas em dois grupos: a) um grupo com folhas

normais e sem danos; b) um grupo com folhas exibindo pequenas necroses (iguais ou inferiores a 2 mm), devido a queima por adubação, seca, fitotoxidez à defensivos, etc. Dentro destes grupos, as plantas foram subdivididas e tratadas como ilustrado abaixo:

1. Patógeno (sózinho);
2. Controle (não inoculado);
3. Levedura aplicada 24h antes da inoculação do patógeno;
4. Levedura aplicada 24h depois da inoculação do patógeno.

As temperaturas utilizadas no experimento foram 15°C e 19°C, sendo que para cada temperatura existiam 8 tratamentos (4 tratamentos de plantas sem necrose e 4 com necrose). Cada tratamento foi constituído de 10 repetições e cada repetição consistiu de uma muda por tubete.

3.8.1. Inoculação de *Botrytis cinerea*

Para as inoculações do patógeno foram preparadas suspensões de conídios pela adição de água destilada estéril (contendo 1 gota de Tween 20 para cada 200 ml de água) no interior das placas contendo o fungo. As suspensões de esporos foram ajustadas com auxílio de hematocítômetro para a concentração de 5×10^5 conídios/ml.

As plantas foram inoculadas mediante o uso de um pulverizador do tipo BRUDDEN com capacidade para 0,5 litro, sendo as pulverizações efetuadas de modo a dar completo molhamento das mudas. Após as inoculações, as mudas foram acondicionadas em frascos de vidro com água no fundo e cobertas com plástico transparente, sendo diariamente nebulizadas com água. Os frascos foram mantidos em câmara de crescimento, sob fotoperíodo de 14h luz e 10h escuro, sendo as temperaturas ajustadas para 15°C ou 19°C, conforme os tratamentos empregados. Durante todo o ensaio foi mantida a umidade elevada, a fim de se simular o que ocorre em condições de viveiro em situações muito favoráveis ao patógeno.

3.8.2. Avaliações dos sintomas nas mudas

As avaliações foram realizadas 7 dias após as inoculações, onde foram contabilizados os totais de mudas doentes e saudáveis, bem como realizada uma escala de notas quanto a severidade da doença, onde se segue:

1. Planta sadia e sem nenhum sinal do patógeno;
2. Plantas com 1 ou 2 folhas infectadas ou brotação lateral morta por ação do patógeno, restante da muda saudável;
3. Mudas com o ponteiro infectado, quebra de mudas na região do colo pela ação do patógeno ou morte de planta (com a presença de esporulação do patógeno).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Sorgo

4.1.1. *Colletotrichum graminicola*

As avaliações do cv. de sorgo Tx-398B foram realizadas quantificando-se a severidade da doença a partir do 42º dia após o plantio e sucessivamente a cada 7 dias, sendo amostradas 20 plantas por tratamento. Os dados foram distribuídos em uma curva de progresso de doença, onde devido a grande variabilidade dos mesmos entre as repetições não foi possível obter uma regressão adequada, quando da utilização de todos os dados conjuntamente (sem a tomada das médias). Deste modo, optou-se pelo uso da medida epidemiológica da área sob a curva de progresso da doença (AUDPC - Figura 5), obtida utilizando-se de todos os dados de severidade em relação ao tempo, e associada a produção das plantas avaliadas. No entanto, novamente não foi possível obter qualquer correlação com a severidade em folhas e redução na produção. As possíveis causas desses problemas podem estar relacionadas com o cultivar de sorgo utilizado, visto o mesmo tratar-se de um híbrido experimental, onde a variabilidade entre plantas é muito grande. Outro possível problema reside no fato desta doença afetar também a haste da panícula e a própria panícula ocasionando, em condições de severidade elevada, o chochamento de grãos, refletindo diretamente no fator produção. Outro fato também bastante importante é o comportamento natural de uma epidemia em condições de campo, onde a mesma não ocorre de maneira uniforme em todas as plantas, o que também implica em problemas de diferença de severidade em diferentes plantas.

Figura 5. Área sob a curva do progresso da doença (AUDPC), sorgo cv. Tx 398B inoculado com *Colletotrichum graminicola*.

Devido a esses fatores, optou-se pelo uso de uma média das severidades em relação ao tempo (Figura 6). Observando os gráficos constantes na figura é possível notar que para os tratamentos A (controle - água), B (controle - patógeno), C (levedura aplicada 24 horas antes da inoculação) e D (levedura aplicada 24 horas após a inoculação), não existe nenhuma diferença no progresso da doença e na severidade final da mesma nas folhas avaliadas. Porém, é bastante visível a diferença ocorrida no atraso do início da epidemia nos tratamentos E (levedura aplicada semanalmente), F (fungicida aplicado semanalmente) e G (fungicida aplicado uma única vez - vide Figuras 7 e 8). Este atraso no início da epidemia pode ser importante no controle do patógeno, pois o sorgo por tratar-se de uma cultura de ciclo curto (aproximadamente 4 meses), poderia escapar do período de maior severidade da doença.

O efeito do atraso no início da epidemia na produtividade das plantas de sorgo é ilustrado na Figura 9. Pode-se observar que nos tratamentos onde a epidemia sofreu um atraso a produtividade foi superior a dos tratamentos controles (água e patógeno), assim como a dos demais tratamentos. A utilização de *S. cerevisiae* semanalmente apresentou efeito no controle da doença equivalente ao tratamento com fungicida, tanto no atraso da epidemia (Figura 6) quanto na produtividade (Figura 9).

Um fato interessante ocorreu no tratamento A (controle - água), onde o mesmo apresentou uma produção inferior ao tratamento B (controle - patógeno) (Figura 9). Essa diferença pode ser explicada devido a presença de diferentes raças do *C. graminicola*, capazes de surgir em uma única lesão (CASELA & FREDERIKSEN, 1994). Deste modo, teríamos um efeito de indução de proteção no caso do tratamento B (controle - patógeno), pois estaríamos aplicando durante a inoculação isolados virulentos e avirulentos ao nosso cultivar. Esse fato pode inclusive ter ocasionado o mascaramento dos resultados nos tratamentos C e D (levedura 24h antes e depois do patógeno, respectivamente).

- A - controle água
 B - controle patógeno
 C - levedura 24h antes da inoculação
 D - levedura 24h depois da inoculação
 E - levedura semanalmente
 F - fungicida semanalmente
 G - fungicida (uma única aplicação)

Figura 6. Efeito de diferentes tratamentos no controle da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* em folhas de sorgo, sob condições de campo.

Figura 7. Controle da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* na expressão dos sintomas em folhas das plantas de sorgo tratadas com *Saccharomyces cerevisiae* (aspersão semanal; E) ou Tilt (aspersão semanal; F) antes da inoculação. Plantas controle inoculadas com o fungo, sem nenhum tratamento posterior (controle - patógeno; B). As folhas ilustradas representam o máximo e mínimo de severidade observada em resposta aos diferentes tratamentos.

Figura 8. Controle da antracnose, causada por *Colletotrichum graminicola*, na produção de panículas por plantas de sorgos tratadas com *Saccharomyces cerevisiae* (aspersão semanal; E) ou Tilt (aspersão semanal; F) antes da inoculação. Plantas controle inoculadas com o fungo, sem nenhum tratamento posterior (controle - patógeno; B).

LEGENDA:

- A - Controle-água
- B - Controle-patógeno
- C - Levedura 24h antes da inoculação
- D - Levedura 24h depois da inoculação
- E - Levedura semanalmente
- F - Fungicida semanalmente
- G - Fungicida (uma única aplicação)

Figura 9. Produção total de grãos por plantas de sorgo cv. Tx 398B em resposta aos diferentes tratamentos para o controle de *Colletotrichum graminicola*.

O controle do patógeno *C. graminicola* através do uso de *S. cerevisiae*, provavelmente envolve duas formas de atuação: controle biológico e indução de proteção. Em primeiro lugar, a levedura poderia funcionar como um agente de controle biológico, o que já foi evidenciado *in vitro* por SILVA & PASCHOLATI (1992). Esses autores demonstraram que mesmo utilizando-se de filtrados de suspensões de *S. cerevisiae*, foi possível controlar o desenvolvimento do *C. graminicola in vitro*. TOKESHI (1991) e WINDELS & LINDOW (1985) citam a possibilidade do uso de leveduras para o controle de *Colletotrichum*, pois o mesmo trata-se de fungo conhecido por açucareiro, ou seja, necessita de fonte de energia externa ao conídio para germinar e efetuar a penetração. Nesse sentido, muitas leveduras selvagens atuam eficientemente na competição por açúcar no filopiano da maioria das espécies cultivadas, controlando diversos patógenos entre estes o *Colletotrichum*.

A indução de proteção provavelmente é o principal mecanismo de controle do *C. graminicola* em sorgo, onde inclusive temos a presença de fitoalexinas envolvidas no processo natural de controle do fungo (SNYDER & NICHOLSON, 1990). A indução de proteção envolve a ativação de diversos mecanismos de defesa das plantas, e estes mecanismos são dependentes de reações bioquímicas as quais requerem energia para a produção de barreiras estruturais ou bioquímicas de proteção. Alguns pesquisadores sugeriram a hipótese de que a ativação destes mecanismos de defesa poderia ser desvantajoso para os vegetais, ou seja, a transformação de energia para a manutenção dos mecanismos seria elevada, ao ponto de acarretar reduções na produção e desenvolvimento da planta (LYON et al., 1995). Porém, como podemos observar pela Figura 9, este fato não ocorreu, ou seja, mesmo nos tratamentos sem a inoculação do patógeno, a produtividade foi inferior aos tratamentos com levedura.

Assim sendo, o uso da levedura *S. cerevisiae* para a proteção de plantas de sorgo ao nível de campo contra *C. graminicola* mostra-se viável. Tecnicamente, pode-se criticar a dose de levedura empregada, o que torna o sistema antieconômico em relação ao uso de fungicidas. Porém, a concentração de levedura empregada poderia ser estudada com respeito a redução da mesma, ou ainda o desenvolvimento de metodologia de produção de levedura à baixo custo, assim como a pesquisa de outros indutores de

maior eficiência e menor custo e que possam ser utilizados em menor dosagem. Deve-se também salientar a possibilidade da avaliação de indutores de proteção que conferissem uma defesa mais duradoura contra fitopatógenos, os quais também permitiriam menor número de aplicações e consequentemente menor custo no controle. O uso de indutores que conferissem um efeito de proteção sistêmica também é desejado, o qual também melhoraria a eficiência de proteção.

4.1.2. *Exserohilum turcicum*

Com relação a avaliação das plantas de sorgo inoculadas com *E. turcicum*, os resultados foram obtidos através de medidas do comprimento e largura das lesões das folhas. Apesar de ser um método bastante preciso, com menor interferência do avaliador que o uso de escalas diagramáticas, o mesmo apresentou algumas dificuldades na avaliação da doença a medida que a mesma evoluía, isto porque as lesões foliares ocasionadas pelo patógeno tendiam a romper-se, permanecendo assim furos nos pontos lesionados a serem avaliados. Outra dificuldade surgida deveu-se a evolução da doença no campo, onde quanto mais o tempo passava, mais difícil tornava-se a avaliação devido ao maior número de lesões e pelos danos (rasgamento de lesões pelo vento) ocorridos nas lesões já existentes. Por exemplo, o tempo médio dispendido na avaliação do campo de *C. graminicola*, com o uso de escala diagramática, foi aproximadamente 6 vezes menor em relação a medida das lesões de *E. turcicum*.

Os mesmos problemas de análise dos dados apresentados para *C. graminicola* ocorreram também para o *E. turcicum*. Portanto, o critério de análise dos dados são os mesmos apresentados anteriormente, onde a Figura 10 apresenta os dados de área sob a curva do progresso da doença (AUDPC) e a Figura 11 os resultados referentes ao progresso da doença em relação ao tempo. Pode-se observar na Figura 11, que os tratamentos C (levedura 24 horas antes da inoculação), D (levedura 24 horas depois da inoculação), E (levedura aplicada semanalmente), F (fungicida aplicado semanalmente) e G (fungicida aplicado um única vez) conferiram atraso significativo no início da

epidemia em relação ao tratamento B (controle - patógeno). Porém, somente os tratamentos E, F e G diferiram do controle A (controle - água). Como já explicado anteriormente, o fato da epidemia ser atrasada significa uma possibilidade de escape da doença no ponto de maior severidade que a mesma atingiria na cultura, ou seja, no período de tempo onde a curva de severidade atingiria um nível de dano elevado, a cultura já não estaria mais disponível no campo, ~~protegendo-a~~ da ação do patógeno.

É importante observar que a aplicação semanal de levedura (E) propiciou um controle semelhante ao dos tratamentos com fungicida (F, G) (Figura 11, 12 e 13). Deve-se salientar que o fungicida Tilt é reconhecidamente um dos fungicidas mais eficientes no controle de *E. turcicum*, inexistindo atualmente no mercado qualquer produto similar com tal eficiência para este patógeno. Na Figura 11 os dados de regressão são representados até a penúltima avaliação. Em função de um aumento significativo da severidade na última avaliação decidiu-se utilizar o coeficiente angular deste ponto (Tabela 1). Pode-se observar pelos dados da severidade final (Tabela 1), que mesmo com este aumento de severidade, não se observa alterações nos resultados constantes da Figura 11.

Figura 10. Área sob a curva do progresso da doença (AUDPC), sorgo cv. 9107053 inoculada com *Exserohilum turcicum*.

Figura 11. Efeito de diferentes tratamentos no controle da helmintosporiose causada por *Exserohilum turcicum* em folhas de sorgo, sob condições de campo.

Tabela 1. Coeficiente angular entre os dois últimos pontos e severidade média final relativa ao controle de *E. turcicum* em folhas de sorgo conforme ilustrado na Figura 9

	Tratamentos						
	A	B	C	D	E	F	G
Coeficiente Angular	0,97	1,22	0,91	2,37	0,42	1,45	0,18
Severidade média final (%)	19,2	32,6	16,9	29,6	17,4	14,5	5,9

Figura 12. Controle da helmintosporiose causada, por *Exserohillum turcicum*, na expressão dos sintomas em folhas das plantas de sorgo tratadas com *Saccharomyces cerevisiae* (aspersão semanal; E) ou Tilt (aspersão semanal; F) antes da inoculação. Plantas controle inoculadas com o fungo, sem nenhum tratamento posterior (controle - patógeno; B). As folhas ilustradas representam o máximo e mínimo de severidade observada em resposta aos diferentes tratamentos.

Figura 13. Controle da helmintosporiose, causada por *Exserohilum turcicum*, na produção de panículas por plantas de sorgo tratadas com *Saccharomyces cerevisiae* (aspersão semanal; E) ou Tilt (aspersão semanal; F) antes da inoculação. Plantas controle inoculadas com o fungo, sem nenhum tratamento posterior (controle - patógeno; B).

Observando-se a Figura 14 pode-se notar que os resultados obtidos para o tratamento C (levedura 24h antes do patógeno) indicam uma produtividade inferior ao tratamento B (controle - patógeno). Na explicação desses resultados pode-se considerar desde problemas relativos a variabilidade genética do material empregado, o qual mostra-se também como um híbrido, até problemas com a morte de algumas plantas marcadas e que não puderam ser quantificadas. Para solucionar esses problemas necessitaríamos de parcelas experimentais extremamente grandes, além do uso de materiais genéticos mais estáveis. Com relação aos tratamentos E, F e G, os mesmos diferiram do tratamento B (controle - patógeno) e apresentaram os melhores resultados de produção. Pode-se observar também que os tratamentos com fungicida (F,G) apresentaram produção superior aos demais tratamentos, provavelmente devido a eficiência do mesmo no controle deste patógeno. Outro ponto também bastante importante é que os fungicidas triazóis, além do efeito de controle que exercem sobre o patógeno, atuam também promovendo maior desenvolvimento e produção das plantas, fato este comum de ocorrência na maioria dos fungicidas sistêmicos (FORCELINI, 1994). Este efeito hormonal pode ter ocorrido em ambos os campos de sorgo aumentando a produtividade das plantas, o qual pode-se considerar como uma característica do produto e que não deve ser descontado em relação ao controle que os mesmos proporcionaram.

LEGENDA:

- A - Controle-água
- B - Controle-patôgeno
- C - Levedura 24h antes da inoculação
- D - Levedura 24h depois da inoculação
- E - Levedura semanalmente
- F - Fungicida semanalmente
- G - Fungicida (uma única aplicação)

Figura 14. Produção total de grãos por plantas de sorgo cv. 9107053 em resposta aos diferentes tratamentos para o controle de *Exserohilum turcicum*.

O efeito da levedura *S. cerevisiae* sobre *E. turcicum* também pode ser devido a dois fatores distintos, como já comentado para *C. graminicola*. Porém, no caso de *E. turcicum*, este patógeno é conhecido como um fungo não açucareiro, ou seja, não dependente de fonte externa de açúcar para a germinação dos conídios e penetração (TOKESHI, 1991). LEVY & COHEN (1981; 1984) comentam o fato de que a presença de açúcar disponível no filoplasma pode inibir a germinação dos conídios e penetração do fungo no hospedeiro. Porém, os autores não citam se o patógeno permanece ou não na forma saprofítica. Nesse caso, as leveduras poderiam atuar competindo por espaço, como citado por ROVERATI (1991) no controle de *Hemileia vastatrix* (ferrugem do cafeeiro), ou ainda através da produção de metabólito tóxico (SILVA, 1989). A hipótese mais viável no controle do *E. turcicum* em sorgo por *S. cerevisiae* seria a indução de proteção.

Com relação a possível redução de produtividade devido a indução de proteção, pode-se observar também pela Figura 14, que a mesma não ocorre. Existe a possibilidade da ativação dos mecanismos de defesa da planta deixando-a em um "estado de alerta", onde a mesma estaria pronta para defender-se quando da chegada do patógeno. Assim sendo, o suposto desvio da energia que seria utilizada nos processos metabólicos normais da planta (crescimento, armazenamento, produção de frutos, etc...) para a ativação dos mecanismos de defesa provavelmente não ocorre. Se tomarmos como base um patossistema selvagem, onde as plantas estão expostas a uma infinidade de agentes patogênicos e não patogênicos, e se supormos que cada vez que fossem depositados esporos de um microrganismo sobre a planta, fosse desencadeado o processo de indução de proteção, as plantas que apresentassem este tipo de resposta estariam menos aptas para a sobrevivência, devido a transformação de energia. Com base no exposto, o comportamento de "estado de alerta" seria o mecanismo evolutivamente mais aceitável de ocorrer em um ambiente natural, e corresponderia também aos resultados de produtividade encontrados no presente trabalho.

Em relação ao custo do processo de proteção de plantas de sorgo contra *E. turcicum* por *S. cerevisiae*, incorremos nos mesmos problemas do *C. graminicola*, onde foi possível demonstrar o fenômeno, porém devendo o mesmo ser melhor estudado

visando a obtenção de indutores mais eficientes e mais baratos para o emprego comercial do método.

4.2. Maracujá - *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*

Através da observação das Tabelas 2 e 3, pode-se notar a grande variabilidade existente no número de lesões locais e infecções sistêmicas, dentro de uma mesma planta e variando inclusive quando comparada com folhas localizadas em uma mesma posição nas demais plantas do tratamento, fato este relatado também por PICCININ et al. (1995). Deste modo, as análises de desvio padrão apresentam grandes desvios para os diferentes tratamentos, indicando assim a inexistência de diferença entre os tratamentos, embora na soma total do número de lesões locais e infecções sistêmicas exista uma diferença considerável entre as mesmas (Tabela 4 e 5). Em vista disso, optou-se pelo erro padrão da média para se expressar as diferenças entre os tratamentos.

Devemos considerar também que o método de quantificação de doença pode não ter sido o mais adequado, ou seja, a simples contagem do número de lesões pode não exprimir por exemplo o tamanho das lesões locais ou área de tecido afetada pelas infecções sistêmicas, conforme método utilizado por BARBOSA (1995). Porém, deve-se lembrar que as diferenças existentes nos tipos de infecções, que podem aparecer combinadas em uma mesma folha, acarretam problemas na construção de uma escala diagramática para a quantificação da doença assim como a utilização de escalas descritivas também pode gerar falhas por não diferenciar o tamanho de lesões locais na folha, as quais podem ocorrer em tamanhos variáveis (Figura 15).

Tabela 2. Influência de *S. cerevisiae* na redução do número de lesões locais em folhas de maracujazeiro inoculadas com *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora*.

Posição da folha	Tratamentos															
	Controle ^a								Levedura 24h antes ^b							
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4
1	56 ^d	280	370	150	0	57	0	5	41	7	27	39				
2	85	307	260	32	10	72	43	2	37	0	59	27				
3	76	69	208	107	8	42	32	0	12	5	78	17				
4	57	152	78	186	5	39	78	8	0	5	95	33				
5	23	72	150	70	2	57	33	0	48	3	20	54				
6	42	130	140	39	6	80	25	6	7	0	81	19				
7	10	240	280	87	4	38	86	8	2	3	49	23				
8	30	560	520	59	8	51	79	0	3	-	32	27				
9	20	120	157	-	0	68	53	4	4	-	14	0				
10	9	70	20	-	7	37	49	7	15	0	0	36				
Total	408	2000	2183	730	50	541	478	40	169	23	455	275				
Médias	40,8	200	218	91,3	5	54	48	4	17	2,9	46	28				

a - Controle inoculado com *X. campestris* pv. *passiflora*.

b - Suspensão de levedura (25mg/ml) aplicada 24h antes da inoculação;

c - Suspensão de levedura (25mg/ml) aplicada 24h depois da inoculação;

d - Avaliações efetuadas 14 dias após as inoculações.

Tabela 3. Influência de *S. cerevisiae* na redução do número de infecções sistêmicas em folhas de maracujazeiro inoculadas com *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora*.

Posição da folha	Tratamentos															
	Controle ^a				Levedura 24h antes ^b				Levedura 24h depois ^c							
	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4	Planta 1	Planta 2	Planta 3	Planta 4
1	0 ^d	2	3	1	0	0	0	1	2	0	1	4	2	0	1	4
2	0	0	4	5	0	0	1	0	1	1	2	2	2	1	2	2
3	2	4	2	3	0	1	0	0	0	0	5	1	0	0	5	1
4	0	2	3	2	0	0	1	0	3	0	3	2	3	0	3	2
5	3	3	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
6	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	2	0	2	0	2	0
7	1	3	0	2	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0	1	3
8	0	1	0	2	1	0	0	1	2	-	1	1	2	-	1	1
9	2	0	1	-	0	1	0	0	0	-	1	2	0	-	1	2
10	0	1	0	-	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
Total	8	16	13	18	1	3	2	2	9	2	17	18	9	2	17	18
Médias	0,8	1,6	1,3	2,25	0,1	0,3	0,2	0,2	0,9	0,25	1,7	1,8	0,9	0,25	1,7	1,8

a - Controle inoculado com *X. campestris* pv. *passiflora*;
b - Suspensão de levedura (25mg/ml) aplicada 24h antes da inoculação;
c - Suspensão de levedura (25mg/ml) aplicada 24h depois da inoculação;
d - Avaliações efetuadas 14 dias após as inoculações.

Tabela 4 - Média de lesões locais por folha e por tratamento das plantas de maracujá inoculadas com *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora*.

	Controle	Levedura 24h antes do patógeno	Levedura 24h após o patógeno
	40,8	5,0	16,9
	200,0	54,1	2,3
	218,3	47,8	45,5
	91,2	4,0	34,4
média	137,6	35,6	24,7
desvio	74,3	21,8	16,5
erro	4,3	2,3	2,0

Tabela 5 - Média de lesões sistêmicas por folha e por tratamento das plantas de maracujá inoculadas com *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora*.

	Controle	Levedura 24h antes do patógeno	Levedura 24h após o patógeno
	0,8	0,1	0,9
	1,6	0,2	0,2
	1,3	0,3	1,7
	2,2	0,2	2,2
média	1,5	0,2	1,2
desvio	0,5	,07	0,8
erro	0,3	0,13	0,4

Figura 15. Ilustração dos sintomas de lesão local (L) e sistêmica (S) na folha de maracujá inoculada com *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora*.

Em função dos problemas de avaliação para esta doença, acima comentados, existe a necessidade de estudos mais detalhados para que uma metodologia adequada possa ser padronizada para tal finalidade.

Com relação ao uso de *S. cerevisiae*, visando o controle da bacteriose do maracujazeiro, pode-se observar pela Figura 16 uma redução no número de lesões do tipo local, quando da aplicação da levedura tanto 24 horas antes ou depois do patógeno. Observa-se um efeito ainda melhor quando da aplicação da suspensão leveduriforme 24 horas após o patógeno.

No tocante ao controle do sintoma tipo infecção sistêmica (Figura 17) somente foi observada uma redução no número das mesmas quando a levedura foi aplicada 24 horas antes do patógeno. Visto que as infecções do tipo sistêmica são de controle muito complexo ao nível de campo, maior importância deve ser dada a presença ou não de infecções sistêmicas em relação as locais.

Foi observado também que a presença de poucas infecções sistêmicas podia ser acompanhada ou não de grande número de lesões locais, assim como foram localizados tratamentos com grande número de lesões locais e nenhuma infecção do tipo sistêmica, não existindo assim nenhuma ordenação lógica para a ocorrência ou não das mesmas.

Em ambos os tratamentos com *S. cerevisiae*, observou-se um atraso de 7 dias em relação ao controle inoculado com *X. campestris* pv. *passiflorae*, na manifestação dos sintomas de lesões locais e infecções sistêmicas nas folhas. Observou-se, também, que apenas nas plantas do tratamento controle ocorreram quedas de folhas, sendo que em nenhuma das plantas dos tratamentos com levedura este fato foi observado.

LEGENDA:

- Testemunha
- Levedura 24 horas antes do patógeno
- Levedura 24 horas após o patógeno

Figura 16. Efeito da aplicação de *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora* em plantas de maracujá, com base no número de lesões locais nas folhas.

LEGENDA:

Testemunha

Levedura 24 horas antes do patógeno

Levedura 24 horas após o patógeno

Figura 17. Efeito da aplicação de *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflora* em plantas de maracujá, com base no número de infecções sistêmicas nas folhas.

Este trabalho, por tratar-se apenas de um estudo exploratório, não procurou demonstrar de que maneira a *S. cerevisiae* atua no controle da bacteriose. Assim, várias hipóteses podem ser elaboradas a fim de que se possa melhor compreender o fenômeno. Deste modo, pode-se supor dois possíveis meios pelo qual a levedura atue sobre o patógeno: controle biológico e/ou a indução de resistência. Com relação ao controle biológico, PASCHOLATI et al. (1992) demonstraram a inibição do crescimento de *C. graminicola* *in vitro* por *S. cerevisiae*. No entanto, deve-se lembrar que não existe nenhuma citação que indique a produção de metabólitos tóxicos contra microorganismos por *S. cerevisiae* no filoplano. ROVERATTI (1989) cita outra possibilidade dentro do contexto do controle biológico para o papel da *S. cerevisiae* no controle de *H. vastatrix* em cafeeiro, o qual envolve a competição por espaço pelas células da *S. cerevisiae*. Em função dos resultados obtidos pela autora acredita-se também que a levedura atue na fase de pré-penetração através da inibição da germinação dos urediniosporos e na fase de pós-penetração ativando mecanismos latentes de resistência contra o fungo. Foi demonstrado também que as células de levedura permaneciam viáveis na região ao redor dos estômatos, supondo-se que as mesmas estariam criando uma barreira física para a penetração do patógeno. Deste modo, esses mecanismos atuando ao nível de pré e pós-penetração de maneira conjunta estariam conferindo proteção ao cafeeiro contra a ferrugem.

Em concordância com o presente trabalho envolvendo plantas de maracujá e *X. campestris* pv. *passiflorae*, PASCHOLATI et al. (1992) demonstraram a ocorrência de controle biológico e a indução de resistência em plantas de milho tratadas com *S. cerevisiae*. Os autores observaram que a aplicação dos filtrados das suspensões leveduriformes inibia a germinação dos conídios de *C. graminicola*, sendo que após a autoclavagem os filtrados não apresentavam nenhum efeito inibidor. Os autores também sugeriram a existência de dois mecanismos distintos de proteção, onde um atuaria na fase de pré-penetração através da inibição da germinação dos conídios e o outro ao nível de pós-penetração caracterizado pela indução de proteção.

PAULITZ (1990) e TOKESHI (1991) fazem menção ao efeito da competição por nutrientes, principalmente açúcares sobre o filoplano, que as leveduras selvagens exercem, o que impede muitos microrganismos conhecidos como açucareiros de desenvolverem-se e causarem doença. Levando-se em consideração que as bactérias de uma maneira geral necessitam multiplicar-se antes de terem acesso ao interior dos tecidos do hospedeiro, para tanto necessitando de alguma fonte de nutriente externa, as leveduras poderiam competir de maneira direta por açúcares inibindo o desenvolvimento das mesmas no filoplano (TOKESHI, 1991).

Resultados de outros trabalhos junto ao laboratório de Fisiologia do Parasitismo do Departamento de Fitopatologia ESALQ/USP, ainda em andamento na linha de indução de resistência pelo uso de elicitores abióticos do tipo glucanas, também presentes nas leveduras, indicam que esta proteção é devida principalmente a indução de resistência, não descartando também a hipótese do controle biológico.

Em virtude do exposto acima, ainda necessita-se investigar os mecanismos de proteção envolvidos, para uma melhor consideração dos fenômenos do controle biológico e indução de resistência em maracujá visando possivelmente potencializar o uso dos mesmos para um manejo integrado dessa bacteriose.

4.3. Eucalipto - *Botrytis cinerea*

O patógeno *Botrytis cinerea* causa muitos danos em eucalipto em locais onde existem alta umidade relativa e baixas temperaturas durante o ano, o que coincide com o que acontece na região sul e regiões altas ou montanhosas, ou seja, regiões serranas do estado de São Paulo. Essas regiões em geral correspondem aos locais de plantio de eucalipto, sendo os viveiros aí localizados, visando facilitar o transporte de mudas. Os resultados obtidos a partir das mudas de eucalipto mantidas nas temperaturas de 19°C e 15°C, os quais podem ser observados nas Figuras 18 e 19, indicam claramente o que ocorre ao nível de viveiro de mudas de eucalipto com a redução da temperatura, ou seja, a incidência e a severidade da doença aumentam.

Figura 18. Efeito de diferentes tratamentos com *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Botrytis cinerea* em mudas de eucalipto mantidas a 19°C.

Figura 19. Efeito de diferentes tratamentos com *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Botrytis cinerea* em mudas de eucalipto mantidas a 15°C.

Como podemos observar pelos resultados envolvendo as duas temperaturas, este patógeno apresenta-se muito agressivo nessas condições, sendo sua agressividade agravada ainda mais com a presença de tecidos necrosados (FERREIRA, 1989). Esses tecidos necrosados, como ilustrado na Figura 20, correspondem a pequenas regiões de no máximo 2mm de diâmetro no tecido foliar de eucalipto, os quais são normalmente oriundos da aplicação de fertilizantes, "déficit" hídrico e manuseio de mudas durante as operações de limpeza dos módulos de produção de mudas. Estes danos são de ocorrência comum em todos os viveiros de empresas florestais, podendo ocorrer em maior ou menor intensidade. A influência da presença do tecido necrosado no aumento da agressividade de *B. cinerea* pode ser observada nas Figuras 18 e 19.

A utilização da levedura foi realizada de modo a se verificar o efeito da mesma no controle de *B. cinerea* sob condições controladas. O critério de avaliação da proteção foi o de se considerar mudas saudias como classe 1 de sintomas e outras duas classificações para mudas doentes. De maneira geral, somente as plantas saudias são consideradas como aproveitáveis em um viveiro de mudas. As mudas pertencentes a classe 2 (sintomas leves) são descartadas em condições epidêmicas severas, enquanto que em condições de baixa incidência da doença, as mesmas podem ser aproveitadas. As mudas pertencentes a classe 3 são representadas por plantas mortas e portanto são eliminadas (Figuras 21 e 22).

Através da Figura 18, pode-se observar que a aplicação da suspensão de levedura sobre as mudas saudias, mantidas na condição de temperatura de 19°C, 24 horas depois do patógeno, propiciou um controle de 100% do fungo em relação a testemunha, a qual exibiu apenas 30% de plantas saudias. Por sua vez, o tratamento das mudas com a levedura 24 horas antes do patógeno controlou parcialmente a doença (60% de controle). O tratamento mantido a temperatura de 15°C apresentou melhor controle quando a levedura foi aplicada 24 horas antes da inoculação do patógeno foi o que melhor surtiu efeito no controle do fungo, com base no maior número de plantas na classe 1 em relação aos demais tratamentos (Figura 19). Ainda com relação ao tratamento mantido à temperatura de 15°C foi observado um aumento na agressividade e incidência do patógeno nas mudas saudias de eucalipto em relação a temperatura de

19°C (Figura 18). Por sua vez, o tratamento testemunha não apresentou nenhuma muda sadia, enquanto que os tratamentos com levedura apesar de não terem sido muito eficientes foram capazes de controlar o patógeno.

Com respeito aos tratamentos envolvendo mudas necrosadas e temperatura de 15°C é possível observar através da Figura 19, a inexistência de mudas sadias apenas no tratamento testemunha, indicando a extrema agressividade do patógeno em condições de baixa temperatura e presença de tecido necrosado. No entanto, pode-se notar que para a classe 2 existe um efeito de controle da doença em relação ao tratamento testemunha, sendo a aplicação de levedura 24 horas antes do patógeno o tratamento mais eficiente.

TOKESHI (1991) considera *B. cinerea* como um fungo "açucareiro", o qual necessita de fonte de açúcar externa para a germinação dos conídios e penetração. WINDELS & LINDOW (1985) citam também que as leveduras selvagens presentes no filoplano do cafeeiro são capazes de competir por açúcar e nutrientes e impedir a ocorrência de *Colletotrichum coffeanum*, lembrando também que o *Colletotrichum*, assim como o *Botrytis cinerea*, são descritos como fungos açucareiros. Por sua vez, PAULITZ (1990) comenta sobre as leveduras como importantes microrganismos competidores por açúcar e nutrientes no filoplano, o que indica a possibilidade de *S. cerevisiae* estar atuando como agente de controle biológico através de competição por nutrientes. SILVA & PASCHOLATI (1992) também citam a possibilidade das leveduras atuarem através da produção de metabólitos capazes de inibir o crescimento de fungos, como por exemplo *C. graminicola*. ROVERATTI (1989) observou também a possibilidade da *S. cerevisiae* competir por espaço com *H. vastarix* dificultando assim o processo de penetração do fungo.

Figura 20. Ilustração dos sintomas de necrose (N) em folhas de mudas de eucalipto devido a danos físicos e químicos.

Figura 21. Ilustração dos sintomas causados por *Botrytis cinerea* em mudas de eucalipto: A - classe 1 = muda sadia; C - classe 3 = mudas mortas.

Figura 22. Ilustração dos sintomas causados por *Botrytis cinerea* em mudas de eucalipto: B - classe 2 = mudas com sintomas leves.

Observou-se durante o ensaio com mudas de eucalipto, que os primeiros sintomas da doença ocorriam a partir do 3º dia após a inoculação. Deste modo, o controle do patógeno provavelmente seria melhor observado quando da aplicação da levedura antes da chegada do mesmo no hospedeiro. Porém, os resultados demonstraram que o melhor controle do fungo ocorreu quando da aplicação da levedura 24 horas depois do patógeno a uma temperatura de 19°C (Figura 18). Nesse caso, a existência de algum efeito via controle biológico provavelmente seria devido a metabólitos produzidos pela levedura, pois a competição por nutriente e espaço em tempo tão curto seria inviável. Deve-se ressaltar que na literatura não existe nenhum trabalho que demonstre a efetividade de qualquer agente de biocontrole sobre *B. cinerea*, tanto ao nível de casa de vegetação como em condições de campo. Os trabalhos reportados na literatura científica foram conduzidos sob condições *in vitro*, porém não apresentando resultados satisfatórios *in vivo*.

Como pode ser observado, o controle do fungo em tecidos necrosados foi muito diferente em relação aos tecidos sadios (Figuras 18 e 19), sendo que na existência de controle biológico por meio de algum metabólito produzido pela levedura, tal controle deveria mostrar-se eficiente em ambos os tipos de tecidos presentes (sadios ou necrosados), para cada uma das temperaturas testadas, fato este que não ocorreu (Figuras 18 e 19).

Em vista do exposto acima, temos reforçada a hipótese da ocorrência da indução de resistência, como um dos possíveis fatores atuando no controle de *B. cinerea* em eucalipto. Um dos pontos que reforça a hipótese da indução de resistência é o fato do controle ser menos eficiente para os tecidos necrosados que para os tecidos sadios, visto que o processo de indução de proteção envolve processos bioquímicos e portanto necessitando de células vivas do hospedeiro para que o mesmo possa ocorrer. Outro fato importante é que a proteção foi efetiva apenas a temperatura de 19°C, tendo seu efeito muito reduzido a 15°C, o que está de acordo com as características do fenômeno de indução de resistência, o qual é dependente da temperatura para a sua expressão (ELLISTON et al., 1977). Por outro lado, HOOS & BLAICH (1990) e JEANDET et al., (1995) citam que o principal mecanismo de defesa de videiras contra *B. cinerea* é o

acumulo de fitoalexinas, sendo mais um indicativo da possibilidade da proteção ser devida a ativação dos mecanismos de resistência da planta pela aplicação da levedura. Diversos autores (SILVA, 1989; ROVERATTI, 1989; LOPEZ, 1991; FREITAS et al., 1994) demonstraram a possibilidade do uso de *S. cerevisiae* como indutor de proteção em diferentes plantas, o que indica a possibilidade da ocorrência deste fenômeno também em eucalipto.

5. CONCLUSÕES

a) A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, constituída pelo "Fermento Biológico Fresco Fleischmann", mostrou-se eficiente na redução da severidade da doença a nível de campo, em folhas de sorgo inoculadas com *Colletotrichum graminicola* ou *Exserohilum turcicum*;

b) O controle da antracnose e helmintosporiose pela levedura ao nível de campo, assegurou uma produção de grãos equiparável ao uso de fungicida para o controle das respectivas doenças;

c) O mecanismo de proteção de plantas por *S. cerevisiae* mostrou-se inespecífico para o controle de fungos necrotróficos (*B. cinerea*), hemibiotróficos (*C. graminicola*; *E. turcicum*), bem como da bactéria (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*);

d) A proteção proporcionada por *S. cerevisiae* foi também inespecífica para as plantas empregadas, sendo efetiva em plantas de sorgo, maracujá e eucalipto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIST, J.R. Structural responses as resistance mechanisms. IN: BAYLEY, J.A. & DEVERAL, B.J. (Editors). **The Dynamics of Host Defense**. Sydney, Academic Press, 1983, p.33-70.

ALCORN, J.L. The taxonomy of "*Helminthosporium* " species. **Annual Review of Phytopathology**, 26: 37-56, 1988.

ALI, M.E.K. Physiological races of *Colletotrichum graminicola* on sorghum. **Plant Disease**, 71 (5): 402-404, 1987.

ALI, M.E.K. & WARREN, H.L. Relationship between anthracnose leaf blight and losses IN: grain yield of sorghum. **Plant Disease**, 71 (9): 803-806, 1987.

AMORIM, L. Infecção. IN: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. e AMORIM, L. (Editores). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995a. Vol. 1, Cap. 15, p.295-308.

AMORIM, L. Avaliação de doenças IN: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. e AMORIM, L. (Editores). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995b. Vol. 1, Cap. 32, p.674-671.

- AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; PALAZZO, D.A.; BASSANEZI, R.B.; GODOY, C.V. & TORRES, G.A.M. Clorose variegada dos citros: uma escala diagramática para a avaliação da severidade da doença. **Fitopatologia Brasileira**, 18 (2): 171-180, 1993.
- BARBOSA, L.S. Resistência de *Passiflora* sp. a *Xanthomonas campestris* pv. e detecção do patógeno em sementes. Viçosa, 1995. 66p. (MESTRADO - UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV/MG).
- BAKER, R. Diversity in biological control. **Crop Protection**, 10: 85-94, 1994.
- BALASS, M & LEVY, Y. Antagonistic relationships between *Helminthosporium maydis* and *Exserohilum turcicum* in corn plants and in artificial media. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 6: 313-317, 1984.
- BALMER, E. Doenças do milho. IN: GALLI, F. (Editor) **Manual de Fitopatologia - Doenças das Plantas Cultivadas**. São Paulo / SP, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1980. Vol. II, Cap. 27, p. 371-391.
- BELL, A.A. Biochemical mechanisms of disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology**, 32: 21-81, 1981.
- BENHAMOV, N.; LAFONTAINE, P.J. & NICOLE, M. Induction of systemic resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. **Phytopathology**, 84 (12): 1432-1444, 1994.
- BERNARD, N. L'évolution dans la symbiose, des orchideées et leurs champignons commensaux. **Annales dans Sciences Naturelles**, 9: 1-196, 1909.

- BLEICHER, J.; BALMER, E. & ZINSLY, J.R. Resistência horizontal a *Exserohilum turcicum* em milho, cultivar pirapoca amarela. **Fitopatologia Brasileira**, 18: 187-193, 1993.
- BOLAND, G.L. Biological control of plant diseases with fungal antagonists: challenges and opportunities. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 12: 295-299, 1990.
- BOWEN, K. & PEDERSEN, W.L. Effects of propiconazole on *Exserohilum turcicum* IN: laboratory and field studies. **Plant Disease**, 72 (10): 847-850, 1988.
- BROOK, P.J. Botrytis stem rot and other storage diseases of kiwifruit - a review. **Acta Horticulturae**, 297: 545-550, 1991.
- BROWN, N.A. Experiments with paris daisy and rose to produce resistance to crown gall. **Phytopathology**, 13: 87-89, 1923.
- BULGER, M.A.; ELLIS, M.A. & MADDEN, L.V. Influence of temperature and wetness duration on infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* and disease incidence of fruit originating from infected flowers. **Phytopathology**, 77 (8): 1225-1230, 1987.
- CAMARGO, L.E.A. & BERGAMIN FILHO, A. Controle genético. IN: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. e AMORIM, L. (Editores). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995. Vol. 1, Cap. 37, p.729-760.
- CAMPBELL, R. Biological control of soil borne diseases: some present problems and different approaches. **Crop Protection**, 13 (1): 4-13, 1994.

- CARDWELL, K.F. Pathotypes of *Colletotrichum graminicola* and seed transmission of sorghum anthracnose. **Plant Disease**, 73 (3): 255-257, 1989.
- CARROL, R.B. & LUKEZIC, F.L. Induced resistance in alfafa to *Corynebacterium insidiosum* by prior treatment with avirulent cells. **Phytopathology**, 62: 555-563, 1972.
- CARUSO, F. & KUĆ, J. Protection of watermelon and muskmelon against *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological and Plant Pathology**, 14: 191-201, 1979.
- CASELA, C.R. & FERREIRA, A.S. Reação de genótipos de sorgo a sete patótipos de *Colletotrichum graminicola*, agente casual de antracnose. **Fitopatologia Brasileira**, 12 (1): 60-62, 1987a.
- CASELA, C.R. & FERREIRA, A.S. Proposta de um sistema de classificação de raças de *Colletotrichum graminicola*, agente casual de antracnose em sorgo (*Sorghum bicolor*). **Fitopatologia Brasileira**, 12 (4): 337-344, 1987b.
- CASELA, C.R. & FERREIRA, A.S. Resistência de cultivares de sorgo a *Colletotrichum graminicola*, agente casual de antracnose. **Fitopatologia Brasileira**, 13 (1): 7-10, 1988a.
- CASELA, C.R. & FERREIRA, A.S. Identificação de fontes de resistência a *Colletotrichum graminicola*, agente casual de antracnose em sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, 13 (4): 351-353, 1988b.
- CASELA, C.R. & FREDERIKSEN, R.A. Survival of *Colletotrichum graminicola* sclerotia in sorghum stalk residues. **Plant Disease**, 77 (8): 825-827, 1993a.

- CASELA, C.R. & FREDERIKSEN, R.A. Evidence for dilatory resistance to anthracnose in sorghum. **Plant Disease**, 77 (9): 908-911, 1993b..
- CASELA, C.R. & FREDERIKSEN, R.A. Pathogenic variability in monoconidial isolates of the sorghum anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*, from single lesions and from monoconidial cultures. **Fitopatologia Brasileira**, 19 (2): 149-153, 1994.
- CHASTAGNER, G.A.; OGAWA, J.M. & MANJL, B.T. Dispersal of conidia of *Botrytis cinerea* in tomato fields. **Phytopathology**, 68: 1172-1176, 1978.
- CHAUDHARY, K.C.B. & MATHUR, S.B. Infection of sorghum seeds by *Colletotrichum graminicola*. 1. Survey, location in seed and transmission of the pathogen. **Seed Science & Technology**, 7: 87-92, 1979.
- CHESTER, K.S. Plant disease losses: their appraisal and interpretation. **Plant Disease Reporter**, 193: 191-362 (Suplemento), 1950.
- CHET, I. *Trichoderma* - application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soil-borne plant pathogenic fungi. IN: CHET, I. (Editor). **Innovative Approaches to Plant Disease Control**. New York, John Wiley and Sons, p. 137-160, 1987.
- CHET, I.; ORDENLICH, A.; SHAPIRA, R. & OPPENHEIM, A. Mechanisms of biocontrol of soil borne plant pathogens by rhizobacteria. **Plant Soil**, 129: 85-92, 1990.
- CHIBA, M & NORTHOVER, J. Efficacy of new benzimidazole fungicides against sensitive and benomyl resistant *Botrytis cinerea*. **Phytopathology**, 78 (5): 613-618, 1988.

- COELHO, A.M. A cultura do sorgo no norte de Minas: resultados experimentais. Belo Horizonte, EPAMIG, 1983, 48p., série 2.
- COOK, R.J. & BAKER, K.F. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens.** Saint Paul. The American Phytopathological Society, 1983, 539p.
- DEAN, R.A. & KUĆ, J. Induced systemic protection in cucumber: effects of inoculum density and symptom development caused by *Colletotrichum lagenarium* in previously infected and uninfected plants. **Phytopathology**, 76 (2): 186-189, 1986a.
- DEAN, R.A. & KUĆ J. Induced systemic protection in cucumbers: the source of the "signal". **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 28: 227-233, 1986b.
- DUKE, N.; RAMIREZ, A.V. & TOMIYAMA, K. Systemic induction of resistance in potato plants against *Phytophthora infestans* by local treatment with hyphal wall components of the fungus. **Journal of Phytopathology**, 119: 232-239, 1987.
- DUNLEAVY, J. Control of damping-off of sugar beet by *Bacillus subtilis*. **Phytopathology**, 45: 252-258, 1955.
- EDLICH, W; LORENZ, G.; LYR, H.; NEGA, E. & POMER, E.H. New aspects on the infection mechanism of *Botrytis cinerea* Pers.. **Netherland Journal of Plant Pathology**, 95 (1): 53-62, (Suplemento), 1989.
- ELAD, Y.; AYSH, N.; ZIV, O. & KATAN, J. Control of gray mould (*Botrytis cinerea*) with film forming polymers. **Plant Pathology**, 39: 249-254, 1990.
- ELAD, Y.; CHET, I. & HENIS, Y. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. **Canadian Journal of Microbiology**, 28: 719-725, 1982.

- ELAD, Y & KIRSHNER, B. Calcium reduces *Botrytis cinerea* ~~damages~~ to plants of *Ruscus hypoglossum*. **Phytoparasitica**, 20 (4): 285-291, 1992.
- ELLISTON, J.; KUĆ, J.; WILLIAMS, E. & RAHE, J. Relation of phytoalexin accumulation to local and systemic protection of bean against anthracnose. **Phytopathologische Zeitschrift**, 88: 114-130, 1977.
- ESTEVEZ, A. Incidência de doenças sob condições de campo, em cultivares de milho (*Zea mays*), em Dourados. **Fitopatologia Brasileira**, 9: 155-160, 1984.
- FERNANDES, F.T. & SCHAFFERT, R.E. Anthracnose of sorghum in Brazil. IN: INTERNATIONAL WORKSHOP ON SORGHUM DISEASE. Hyderabad, India. **Proceedings Andhra Pradesh, ICRISAT**. P.295-296, 1978.
- FERREIRA, A.S. & CASELA, C.R. Raças patogênicas de *Colletotrichum graminicola*, agente causal de antracnose em sorgo (*Sorghum bicolor*). **Fitopatologia Brasileira**, 11 (3): 84-87, 1986.
- FERREIRA, A.S. & WARREN, H.L. Resistance of sorghum to *Colletotrichum graminicola*. **Plant Disease**, 66 (9): 773-775, 1982.
- FERREIRA, F.A. Doenças bióticas do eucalipto. IN: FERREIRA, F.A. (editor). **Patologia Florestal - Principais Doenças Florestais no Brasil**. Viçosa / MG, Sociedade de Investigação Florestais, 1989, Cap. IV, p.93-243.
- FERREIRA, S. A cultura do sorgo, Campinas, **Boletim Técnico CATI**, 1984, 16p., nº 187.

- FORCELINI, C.A. Fungicidas inibidores da síntese de esteróis. I-Triazóles. IN: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M. e PICININI, E.C. (Editores). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo - RS, 1994, Vol. 2, p. 335-355.
- FRANCIS, C.A.; RUTGER, J.N. & PALMER, A.F.E. A rapid method for plant leaf area estimation in maize (*Zea mays* L.). **Crop. Science**, 9: 537-539, 1969.
- FRANCISCO NETO, E.; NAKAMURA, K. & OLIVEIRA, J.C. Influência de alguns fatores na germinação de conídios, no crescimento micelial e na esporulação de alguns isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, obtidos de *Passiflora*. **Sanma Phytopathologica**, 20 (2): 96-100, 1994.
- FREDERIKSEN, R.A. **Compendium of Sorghum Disease**, 2nd edition, Saint Paul/Minnesota. The American Phytopathological Society, 1991, 82p.
- FREITAS, J.C.; ZARAMELA, G.S. & PASCHOLATI, S.F. Efeito de agentes bióticos e abióticos no acúmulo de um complexo de pigmentos e fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, 18: 349, 1993 (Resumo).
- FROSI, J.F. Reações a *Helminthosporium turcicum* Pass. em compostos de milho (*Zea mays* L.). Piracicaba, 1978, 44p. (MESTRADO - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/ USP).
- FROSI, J.F. & BALMER, E. Reações de linhagens de milho a *Helminthosporium turcicum* Pass. em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, 5: 239-244, 1980.

- GOLAN, R.B.; MEIR, G.L. & KOPELIOVITCH, E. Pectolitic and cellulolytic activity of *Botrytis cinerea* Pers. related to infection of nonripening tomato mutants. **Journal of Phytopathology**, 123: 174-183, 1988.
- GUBLER, W.D. Control of *Botrytis* bunch rot grape with canopy management. **Plant Disease**, 71 (7): 599-601, 1987.
- GUEDES, M.E.; RICHMOND, S. & KUĆ, J. Induced systemic resistance to anthracnose in cucumber as influenced by the location of the inducer inoculated with *Colletotrichum lagenarium* and onset of flowering and fruiting. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 17: 229-233, 1980.
- GULLINO, M.L.; ALOI, C. & GARIBALDI, A. Influence of spray schedules on fungicide resistant populations of *Botrytis cinerea* Pers. on grapevine. **Netherland Journal of Plant Pathology**, 95 (1) suplemento: 87-94, 1989.
- HADWIGER, L.A.; OGAWA, T. & KUYAMA, H. Chitosan polymer sizes effective in inducing phytoalexin accumulation and fungal suppression are verified with synthesized oligomers. **Molecular Plant Microbe Interactions**, 7 (4): 531-533, 1994.
- HAMMER, P.E. & MAROIS, J.J. Nonchemical methods for postharvest control of *Botrytis cinerea* on cut roses. **Journal of American Horticultural Sciences**, 114 (1): 100-106, 1989.
- HARRISON, J.G. & LOWE, R. Wind dispersal of conidia of *Botrytis* spp. pathogenic to *Vicia faba*. **Plant Physiology** 36: 5-15, 1987.

- HAUSBECK, M.K. Influence of grower activity and disease incidence on concentrations of airborne conidia of *Botrytis cinerea* among geranium stock plants. **Plant Disease**, 75 (8): 798-803, 1991.
- HOOS, G. & BLAICH, R. Influence of resveratrol on germination of conidia and mycelial growth of *Botrytis cinerea* and *Phomopsis viticola*. **Journal of Phytopathology**, 129: 102-110, 1990.
- HORST, R.K. *Botrytis* blight. IN: HORST, R.K. **Compendium of Rose Diseases**. Saint Paul - Minnesota, APS Press - The American Phytopathological Society, 1983, p. 18-19.
- ISAAC, S. **Fungal plant interactions**. London, Chapman & Hall, 1992, 418p.
- JAMES, W.C. **A manual of Assessment Keys of Plant Diseases**. Canada Departament of Agriculture Publication n° 1458, 1971, 74p.
- JEANDET, P.; BESSIS, R.; SBAGHI, M. & MEUNIER, P. Production of the phytoalexin resveratrol by grapes as a response to *Botrytis* attack under natural conditions. **Journal of Phytopathology**, 143: 135-139, 1995.
- JENNS, A.E. & KUĆ, J. Graft transmission of systemic resistance of cucumber to anthracnose induced by *Colletotrichum lagenarium* and tobacco necrosis virus. **Phytopathology**, 69: 753-756, 1979.
- JOHNSON, K.B.; SAWYER, T.L. & POWELSON, M.L. Frequency of benzimidazole and dicarboximide resistant strains of *Botrytis cinerea* in West Oregon small fruit and snap bean plantings. **Plant Disease**, 78 (6): 572-577, 1994.

- JORDAN, V.W. & RICHMOND, D.V. The effects of benomyl on sensitive and tolerant isolates of *Botrytis cinerea* infecting strawberries. **Plant Pathology**, 23: 81-83, 1974.
- KAREL, L. & ROACH, E.S. **A Dictionary of Antibiotics**. New York, Columbia University Press, 1951.
- KERR, A. Biological control of crown gall through production of agrocin 84. **Plant Disease**, 64: 25-30, 1980.
- KIMATI, H. Controle químico IN: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. e AMORIM, L. (Editores). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995. Vol. 1, Cap. 38, p.761-785.
- KLEMENT, Z. & GOODMAN, R.N. The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, 5: 17-44, 1968.
- KLESSING, D.F. Salicylic acid active oxygen species and systemic acquired resistance in plants. **Trends in Cell Biology**, 4: 334-338, 1994.
- KOCHMAN, J.K. & BROWN, J.F. Host and environmental effects on post penetration development of *Puccinia avenae* and *Puccinia coronata* pv. *avenae*. **Annual Review of Biology**, 81: 33-41, 1975.
- KRÜGNER, T.L. Doenças do eucalipto. IN: GALLI, F. (editor). **Manual de Fitopatologia - Doenças das Plantas Cultivadas**. São Paulo / SP, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1980. Vol. II, Cap. 18, p.275-296.
- KUĆ, J. Induced systemic resistance to plant disease and phytointerferons-are they compatible ? **Fitopatologia Brasileira**, 10: 17-40, 1985.

- KUĆ, J. & RICHMOND, S. Aspects of the protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. **Phytopathology**, 67: 533-536, 1977.
- KUĆ, J. & RUSH, C. Phytoalexins. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 26 (2): 455-472, 1985.
- LASCA, C.C.; VECCHIATO, M.H. & VALARINI, P.J. Detecção e identificação de fungos em sementes de sorgo (*Sorghum* sp.) produzidas no estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, 53 (1/4): 47-54, 1986.
- LEITE, B. & PASCHOLATI, S.F. Hospedeiro: alterações fisiológicas induzidas por fitopatógenos. IN: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. e AMORIM, L. (Editores). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995. Vol. 1, Cap. 21, p.393-416.
- LEITE, B.; SANDER, P. C. & SUGUI, J. A. O papel de compostos voláteis na germinação de esporos fúngicos e na expressão de doenças em plantas. **Summa Phytopathologica**, 21 (2): 109-116, 1995.
- LEONARD, K.J. & THOMPSON, D.L. Effects of temperature and host maturity on lesion development of *Colletotrichum graminicola* on corn. **Phytopathology**, 66: 635-639, 1976.
- LEONG, J. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. **Annual Review Phytopathology**, 24: 187-209, 1986.
- LEVY, Y. The overwintering of *Exserohilum turcicum* in Israel. **Phytoparasitica** 12 (3-4): 177-182, 1984.

- LEVY, Y. & COHEN, Y. Sporulation of *Helminthosporium turcicum* on sweet corn: effects of light and sugars. **Physiological Plant Pathology**, 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**, 24: 247-252, 1984.
- LEVY, Y & TAL, K. The effects of water deficiency in corn plants on the development of three corn diseases. **Phytoparasitica**, 13 (2): 141-144, 1985.
- LIPPS, P.E. Survival of *Colletotrichum graminicola* in infected corn residues in Ohio. **Plant Disease**, 67: 102-104, 1983.
- LOCKWOOD, J.L. The role of microbial energy stress in biological control. IN: III REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, PIRACICABA/SP. **Anais da III Reunião Brasileira Sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Piracicaba, 1989, p.3.
- LOEFFLER, W.; TSCHEN, J.S.M.; VANITTANAKOM, N.; KUGLER, M.; KNORPP, E.; HSIEN, T.F. & WU, T.G. Antifungal effects of basilysin and fungymycin from *Bacillus subtilis* F-93-3. A comparison with activities of other *Bacillus* antibiotics. **Journal of Phytopathology**, 115: 204-206, 1986.
- LOPEZ, A.M.Q. Controle alternativo da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (CES) Wills em sorgo (*Sorghum bicolor* L. (MOENCH)). Rio Claro, 1991. 203p. (MESTRADO - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho").
- LOPEZ, A.M.Q. Fitoalexinas em sorgo - papel na interação com fungos fitopatogênicos. **Summa Phytopathologica**, 19(1): 59-61, 1993.

- LOUVET, J.; ALABOUVETTE, C. & ROUXEL, F. Microbiological suppressiveness of some soils to *Fusarium* wilts. IN: NELSON, P.E.; TOUSSUN, T.A. & COOK, R.J. (editors). ***Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy***. University Park, The Pennsylvania State University, 1981. ch. 25, p. 261-275.
- LOZANO, J.C. & SEQUEIRA, L. Prevention of the hypersensitive reaction in tobacco leaves by heat-killed cells of *Pseudomonas solanacearum*. ***Phytopathology***, 60: 875-877, 1970.
- LUZ, W.C. Microbiolização de sementes para o controle de doenças das plantas. IN: LUZ, W.C. (Editor). ***Revisão Anual de Patologia de Plantas***, Brasília / DF, 1993, p.33-77.
- LYON, G.D.; REGLISKI, T. & NEWTON, A.C. Novel disease compounds: the potential to 'immunize' plants against infection. ***Plant Pathology*** 44: 407-427. 1995.
- MADAMANCHI, N.R. & KUĆ, J. Induced systemic resistance in plants. IN: COLE, G.T. & HOCH, H.C (Editors). ***The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals***. New York, Plenum Press, 1991 p. 347-362.
- MANSFIELD, J.W. Antimicrobial compounds IN: CALLOW, J.A. (editors). ***Biochemical plant pathology***. Chichester, John Wiley & Sons, 1983, p. 237-265.
- MARLEY, P.S. & HILLOCKS, R.J. The role of phytoalexins in resistance to *Fusarium udum* wilt in pigeon pea (*Cajanus cajan*). ***Plant Pathology***, 42: 212-218, 1993.
- MAROIS, J.J.; BLEDSOE, A.M.; BOSTOCK, R.M. & GUBLER, W.D. Effects of spray adjuvants on development of *Botrytis cinerea* on *Vitis vinifera* berries. ***Phytopathology***, 77 (8): 1148-1152, 1987.

- MARTINELLI, J. A. Aspects of induced resistance of barley (*Hordeum vulgare*) to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). **Summa Phytopathologica**, 18: 207-219, 1992.
- MARTINS, E.M.F. Controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) através da indução de resistência. IN: BETTIOL, W. (Editor) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1991, capítulo 24, p. 345-363.
- MATTA, E.F. **Doenças de maracujazeiro no Estado da Bahia**. Salvador EPABA, 1982. 17p. (Circular Técnica, 2).
- MISRA, A.P. Recent trends of researches in graminicolous Helminthosporia. **Indian Phytopathology**, 42 (2): 209-220, 1989.
- MOORMAN, G.W.; LEASE, R.J. & VALI, R.J. Bioassay for dicarboximide resistance in *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, 78 (9): 890-891, 1994.
- MORAES, W.B.C. Controle alternativo aplicado a cultura de café. IN: III REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, PIRACICABA/SP. **Anais da III Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Piracicaba, 1989, p.36-44p.
- MORAES, W.B.C. Indução de resistência em plantas. IN: II SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE CONTROLE BIOLÓGICO. BRASÍLIA/DF. **Anais do II Simpósio Internacional de Controle Biológico**. Brasília, CENARGEN, 1990, p.60-61.

- 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, 1991, capítulo 10, p. 157-179.
- MOURA, C.B. & DA SILVA, W.J. Efeitos genéticos da resistência de linhagens de milho ao *Helminthosporium turcicum* Pass. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 16 (3): 319-323, 1981.
- MUCHOVEJ, J.J.; MUCHOVEJ, R. M. C. & RIBEIRO-NESIO, M.L. Taxonomia de *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*. **Fitopatologia Brasileira**, 13 (3): 211-223, 1988.
- MÜLLER, K.O. Einige einfache Versuche zum Nachweis von Phytoalexinen. **Phytopathologische Zeitschrift**, 27: 237-254, 1956.
- MÜLLER, K.O. The phytoalexin concept and its methodological significance. **Recent Advances in Botany**, 1: 396-400, 1961.
- MÜLLER, K. & BÖRGER, H. Experimentelle Untersuchungen über die *Phytophthora* resistenz der Kartoffel. **Arbeit Biologische Reichsanstalt für Land und Forstwirtschaft**, 23: 189-231, 1940.
- NAKAMURA, K & FERNANDES, N.G. Avaliação da severidade da antracnose em alguns genótipos comerciais de sorgo. **Científica**, 10 (1): 135-139, 1982.
- NAKAMURA, K.; FERNANDES, N.G. & KRONKA, S.N. Efeito do método de inoculação, da concentração de inóculo de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. e da idade das plantas na antracnose do sorgo. **Summa Phytopathologica**, 11 (1/6), 1985.

- NICHOLSON, R.L. *Colletotrichum graminicola* and the anthracnose disease of maize and sorghum. IN: BAILEY, J.A. & JEGER, M.L.. *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford, CAB International, 1992, Chapter 9, p.186-202.
- NICHOLSON, R. L. & MORAES, W.B.C. Survival of *Colletotrichum graminicola*: importance of the spore matrix. *Phytopathology*, 70(3):255-261, 1980.
- NICHOLSON, R.L. & WARREN, H.L. Criteria for evaluation of resistance to maize anthracnose. *Phytopathology*, 66: 86-90, 1976.
- OUCHI, S. Induction of resistance or susceptibility. *Annual Review of Phytopathology*, 21: 289-315, 1983.
- OUCHI, S.; OKU, H. & HIBINO, C. Localization of induced resistance and susceptibility in barley leaves inoculated with the powdery mildew fungus. *Phytopathology*, 66: 901-905, 1976.
- PAIVA, E.; PEIXOTO, M.J.V.V.D.; FERREIRA, A.S. & CASELLA, C.R. Diferenciação imunológica de raças fisiológicas de *Colletotrichum graminicola* de sorgo. *Fitopatologia Brasileira*, 15 (4): 299-302, 1990.
- PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: passado, presente futuro. *Summa Phytopathologica*, 19(1):53-55, 1993.
- PASCHOLATI, S.F.; DEISING, H.; LEITE, B.; ANDERSON, D. & NICHOLSON, R.C. Cutinase and non-specific esterase activities in the conidial mucilage of *Colletotrichum graminicola*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 42: 37-51, 1993.

PASCHOLATI, S.F.; HEIM, D. & NICHOLSON, R.L. Phenylalanine ammonia - lyase and susceptibility of maize mesocotyl to *Helminthosporium maydis*. **Physiological Plant Pathology**, 27: 345-356, 1985.

PASCHOLATI, S.F. & LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. IN: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.C.; PRESTES, A.M. E PICININI, E.C. (Editores). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo - RS, 1994, Vol. 2, p. 1-51.

PASCHOLATI, S.F. & LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. IN: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. e AMORIM, L. (Editores). **Manual de Fitopatologia**. 3ª edição. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995. Vol. 1, Cap. 22, p. 417-453.

PASCHOLATI, S.F.; MORAES, W.B.C.; FIGUEIREDO, M.B. & OLIVEIRA, A.R. Induced protection in melon plants against *Mycosphaerella melonis* by prior inoculation with *Helminthosporium carbonum* or heat inactivated *M. melonis*. **Fitopatologia Brasileira**, 11 (3):507 - 514, 1986.

PASCHOLATI, S.F. & NICHOLSON, R.L. *Helminthosporium maydis* suppresses expression of resistance to *Helminthosporium carbonum* in corn. **Phytopathology Zeitschrift** 107: 97-105, 1983.

PAULITZ, T.C. Biochemical and ecological aspects of competition in biological control. IN: BAKER, R.R. (editors) **New Directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pests and Diseases**. New York, Liss, p. 713-724, 1990.

PAXTON, J.D. Phytoalexins - a working redefinition. **Phytopathologische Zeitschrift**, 101: 106-109, 1981.

- PEREIRA, A.L.G. Contribuição ao estudo da etiologia da mancha oleosa da folha de maracujá (*Passiflora edulis* Sims.) causada por *Xanthomonas passiflorae* n.sp., Piracicaba, 1968, 91p. (DOUTORADO, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).
- PEZET, R. & PONT, V. Ultrastructural observations of pterostilbene fungitoxicity in dormant conidia of *Botrytis cinerea* Pers. **Journal of Phytopathology**, 129:19-30, 1990.
- PICCININ, E.; MALAVOLTA JR, V.A. & PASCHOLATI, S.F. Efeito da concentração de inóculo e da temperatura na severidade de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* em folhas de maracujazeiro. **Fitopatologia Brasileira**, 20 (Suplemento): p.323, 1995 (resumo).
- PICCININ, E. & PASCHOLATI, S.F. Viabilidade de isolados de *Colletotrichum graminicola* após conservação de 14 anos pelo método de Castellani. IN: 6ª REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO. Resumos da 6ª Reunião Anual do Instituto Biológico, São Paulo, 1993, p.32.
- PICCININ, E. & PASCHOLATI, S.F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* no controle de *Botrytis cinerea* em mudas de eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, 20: (Suplemento): p.340, 1995.
- PRABHU, A.S. & MORAIS, O.P. Resistência estável às doenças de plantas. IN: LUZ, W.C.(Editor). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Vol. 1, Brasília/DF, 1993, p.239-273.
- PRASAD, K.V.V.; KHARE, M.N. & JAIN, A.C. Site of infection and further development of *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson in naturally infected sorghum grains. **Seed Science & Technology**, 13:37-40, 1985.

- RAMADOSS, C.S.; UHLIG, J.; CARLSON, D.M.; BUTLER, L.G. & NICHOLSON, R.L. Composition of the mucilaginous spore matrix of *Colletotrichum graminicola* a pathogen of corn, sorghum, and other grasses. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 33:728-732, 1985.
- RAY, J. Cultures et formes atténuées des maladies cryptogamiques des végétaux. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences, Paris**, v. 133, p.307-309, 1901.
- REIS, E.M. Solos supressivos a doenças de plantas. IN: II REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, PIRACICABA, SP. **Anais da II Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Piracicaba, 1987, p.42-48.
- REIS, E.M. Possibilidades de controle biológico do mal do pé do trigo. IN: III REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, PIRACICABA, SP. **Anais da III Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Piracicaba, 1989, p.49-56.
- ROMEIRO , R.S. & MUCHOVEJ, J.J. Persistence and lack of absorption and translocation of streptomycin sulfate in passion fruit leaves. **Turrialba**, 40 (4): 487-490, 1990.
- RONCATTO, M.C. & PASCHOLATI, S.F. Mesocótilos estiolados de sorgo: bioensaio para a caracterização de frações de *Saccharomyces cerevisiae* envolvidas na proteção de plantas de sorgo contra fungos. IN: 6ª REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, São Paulo, 1993, p.31 (Resumo).
- ROSS, A.F. Systemic acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive host. **Virology**, 14: 329-339, 1961.

ROVERATTI, D.S. Proteção de plantas de café (*Coffea arabica* L.) contra *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. por *Saccharomyces cerevisiae*. Piracicaba, 1989. 94p. (MESTRADO - ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"/USP).

ROVERATTI, D.S.; TEIXEIRA, A.R.R. & MORAES, W.B.C. Controle alternativo da ferrugem de cafeeiro pela utilização de produtos comerciais a base de *Bacillus thuringiensis*. **Fitopatologia Brasileira**, 12(2): 137, 1987(Resumo).

ROVIRA, A.D. & WILDERMUTH, G.B. The nature and mechanisms of suppression. IN: ASCHER, M.J.C. & SHIPTON, P.J. (editors). **Biology and Control of Take-all**. London, Academic Press, 1981, ch. 17, p.385-415.

SALINAS, J.; GLANDORF, D.C.M.; PICAUVET, F.D. & VERHOEFF, K. Effects of temperature, relative humidity and age of conidia on the incidence of spotting in gerbera flowers caused by *Botrytis cinerea*. **Netherland Journal of Plant Pathology**, 95:51-64, 1989.

SANHUEZA, R.M.V. Práticas agrícolas e sua influência no controle biológico de doenças. IN: II REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, PIRACICABA, SP. **Anais da II Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Piracicaba, 1987, p.31-35.

SANHUEZA, R.M.V. Controle biológico de fitopatógenos em casa de vegetação. IN: IV REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, PIRACICABA, SP. **Anais da IV Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Campinas, 1991, p.107-114.

- SEQUEIRA, L. The acquisition of systemic resistance by prior inoculation. IN: DALY, J.M & URITANI, I.(Editors) **Recognition and Specificity in Plant Host-Parasite Interactions**. Tokio, Japan. Science Society, 1979, p.231-251.
- SEQUEIRA, L. Mechanisms of induced resistance in plants. **Annual Review of Microbiology**, 37:51-79, 1983.
- SHARROCK, K.R. & HALLET, I.C. Physiology of *Botrytis* infection in kiwifruit. **Acta Horticultural**, 297:551-557, 1991.
- SHEERE, M.P. & LUKE, P. Inability of *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leo et Sug. to survive as a saprophyte in soil *in situ*. **Plant and Soil**, 74: 141-144, 1983.
- SIDDIQUI, M.R.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, P. Longevity an pathogenicity of *Colletotrichum* spp. in seed stored at 5°C. **Seed Science & Technology**, 11:353-361, 1983.
- SILVA, S.R. Aspectos do controle da antracnose em plantas de milho (*Zea mays* L.), mantidas em casa de vegetação, pelo emprego de *Sacharomyces cerevisiae* Meyen. Piracicaba, 1989. 81p. (MESTRADO - ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"/USP).
- SILVA, S.R. & PASCHOLATI, S.F. *Saccharomyces cerevisiae* protects maize plants, under greenhouse conditons, against *Colletotrichum graminicola*. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, 99(2): 159-167, 1992.
- SMITH, E.F.; BROWN, N.A. & TOWSED, C.O. Crown gall of plants: its cause and remedy. **U.S. Department of Agriculture Bureau Plant Industry Bulletin**, 213: 1911.

- SNYDER, B.A. & NICHOLSON, R.L. Synthesis of phytoalexins in sorghum as a site-specific response to fungal ingress. **Science**, **248**:1637-1639, 1990.
- SOSA-ALVAREZ, M.; MADDEN, L.V. & ELLIS, M.A. Effects of temperature and wetness duration on sporulation of *Botrytis cinerea* on strawberry leaf residues. **Plant Disease**, **79**(6):609-615, 1995.
- STACKMAN, E.C. Relation between *Puccinia graminis* and plants highly resistant to its attack. **Journal of Agricultural Research**, **4**: 191-200, 1915.
- STANGARLIN, J.R. & PASCHOLATI, S.F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**, **20**(1): 16-21, 1994.
- STANGARLIN, J.R.; PICCININ, E.; DA GLORIA, B.A.; OSWALD, W. & PASCHOLATI, S.F. Aspectos histológicos e bioquímicos da interação *Exserohilum turcicum* e tecido foliar de sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, **19**:(Suplemento), 1994, p.274.
- STOESSL, A. Secondary plant metabolites in plant disease resistance. II - Phytoalexins. **Fitopatologia Brasileira**, **11**: 25-53, 1986.
- TENKOUANO, A.; MILLER, F.R.; HART, G.E.; FREDERIKSEN, R.A. & NICHOLSON, R.L. Phytoalexin assay in juvenile sorghum: an aid to breeding for antracnose resistance. **Crop. Science**, **33**:243-248, 1993.
- TOLEDO, C. (coordenador) et al. Pragas e doenças do maracujá, Campinas, **Comunicado Técnico CATI**, 1992, nº 96, 9p.

- TOKESHI, H. Manejo da microflora epífita no controle de doenças de plantas. IN: IV REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO DE DOENÇAS DE PLANTAS, PIRACICABA, SP. **Anais da IV Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**, Campinas, 1991, p.32-62.
- TORRES FILHO, J & PONTE, J. Estudo sobre o controle da bacteriose ou "morte precoce" (*Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*) do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Fitopatologia Brasileira**, 19 (1): 34-38, 1994.
- TSCHEN, J.S.M. Control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. **Transcontinental Mycological Society of Japan**, 28: 483-493, 1987.
- ULLSTRUP, A.J. A comparison of monogenic and polygenic resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. **Phytopathology**, 60:1597-1599, 1970.
- URBASCH, I. *In vivo* - Untersuchungen zur Entstehung und Funktion der Chlamydosporen von *Botrytis cinerea* Pers. am Wirt-Parasit-System *Fuchsia hybrida* - *B. cinerea*. **Journal of Phytopathology**, 117:276-286, 1986.
- VALARINI, P.J.; LASCA, C.C.; VECHIATO, M.H.; SCHMIDT, J.R.; DION, P. & CHIBA, S. Tratamento de sementes de sorgo (*Sorghum* sp.) com fungicidas visando o controle de *Colletotrichum graminicola* e outros fungos associados à sementes. **Fitopatologia Brasileira**, 13 (3): 238-243, 1988.
- VANDERPLANK, J.E. **Plant Diseases: Epidemics and Control**. New York, Academic Press, 1963, 349p.
- VANDERPLANK, J.E. **Disease Resistance in Plants**. New York, Academic Press, 1968, 206p.

- VASUDEVA, R.S.; SUBBATAN, T.B.; SASTRY, M.L.M.; RANGSWAMI, G. & IYENGAR, M.R.S. Bulbiformin, an antibiotic produced by *Bacillus subtilis*. **Annual Review of Applied Biology**, 46: 336-345, 1958.
- VIZVARY, M.A. & WARREN, H.L. Survival of *Colletotrichum graminicola* in soil. **Phytopathology**, 72(5):522-525, 1981.
- WANG, Z.N.; COLEY-SMITH, J.R. & WAREING, P.W. Dicarboximide resistance in *Botrytis cinerea* in protected Lettuce. **Plant Pathology**, 35:427-433, 1986.
- WARD, H.M. Recent researches on the parasitism of fungi. **Annals of Botanic**, 19: 1-54, 1905.
- WINDELS, C.E. & LINDOW, S.E. **Biological Control on the Phylloplane**. 2nd edition, Saint Paul, The American Phytopathological Society, 1985, 169p.