

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE  
*CAMPUS* DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA - PPGA  
MESTRADO E DOUTORADO

SIDNEI FRANCISCO MÜLLER

**CUSTO ADAPTATIVO DA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA POR *Saccharomyces  
boulardii* EM FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PR

2011

SIDNEI FRANCISCO MÜLLER

**CUSTO ADAPTATIVO DA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA POR *Saccharomyces  
boulardii* EM FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para a obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PR

2011

*“Cada pessoa em sua existência pode ter duas atitudes  
construir ou plantar.  
Os construtores podem demorar anos em suas tarefas, mas um dia terminam aquilo que estavam  
fazendo.  
Então param e ficam limitados por suas próprias paredes.  
A vida perde o sentido quando a construção acaba.  
Mas existem os que plantam. Estes, às vezes, sofrem com tempestades, com as estações, e  
raramente descansam.  
Mas ao contrário de um edifício,  
O jardim jamais pára de crescer.  
E, ao mesmo tempo que exige atenção do jardineiro,  
Também permite que, para ele,  
A vida seja uma grande aventura.  
Os jardineiros sempre se reconhecerão entre si  
Porque sabem que na história de cada planta  
Está o crescimento de toda a Terra.”*  
(Paulo Coelho)

*A todos os que plantam,  
Ao avô Osvaldo (in memoriam),  
o mestre jardineiro que hoje as flores do céu cultiva,  
sem o qual nunca me tornaria num sementeiro.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, criador de tudo.

A Ivone, minha mãe pelos incentivos recebidos, e a minha avó Elvira pela compreensão, sem as quais nada disso seria possível.

Ao orientador Prof. Dr. José Renato Stangarlin pelo seu apoio e grandes ensinamentos repassados.

A Cristiane C. Meinerz, grande amiga e companheira de tantas horas difíceis e também boas, pelos auxílios no laboratório e nos trabalhos.

A Márcia Vargas Toledo, pelos grandes ensinamentos, pelas portas que ajudou a abrir e, sobretudo a amizade.

A Deise Dalazen Castagnara pelos incentivos e auxílios prestados em vários trabalhos.

A Gilmar Franzener, pelos auxílios no laboratório, e sobretudo pelos ensinamentos e amizade.

A Marco A. Nascimento pela amizade e andanças pelo Brasil.

A Juliano Casagrande e Luciana Cleci de Oliveira pela amizade e conhecimentos repassados.

A Simone Grisa e Elisangela Belandi Loss pelos incentivos recebidos.

A toda equipe do CAPA – Centro de Apoio ao Pequeno Agricultor, que da minha vida fazem parte.

Ao Prof. Dr. Odair Kuhn por sempre estar disposto a ajudar e ensinar.

Aos que em algum momento duvidaram da minha capacidade.

A toda a família.

A todos que de alguma forma estiveram presentes e contribuíram para a realização desta obra.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	12
2.1 CONTROLE ALTERNATIVO DE DOENÇAS.....	13
2.2 MECANISMOS DE RESISTÊNCIA NAS PLANTAS.....	14
2.3 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA.....	15
2.4 CUSTOS DA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA.....	17
2.5 LEVEDURAS NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA.....	19
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 TRATAMENTOS.....	21
3.2 OBTENÇÃO DE CÉLULAS E FILTRADO DE CULTURA DE S. BOULARDII.....	21
3.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	22
3.4 IMPLANTAÇÃO DOS ENSAIOS.....	22
3.5 VARIÁVEIS AVALIADAS.....	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	24
4.1 PARÂMETROS FITOSSANITÁRIOS.....	24
4.2 PARÂMETROS PRODUTIVOS.....	28
5 CONCLUSÕES.....	35
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

**LISTA DE TABELAS**

- Tabela 1.** Número de vagens por planta, grãos por vagem, massa de 100 grãos e produtividade de feijoeiro cv. Rosinha safra da seca após tratamento com indutores de resistência derivados de *Saccharomyces boulardii*. Mal. C. Rondon/PR, 2009.....29
- Tabela 2.** Número de vagens por planta, grãos por vagem, massa de 100 grãos e produtividade de feijoeiro cv. Rosinha safra das águas após tratamento com indutores de resistência derivados de *Saccharomyces boulardii*. Mal. C. Rondon/PR, 2009.....30
- Tabela 3.** Número de vagens por planta, grãos por vagem, massa de 100 grãos e produtividade de feijoeiro cv. Rosinha safra da seca após tratamento com indutores de resistência derivados de *Saccharomyces boulardii*. Mal. C. Rondon/PR, 2010.....31

**LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1. Dados climatológicos para o ano de 2009 da unidade climatológica da UNIOESTE, Mal. C. Rondon/PR, localizada a latitude 24° 33' 22" S e longitude 54° 03' 24" W. Destaque dado ao período experimental do primeiro (safra da seca, 2009) e segundo ensaio (safra das águas, 2009).....25
- Figura 2. Dados climatológicos para o ano de 2010 da unidade climatológica da UNIOESTE, Mal. C. Rondon/PR, localizado a latitude 24° 33' 22" S e longitude 54° 03' 24" W. Destaque dado ao período experimental do terceiro ensaio (safra da seca, 2010).....26

## RESUMO

O uso de produtos químicos como forma de controle das doenças do feijoeiro é uma prática consagrada para a cultura. Apesar de apresentar resultados satisfatórios para a maioria das doenças, trata-se de uma forma de controle que pode resultar em sérios riscos ao meio ambiente e a saúde humana. Dessa maneira, práticas de controle fitossanitário alternativas tem recebido maior importância, principalmente pela sua aplicabilidade direta por pequenos produtores. O controle alternativo engloba o controle biológico e a indução de resistência, que difere do primeiro por não agir sobre um microrganismo específico, mas por proporcionar que a planta tratada ative suas defesas latentes para estar preparada quando um patógeno tentar infectá-la. Moléculas de origem biótica e abiótica capazes de induzir resistência em plantas são chamadas elicitores. Dentre os de origem biótica, os extratos de leveduras como *Saccharomyces cerevisiae*, tem sido empregados como indutores de resistência para o controle de diversos patógenos de diferentes culturas. *S. cerevisiae* já vem sendo empregada com sucesso, mas busca-se constantemente outros organismos com capacidade de utilização no controle alternativo. Assim, a levedura *Saccharomyces boulardii* vem sendo pesquisada visando seu uso no controle biológico de patógenos de plantas. Em três ensaios de campo, nas safras das secas de 2009 e 2010, e das águas de 2009, utilizando o feijoeiro do grupo Rosinha, avaliou-se a possível eficiência da levedura *S. boulardii* como indutor de resistência e o custo adaptativo. Realizaram-se aplicações foliares com a levedura na sua forma comercial, com a massa de células obtida da filtração do meio de cultura YEPG com essa levedura e com o filtrado desse meio. Foram avaliados a produtividade, massa de 100 grãos e número de grãos e vagens por planta. Constatou-se a baixa incidência de patógenos nos ensaios, impossibilitando sua mensuração por escala diagramática. Em virtude de ambiente em equilíbrio, pode ter havido o controle biológico dos patógenos, a teoria da trofobiose, ou mesmo a indução natural de resistência tanto por microrganismos atuantes nas plantas, por rizobactérias e pelo uso de biofertilizantes foliares. Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros avaliados, evidenciando possível ausência de custo metabólico pela aplicação da levedura. Esse possível custo adaptativo pode ter sido ocultado pelo estado nutricional equilibrado das plantas, assim como por possível indução de resistência em todos os tratamentos pelas condições locais de cultivo e manejos empregados. Em condições agrícolas nutricionais e ambientalmente equilibradas, aplicações foliares da levedura *S. boulardii* não resultam em custo energético aparente.

**Palavras-chave:** custo metabólico, controle biológico, resistência induzida.

## ABSTRACT

Fitness cost of induction resistance by *Saccharomyces boulardii* in bean (*Phaseolus vulgaris*)

The use of chemicals as a means of controlling bean diseases is an established practice for the crop. Despite the satisfactory results for most diseases, it is a form of control that can result in serious risk to the environment and human health. Thus, alternative pest control practices have received a great importance, mainly because of its direct applicability for small producers. The alternative control includes biological control and resistance induction, which differs from the first not to act on a specific microorganism, but for providing the plant treated to activate its latent defenses to be prepared when a pathogen trying to infect it. Molecules of biotic and abiotic origin capable of inducing resistance in plants are called elicitors. Among the biotic origin the extracts of yeasts such as *Saccharomyces cerevisiae*, has been used to induce resistance to control various pathogens from different cultures. *S. cerevisiae* has been successfully employed, but constantly seeks other organisms capable of use in alternative control. Thus, the yeast *Saccharomyces boulardii* has been researched to its use in biological control of plant pathogens. In three field assays in dry seasons of 2009 and 2010, and rain season used in 2009, using the bean group Rosinha, was evaluated the effectiveness of the yeast *S. boulardii* as inducer of resistance and the metabolic cost embedded in it. Foliar applications were carried out with yeast in commercial form, with the mass of cells obtained from the filtering medium YEPG with this yeast and with the filtrate of the medium. The yield, weight of 100 grains, grain number per plant and pods were evaluated. It was noted the low incidence of pathogens in the assays, precluding their measurement by diagrammatic scale. Because the balanced environment, there may have been the biological control of pathogens, the theory of trophobiosis, or even the induction of natural resistance both by microorganisms acting in plants, by rhizobacteria and by the use of biofertilizers leaf. There were no significant differences in parameters, indicating a possible absence of metabolic cost for the application of yeast. This possible fitness cost may have been obscured by the nutritional balance of plants, as well as possible induction in all treatments by local conditions of cultivation and management used. Under agricultural and environmentally balanced nutrition, foliar applications of yeast *S. boulardii* did not result in apparent metabolic cost.

**Keywords:** metabolic cost, biological control, induced resistance.

## 1 INTRODUÇÃO

Na natureza a evolução planta-patógenos é concomitante, resultando numa forma de manter o equilíbrio do ambiente. Pelo fato da resistência ser a regra e pela elevada diversidade genética, a maioria das espécies vegetais perduram até os dias atuais. No entanto, com o desenvolvimento da agricultura e a simplificação do ambiente, muitos patógenos pela elevada capacidade adaptativa e diversidade genética, tiveram nesses cultivos homogêneos todas as facilidades para vencer as barreiras vegetais, o que levou a humanidade a grandes catástrofes alimentares na história, com milhares de mortos.

Dessa forma, o homem trava a séculos uma “guerra” contra patógenos. Com o desenvolvimento da ciência, novas tecnologias passaram a ser utilizadas no controle de doenças, mas sempre aumentando ainda mais a simplificação do ambiente como regra geral. Dessa maneira, o controle dos patógenos, principalmente após a Revolução Verde, tem se restringido ao controle químico, que certamente trouxe benefícios no aumento das produtividades dos cultivos, mas muitas vezes não sendo avaliados os impactos socioambientais dessas tecnologias.

Nos últimos anos a sociedade começa a questionar o real custo desse controle. Além da contaminação do ambiente e sérios riscos a saúde humana, o controle químico tem gerado a seleção de estirpes/raças de patógenos resistentes a moléculas químicas de amplo espectro. Ainda corrobora a isso o fato de que para alguns patógenos o controle mediante pesticidas torna-se inviável, como para bacterioses e nematóides, ou mesmo inexistente como para as viroses. Dessa forma, alternativas tem sido buscadas, entre as quais a recuperação por matérias silvestres como fornecedores de genes de resistência para materiais comerciais, o controle biológico e manejo do ambiente, a manipulação genética e a indução de resistência.

A indução de resistência a doenças em plantas tem estado sob os holofotes na atualidade. Trata-se de uma tecnologia na qual a planta é estimulada a ativar suas próprias defesas latentes após o tratamento com um agente biótico ou abiótico, não atuando desta forma sobre os patógenos. Como vantagens aos meios tradicionais, não apresenta especificidade a patógenos, tem durabilidade e pode apresentar características sistêmicas nas plantas.

Entretanto, para conseguir esses efeitos paga-se um preço. Em inúmeros estudos tem-se verificado diferentes custos associados a essa indução, que na maioria das vezes resultam

em custo adaptativo, podendo interferir não apenas diretamente sobre a realocação de fotoassimilados que iriam para o crescimento e órgão de reserva, mas também interferir sobre relações micorrízicas, insetos e plantas vizinhas. Isso pode se tornar mais claro ainda na ausência de patógenos, o que evidentemente torna desnecessário a ativação de rotas metabólicas específicas para a produção de compostos relacionados à defesa do vegetal.

Dessa forma, há necessidade do aumento de estudos relacionados a esse método de controle, tanto na descoberta de novos eliciadores e suas diferentes formas de atuação dentro do sistema vegetal, como intervalos de aplicações e doses para os diferentes indutores e patossistemas.

Evidenciando-se a ausência de estudos a campo com eliciadores de origem biótica para o feijoeiro, o presente trabalho buscou avaliar o custo adaptativo associado a indução de resistência com o uso da levedura *Saccharomyces boulardii* nessa cultura.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As doenças de plantas ocorrem na natureza com o objetivo, em parte, para manter o equilíbrio biológico e a ciclagem de nutrientes, sendo, desse ponto de vista, benéficas. O que se observa é que as doenças e as pragas ocorrem na forma endêmica. Não ocorrem epidemias que poderiam destruir as espécies vegetais, haja vista que colocaria em risco a sobrevivência dos patógenos. Porém, as epidemias são freqüentes em ecossistemas agrícolas. A interferência humana, alterando o equilíbrio da natureza, resulta na ocorrência de epidemias. Uma das condições que favorecem o aumento da população de patógenos e pragas de forma epidêmica é o cultivo de plantas geneticamente homogêneas, o que é contrário à diversidade de variedades (BERGAMIN *et al.*, 1995).

As doenças de plantas são responsáveis por altas perdas na agricultura. Os métodos convencionais de controle são baseados na aplicação de agentes químicos e melhoramento genético visando à resistência. O uso de agentes químicos e sua presença no solo são altamente perigosos ao meio ambiente, especialmente quando esses químicos são aplicados repetitivamente de modo exagerado no solo para o controle de patógenos. Métodos clássicos de melhoramento dependem da disponibilidade de genes de resistência, os quais freqüentemente tem curta durabilidade (PIETERSE *et al.*, 2005).

O uso intensivo de pesticidas na agricultura tem, reconhecidamente, promovido diversos problemas de ordem ambiental, como a contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais; a intoxicação de agricultores; a resistência de patógenos, de pragas e de plantas invasoras a certos pesticidas; o desequilíbrio biológico, alterando a ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica; a eliminação de organismos benéficos; e a redução da biodiversidade (BETTIOL & GHINI, 2001).

O uso contínuo e exclusivo de pesticidas tem resultado na ocorrência de pragas ou patógenos resistentes a determinados produtos, que nem sempre é diagnosticada (GHINI & KIMATI, 2000). Assim, esses pesticidas continuam a ser aplicados, mesmo tendo sua eficiência comprometida pela ocorrência de resistência no organismo alvo. Os efeitos dessas aplicações nos organismos não alvo também podem causar sérios desequilíbrios no agroecossistema. O surgimento de doenças iatrogênicas (as que ocorrem devido ao uso de pesticidas) é um exemplo de problemas que podem ocorrer (BETTIOL & GHINI, 2001).

Ainda segundo Bettiol & Ghini (2001), estima-se que 90% dos pesticidas aplicados no campo são perdidos, sendo dissipados para o ambiente e tendo como ponto final reservatórios de água e, principalmente, o solo. As perdas se devem, de forma geral, à aplicação inadequada, tanto em relação à tecnologia, quanto ao momento de aplicação. Em alguns casos, porque a aplicação foi feita para dar proteção contra um patógeno que não estão presentes na área.

Para Vallad & Goodman (2003), há um grande desafio para o controle de doenças no século XXI. O uso de produtos químicos atualmente tem se limitado devido a problemas causados ao meio ambiente, bem como os altos custos envolvidos e o risco potencial de surgimento de populações de patógenos resistentes aos produtos químicos, e a resistência genética tem se limitado devido às características agronômicas indesejáveis e à baixa durabilidade.

## **2.1 Controle alternativo de doenças**

Um dos enfoques da agricultura orgânica é o controle alternativo de doenças de plantas, no qual se incluem o controle biológico e a indução de resistência, não sendo incluídos nesse conceito o controle químico clássico e o melhoramento genético (BETTIOL, 1991). O controle biológico pode ser definido como o controle de um microrganismo através da ação de outro microrganismo antagônico, o qual pode atuar por meio de antibiose, parasitismo, competição, predação ou hipovirulência (COOK & BAKER, 1983). Por outro lado, a indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em respostas aos tratamentos com agentes bióticos ou abióticos (HAMMERSCHMIDT & DANN, 1997).

A busca de formas alternativas de controle vem se intensificando, visando reduzir os gastos e os problemas causados pela utilização abusiva destes produtos (GOMES et al., 2007). Dessa forma, um dos enfoques da agricultura de base agroecológica é o controle alternativo de doenças de plantas, com o uso de técnicas alternativas para o controle de pragas e doenças, como o controle biológico, a indução de resistência em plantas e o uso de extratos naturais com propriedades antimicrobianas e ou indutoras de resistência (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003).

## 2.2 Mecanismos de resistência nas plantas

Assume-se em Fitopatologia, que imunidade é regra e suscetibilidade exceção. Se assim não fosse, qualquer patógeno seria capaz de infectar qualquer planta e, a curto prazo, em termos evolutivos, os vegetais desapareceriam da face da Terra. Isso não acontece exatamente porque os mecanismos de defesa de plantas contra patógenos existem em multiplicidade e são extremamente eficientes (ROMEIRO, 1999).

Segundo Agrios (2005), a resistência de um hospedeiro a uma doença pode ser definida sob o aspecto fisiológico, como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos.

Os mecanismos de resistência são geralmente subdivididos em: pré-formados (ou passivos, constitutivos) e pós-formados (ou ativos induzíveis). Os fatores de resistência pré-formados incluem aqueles já presentes nas plantas antes do contato com os patógenos. No caso dos pós-formados, estes mostram-se ausentes ou presentes em baixos níveis antes da infecção, sendo produzidos ou ativados em resposta a presença dos patógenos. Os fatores estruturais da planta atuam como barreiras físicas, impedindo a entrada do patógeno e a colonização dos tecidos, enquanto que as reações bioquímicas que ocorrem nas células do hospedeiro produzem substâncias que mostram-se tóxicas ao patógeno e criam condições adversas ao crescimento deste no interior da planta (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

São exemplos de cada grupo:

- Pré-formados:
  - Estruturais: cutícula, tricomas, estômatos, fibras/vasos condutores.
  - Bioquímicos: fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas e inibidores protéicos.
- Pós-formados:
  - Estruturais: papilas, halos, lignificação, camadas de cortiça, tiloses.
  - Bioquímicos: fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese.

Através de mecanismos induzidos de defesa ou após o reconhecimento de um patógeno, ocorre a produção de um sinal, liberado a partir da folha infectada, sendo translocado intracelularmente para outras partes da planta. Esse sinal desencadeia mudanças em fluxos iônicos ao longo da membrana plasmática, eventos de fosforilação de várias proteínas, geração de espécies reativas de oxigênio e por fim induz reações de defesa, resultando na resistência induzida. Essa resistência é relatada em diversas espécies,

apresentando defesa contra vários microrganismos, necessitando de um tempo após o tratamento indutor para que o mesmo se estabeleça e para que seja mantido por um longo período (MÉTRAUX, 2001).

Uma barreira química importante realizada pela planta é a reação de hipersensibilidade, que consiste em um dos mais eficientes mecanismos de defesa da planta a patógenos, onde há a indução da produção de fitoalexinas e de várias proteínas de defesa codificadas por gene da planta (STINTIZI et al., 1993). Essa reação pode ser vista como uma espécie de “suicídio” de algumas poucas células da planta em prol da sobrevivência das demais e é considerada como uma forma de defesa induzida, culminando na parada do crescimento e do desenvolvimento do patógeno nos tecidos da planta. A resposta ocorre em função do reconhecimento da infecção, por parte do hospedeiro, como uma consequência da incompatibilidade entre planta e patógeno (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Os mecanismos de defesa das plantas contra fitopatógenos envolvem alterações metabólicas que estão relacionadas com mudanças na atividade de enzimas chaves, como a peroxidase e fenilalanina amônia-liase, nos metabolismos primários e secundários, bem como enzimas relacionadas diretamente na atividade de defesa, como as  $\beta$ -1,3-glucanases (CAVALCANTI et al., 2005 b).

As proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP) são responsáveis pelas maiores mudanças quantitativas nos teores de proteína solúvel durante as respostas de defesa vegetal a fitopatógenos (STINTIZI et al., 1993). Como conceito geral, pode-se dizer que as proteínas-RP são induzíveis no hospedeiro em resposta à infecção por um patógeno ou por estímulos abióticos, e podem estar relacionadas com a resistência não específica do hospedeiro ao patógeno (LINTHORST, 1991).

### **2.3 Indução de resistência**

A indução de resistência em plantas a patógenos é conhecida há mais de 50 anos, mas somente muito tempo depois o fenômeno começou a ser investigado de forma mais direcionada para uma aplicação prática, visando aumentar a produtividade de culturas pelo controle de enfermidades de plantas (ROMEIRO, 2008). Segundo Barros et al. (2010), Bernard em 1911, trabalhando com orquídeas e fungos de solo, observou que pedaços de bulbos sadios quando em contato com esses fungos não eram infectados, mas que a infecção

ocorria quando os bulbos eram previamente mantidos a 55°C/35 minutos e por isso o pesquisador hipotetizou que os bulbos não tratados respondiam a secreções produzidas pelos fungos com a síntese de substâncias com propriedades antimicrobianas, correspondendo na indução de resistência.

A resistência induzida consiste no aumento da resistência por meio da utilização de agentes externos, sem qualquer alteração no genoma da planta (STADNIK, 2000), isso ocorrendo de maneira não específica por meio da ativação de genes envolvidos em diversas respostas de defesa (KUHN, 2007).

Em função da rota de sinalização que leva a expressão das defesas, a indução de resistência pode ser dividida em resistência induzida por microrganismos patogênicos que tem o ácido salicílico como principal sinalizador, levando a expressão principalmente de proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas-RP), sendo designada de resistência sistêmica adquirida (SAR) (MAUCH-MANI & MÉTRAUX, 1998), e a resistência induzida por bactérias promotoras de crescimento (PRPG) que é conhecida com resistência sistêmica induzida (ISR), cujos principais sinalizadores são o ácido jasmônico e o etileno (PIETERSE et al., 2005).

SAR - Resistência Sistêmica Adquirida e ISR - Resistência Sistêmica Induzida são fenômenos distintos (STICHER et al., 1997), mas fenotipicamente semelhantes em que plantas, após exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de indução como também em outros locais dele distantes, de forma mais ou menos generalizada. O termo “adquirido” refere-se quando o elicitador é um agente patogênico ou parasita, já o termo “induzido” é empregado quando esse agente é benéfico, simbiote ou abiótico (BARROS et al., 2010).

Os indutores de resistência em vegetais podem ser classificados em bióticos e abióticos, de acordo com seu modo de ação indutor. Indutores bióticos são organismos vivos, ou partes dos mesmos, que desencadeiam processos de defesa, com ação sistêmica ou localizada nos vegetais. Os indutores abióticos podem ser moléculas sintéticas que mimetizam o sinal do patógeno, ativando genes relacionados à defesa, aumento na produção de metabolitos secundários como compostos fenólicos, fitoalexinas e o ácido salicílico, ou ainda ferimentos, estresses por temperatura, radiação UV ou salinidade (ATHAYDE SOBRINHO et al., 2005).

Estes agentes, de origem biótica ou abiótica, capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de defesa nas plantas são chamados de eliciadores (SMITH, 1996), podendo apresentar natureza química variada, tais como oligossacarídeo, glicoproteínas, oligopeptídeos

e ácidos graxos, o que demonstra que não há uma característica estrutural única que determine a atividade eliciadora (STANGARLIN et al., 1999).

A proteção conferida pelo tratamento é capaz de proteger a planta contra infecções subseqüentes por diferentes patógenos (KUC, 1995). A proteção das plantas contra fitopatógenos, através da resistência induzida, exhibe vantagens como: efetividade contra vírus, bactérias, fungos, nematóides e insetos; estabilidade devido à ação de diferentes mecanismos de resistência; caráter sistêmico, persistente e natural de proteção; transmissão por enxertia; e presença do potencial genético para resistência nas plantas suscetíveis (PASCHOLATI, 2003). A proteção induzida é dependente do intervalo de tempo entre o tratamento com o indutor e a subseqüente inoculação do patógeno (tratamento desafiador) (PASCHOLATI & LEITE, 1995). Essa dependência indica que mudanças específicas no metabolismo da planta, envolvendo a síntese e/ou acúmulo de substâncias, são importantes no fenômeno da resistência induzida.

Dentre esses mecanismos de resistência pode-se mencionar aumento na atividade da enzima oxidativa peroxidase, quitinases,  $\beta$  – 1,3 glucanases, outras proteínas relacionadas à patogênese em geral e glicoproteínas ricas em hidroxiprolinas, bem como o acúmulo de fitoalexinas e a lignificação de tecidos (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

Indutores de resistência alternativos têm sido utilizados nos últimos anos, como os extratos de plantas medicinais e óleos essenciais como propriedades antimicrobianas e/ou indutoras de resistência (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003). Portanto, reconhece-se o grande potencial de tais compostos como uma nova geração de produtos para controle de doenças, reduzindo o uso de fungicidas e oportunizando o uso de agentes de biocontrole (LYON & NEWTON, 1997).

#### **2.4 Custos da indução de resistência**

O uso de indutores nem sempre resulta na produção de benefícios, pois com a ativação da resistência há demanda elevada de energia na planta para a síntese dos mecanismos de defesa vegetal (SILVA et al. 2003). O custo fisiológico de resistência é o efeito negativo resultante da expressão da resistência sob determinadas condições em que a resistência não é necessária, como na ausência de um patógeno (DIETRICH et al., 2005). Se a energia é alocada para a proteção, onde não há condições para a ocorrência de doença, o investimento

pode não valer a pena e o custo ser muito maior do que simplesmente o valor de aplicação de um indutor (KUHN, 2007).

Um modelo para demonstrar o balanço energético na planta foi proposto por Gayler et al. (2004), onde assimilados são disponibilizados através da fotossíntese e utilizados para o crescimento produzindo biomassa estrutural. Parte dos assimilados é carregada para gerar defesas constitutivas e o excedente é conduzido para tecidos de reserva. Quando a planta necessitar, estes fotoassimilados são carregados para a defesa induzível e se a disponibilidade dos mesmos for baixa, pode ocorrer a inversão por parte das reservas, e estas, voltam a ser disponíveis.

Além do custo energético, existe o custo metabólico, que é explicado pela repressão de alguns genes (KUHN, 2007). Esta repressão pode ocorrer para balancear o metabolismo total e equilibrar os custos dentro do sistema planta, como efeito compensatório (SOMSSICH & HAHLBROCK, 1998), dando menor importância a uma atividade que no momento se tornou secundária (LOGEMANN et al., 1995).

Estes efeitos negativos podem prejudicar as interações simbióticas com microrganismos que são benéficos para a planta, tais como micorrizas, bem como interferir na resistência a insetos, mesmo quando tornam a planta mais resistente a patógenos. Os efeitos negativos também podem redirecionar metabolitos e energia utilizada para o crescimento e outros processos importantes da planta, incluindo respostas de defesa (HEIL & BALDWIN, 2002). A teoria do “custo de defesa” surgiu a partir da correlação negativa entre a taxa máxima de crescimento da planta e a concentração de compostos secundários relacionados à defesa de fatores bióticos, como a celulose, hemicelulose, terpenóides e compostos fenólicos (HOFFLAND et al., 1996).

Ácido salicílico (AS) e ácido jasmônico (AJ) são dois componentes importantes de vias metabólicas distintas relacionados à resistência induzida. Ambos os compostos são hormônios envolvidos nos processos de desenvolvimento das plantas, como flores e formação de frutos. Uma série de efeitos relevantes no aumento do AJ e AS podem resultar em mudanças nessas funções, devido ao papel defensivo que estes compostos desempenham (HEIL, 2001).

Pouco se sabe ainda sobre a influência do genótipo e das condições ambientais na expressão da resistência induzida (WALTERS et al., 2005). O menor custo da indução de resistência está principalmente relacionado ao fornecimento de nitrogênio. Uma possível explicação pode ser devido ao fato dos mecanismos de resistência serem baseados na síntese de proteínas e de enzimas envolvidas em diferentes caminhos metabólicos, o que requer uma

maior demanda por nitrogênio, o qual é suprido por fontes exógenas (KUHN, 2007). Sendo assim, um adequado fornecimento de nitrogênio é essencial para o pleno funcionamento dos processos da planta sem interferir no crescimento (MALAVOLTA, 2006), porém devemos lembrar a lei de Liebig ou do mínimo, onde todos os fatores necessários a sobrevivência da planta devem estar presentes, de nada adiantando haver excesso de todos se um estiver em falta, incluindo nutrientes, água, temperatura, luminosidade, entre outros. Entretanto, se a ativação de defesas demanda síntese de novas proteínas e/ou enzimas específicas, de alguma forma a planta precisa mais nitrogênio, assim, se o que está vindo da absorção do solo não é o suficiente, a planta deixa de investir em crescimento para investir em defesas (SUZUKI et al., 2006).

Estudos envolvendo interações entre estresses abióticos e resistência estão apenas começando a ser investigados. Ao avaliar a produção de sementes em plantas tratadas com indutores de resistência e sujeita a condições limitantes ambientais, tais como um baixo suprimento de nitrogênio, o estresse hídrico e a competição com outras plantas, Dietrich et al. (2005) observaram custo fisiológico em alguns casos, mas não em outros, com a ocorrência de um aumento na produção de sementes em plantas tratadas com os indutores em relação às plantas sem tratamento, dependendo da combinação de fatores ambientais. Segundo Dietrich (2004), o nitrogênio é um dos principais fatores que limitam o crescimento das plantas e afetar fortemente a expressão da resistência, se constitutiva ou induzida.

Em plantas de pimentão tratadas com acibenzolar-S-metil (ASM) na ausência de doença, foi observada uma redução na produção e na maturação de frutos, reforçando a idéia de um custo energético para a planta cuja resistência é ativada (ROMERO et al., 2001).

Iriti & Faoro (2003) conduzindo por dois anos experimento a campo com feijão, submetido a uma única aplicação de ASM com a primeira folha totalmente expandida, observaram redução não significativa na produção, assim como o menor número de vagens por planta e menor massa das sementes. Dessa forma os autores concluíram que não ocorreu custo associado a indução de resistência com ASM.

## **2.5 Leveduras na indução de resistência**

Suspensões de células e outros preparados obtidos a partir de *S. cerevisiae* são capazes de proteger plantas de café contra *Hemileia vastatrix*. Para o cultivar de cafeeiro Mundo Novo, MARTINS et al. (1986) verificaram que o filtrado proporcionou controle da doença, o

que envolveu a indução de resistência, pois não houve efeito direto sobre a germinação de uredósporos e formação de apressórios pelo patógeno.

Além das suspensões de células de *S. cerevisiae*, o filtrado de cultivo da levedura inibiu a germinação de esporos e a formação de apressórios de *C. graminicola* e protegeu plantas de milho contra o patógeno (SILVA & PASCHOLATI, 1992). Ainda em plantas de milho, a proteção conferida por *S. cerevisiae* contra *Exserohilum turcicum* envolveu redução no tamanho e no número de lesões por planta, na esporulação do fungo nos tecidos do hospedeiro, além da inibição da germinação e da penetração dos conídios. A resposta protetora foi dependente da concentração da levedura utilizada, bem como do intervalo de tempo entre a aplicação da levedura e a inoculação das plantas, e envolveu antibiose e indução de resistência (STANGARLIN & PASCHOLATI, 1994). Já Kamida et al. (1997) estudando a mesma levedura em mesocótilos de sorgo, verificaram aumento da atividade de fenilalanina amônia-liase e fenóis em resposta a levedura.

Stangarlin et al. (2010) verificaram em estudo com *S. boulardii* na indução de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo e cotilédones de soja, que esta apresentou efeito superior aos tratamentos controles com acibenzolar-S-metil e *S. cerevisiae*, com grande potencial para indução de resistência nestas plantas.

Segundo Merck (2009) a levedura *S. boulardii*, isolada de frutas silvestres tropicais, pode ser encontrada na forma liofilizada no medicamento Floratil<sup>®</sup> na concentração de  $2 \times 10^6$  células/mg<sup>-1</sup> do produto comercial. O produto é utilizado como auxiliar na restauração da flora intestinal e possui antagonismo a *Echerichia coli*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp. e *Candida albicans*.

Até o presente momento não foram encontrados trabalhos com *S. boulardii* em patossistemas vegetais. Desta forma supõe-se que a levedura *S. boulardii* possua efeito indutor de resistência, devido sua ação na produção de fitoalexinas superior à produtos consagrados como indutores de resistência sistêmica em plantas.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual Oeste do Paraná, *Campus* Marechal Cândido Rondon, PR (obtenção da levedura e filtrado de cultura de *S. boulardii*) e três ensaios de campo numa propriedade de Mercedes, PR, no período de 2009 (safras da seca e águas) e 2010 (safra da seca).

#### 3.1 Tratamentos

Os tratamentos foram: testemunha negativa água; testemunha positiva calda sulfocáustica (1,0 %) na safra das águas e Azoxystrobin (200 mg L<sup>-1</sup>) na safra da seca; três concentrações (31,25, 62,50 e 125,00 mg L<sup>-1</sup>) do produto comercial Floratil® (Merck) a base de *S. boulardii*; três concentrações (31,25, 62,50 e 125,00 mg L<sup>-1</sup>) da suspensão de células dessa levedura obtidas do meio de cultura líquido YEPG (extrato de levedura, peptona e dextrose); e três concentrações de filtrado líquido desse meio de cultivo (1 e 5% para a primeira safra e 1; 5 e 10% para as demais safras). Na safra das águas e da seca de 2010 também utilizou-se como controle positivo o indutor acibenzolar-S-metil (ASM 25 g ha<sup>-1</sup> p.c.).

As aplicações foram realizadas aos 17, 27 e 41 dias após a emergência (DAE) para a safra da seca de 2009, aos 18, 24 e 40 DAE para a safra das águas e aos 20, 27, 43 e 50 DAE para a safra da seca de 2010, utilizando um volume de calda de 250 L ha<sup>-1</sup>, sempre ao entardecer do dia.

#### 3.2 Obtenção de células e filtrado de cultura de *S. boulardii*

Células de *S. boulardii* foram obtidas a partir do produto comercial Floratil® (Merck). Para tanto, 100 mg do produto foram colocados em Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 mL de meio de cultivo YEPG autoclavado a 110 °C e 1 atm por 15 minutos. Esses ficaram sob agitação (150 rpm) e escuro a 36 °C por sete dias.

Após sete dias, os meios foram centrifugados a 3.500 rpm obtendo assim a massa de células. O sobrenadante foi filtrado assepticamente em papel Whatman n° 41, obtendo-se

dessa forma o filtrado bruto da cultura. O filtrado e massa de células foram mantidos em geladeira a 4°C, sendo para cada ensaio preparado dois dias antes da primeira aplicação e utilizado a mpreparados antes da primeira aplicação de cada safra.

### 3.3 Delineamento experimental

Cada parcela experimental foi composta por 5 m de comprimento por seis linhas espaçadas a 0,40 m, sendo utilizado como parcela útil os 4 m centrais, bem como as quatro linhas centrais de feijão, resultando em 6,4 m<sup>2</sup>. Cada tratamento apresentou quatro repetições, resultando em 40 parcelas experimentais delineadas em blocos inteiramente casualizados.

### 3.4 Implantação do ensaio

Três ensaios foram conduzidos numa propriedade no município de Mercedes/PR, localizada a 24° 26' 06" S e 54° 10' 29" O, sendo que as épocas de semeadura seguiram os decêndios recomendados por Caramori et al. (2001). O solo do local é classificado como Latossolo Vermelho eutroférico (EMBRAPA, 2006). Nas Figuras 1 e 2 são apresentados os dados climatológicos obtidos da estação climatológica localizada na fazenda experimental "Professor Antonio Carlos dos Santos Pessoa", da UNIOESTE, Mal. C. Rondon/PR, localizado a latitude 24° 33' 22" S e longitude 54° 03' 24" W.

Antes da implantação dos ensaios foi realizada coleta composta para análise química do solo. A análise de solo em novembro de 2008 apresentou as seguintes características: fósforo 5,40 mg dm<sup>-3</sup>; matéria orgânica: 30,07 g dm<sup>-3</sup>; pH em CaCl<sub>2</sub> 4,99; K<sup>+</sup>, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, CTC e Al<sup>+3</sup>, 0,82; 7,06; 1,28; 16,46; e 0,10 cmol<sub>c</sub>dm<sup>-3</sup>, respectivamente, e V 55,65 %.

Em dezembro de 2008 procedeu-se a calagem com aplicação superficial de 2,0 Mg ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico e posterior semeadura de mucuna-preta. Em fevereiro de 2009 o adubo verde foi roçado, sendo realizada a semeadura de feijão cultivar Rosinha em 05 de março de 2009, com espaçamento entre linha de 0,40 metros e população de 360 mil plantas por hectare. Como adubação de base utilizou-se 10, 70 e 30 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O fornecidos via composto, fosfato natural de Araxá e sulfato de potássio. Aos 13 dias após a emergência (DAE) foi realizada adubação de cobertura com 25 e 20 kg ha<sup>-1</sup> de N e K<sub>2</sub>O respectivamente.

A colheita ocorreu aos 70 DAE, sendo em seguida aplicado 1,0 Mg ha<sup>-1</sup> de calcário dolomítico e 50 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, incorporados a 10 cm de profundidade, e 80 kg ha<sup>-1</sup> de semente de aveia preta comum. A aveia foi rolada por rolo faca 25 dias antes da semeadura do segundo ensaio (safra das águas), que ocorreu em 26 de setembro, empregando-se como adubação de base 30, 40 e 20 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O fornecidos via adubação orgânica. Aos 10 DAE aplicou-se adubação de cobertura com 25, 15 e 30 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O fornecidos via esterco de gado curtido. Os tratamentos foram aplicados aos 18, 24 e 40 DAE, e aos 77 DAE procedeu-se a colheita.

Após a colheita da safra das águas, implantou-se milho semeado em alta densidade (100 kg ha<sup>-1</sup> de semente) para a formação de palhada. O local foi roçado 21 dias antes da implantação do terceiro ensaio, que ocorreu em 7 de março, mediante emprego de 20, 70 e 25 kg ha<sup>-1</sup> de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O fornecidos via adubação orgânica e fosfato natural de Araxá. Nesse cultivo não foi empregado adubação de cobertura, sendo os tratamentos aplicados aos 20, 27, 43 e 50 DAE, com a colheita aos 78 DAE. Em todos os ensaios foram realizadas duas aplicações de biofertilizante Supermagro a 2,0 % nos estádios V3 e R1, sem necessidade de controle de pragas. Também foi realizada a inoculação das sementes com EM-4.

### **3.5 Variáveis avaliadas**

Os componentes de produção número de grãos por vagem e número de vagens por planta foram avaliados em 15 plantas escolhidas ao acaso por parcela, além da massa de 100 grãos e produtividade estimada para kg ha<sup>-1</sup>. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de homogeneidade de Bartlett (BARTLETT, 1937) e Hartley (HARTLEY, 1950) e em seguida à análise de variância e teste de médias (Tukey a 5% de probabilidade), utilizando o programa estatístico Sisvar<sup>®</sup> (FERREIRA, 2000).

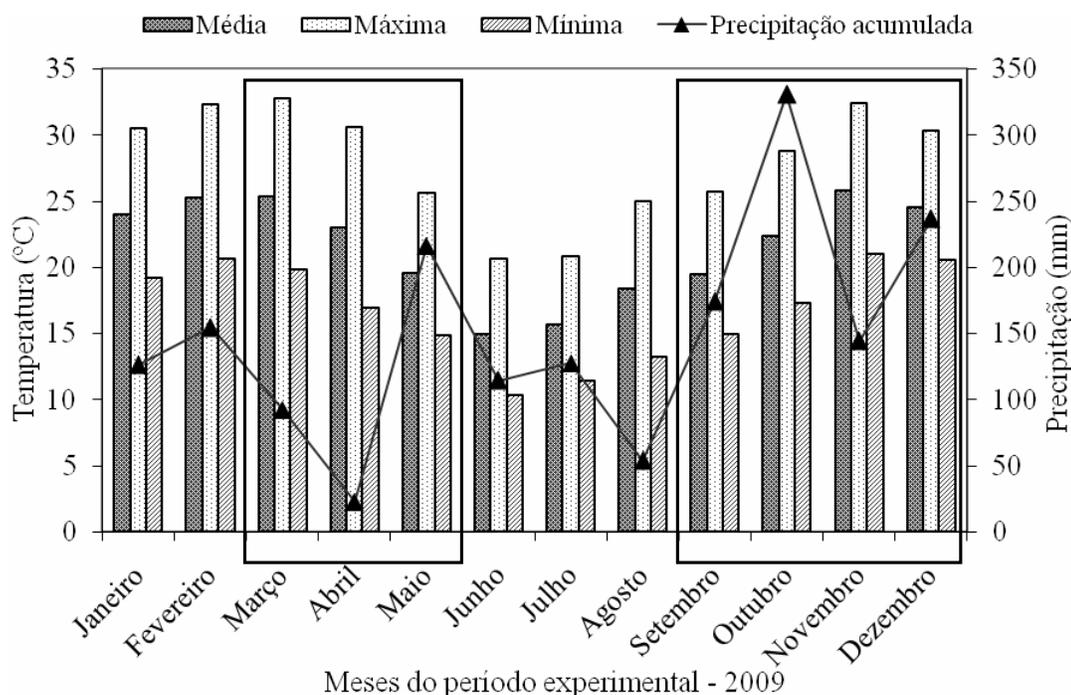
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Parâmetros fitossanitários

Nas condições experimentais não foi possível a avaliação de doenças por meio de escalas diagramáticas, em função da baixa incidência das enfermidades. Isolando-se os três pilares da interação hospedeiro-patógeno-ambiente, verifica-se que a cultivar é suscetível, como constatado por Müller (2007), o qual observou suscetibilidade desta ao crestamento bacteriano comum e oídio, assim como por Müller & Stangarlin (2009) para a antracnose e a ferrugem.

Os patógenos estavam presentes na área, visto que foram observados sintomas em plantas isoladas sob baixa severidade. Foi constatada a presença de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, *Uromyces appendiculatus* e *Colletotrichum lindemuthianum*. As sementes possivelmente estavam contaminadas, principalmente com *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, visto o material propagativo utilizado para implantar os ensaios ser proveniente de campo de produção contaminado com a bactéria. Segundo Paula Jr. & Zambolim (1998), contaminação de 0,5% de sementes pela bactéria é suficiente para ocasionar séria epidemia na cultura a campo.

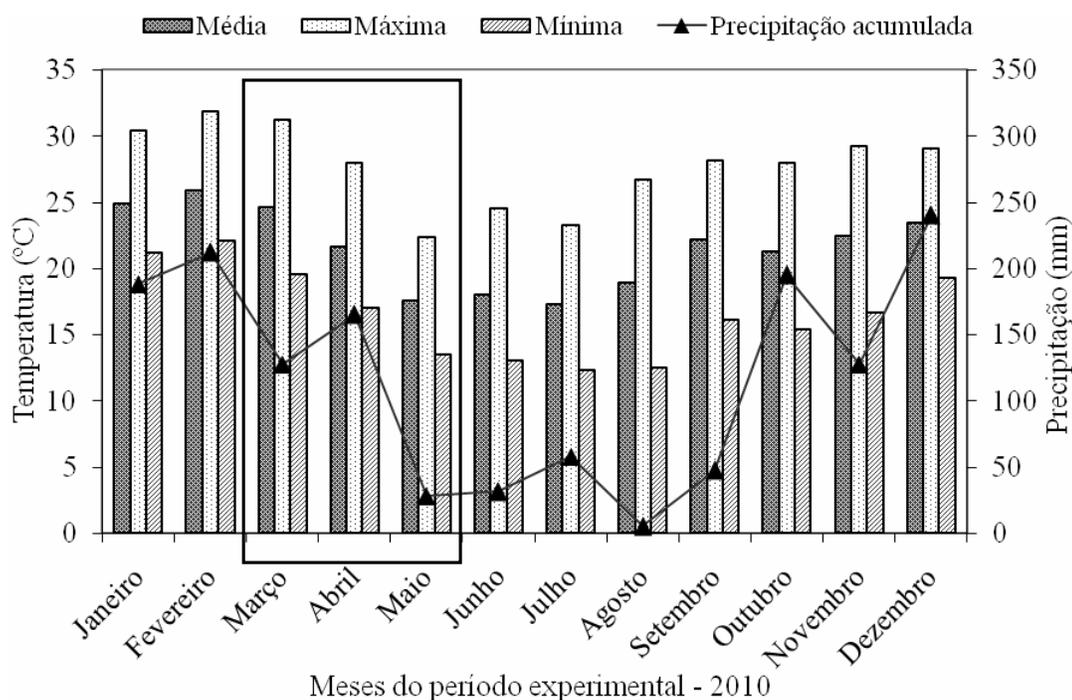
Tendo hospedeiro passível de infecção e patógeno presente, o que pode limitar o desenvolvimento de doença são as condições ambientais. No entanto, como foram observados sintomas sob baixa incidência, pode-se afirmar que havia condições favoráveis aos patógenos, em ao menos uma das fases da cultura nas diferentes épocas de cultivo. Nas Figuras 1 e 2 são apresentados os dados climatológicos da região, onde pode-se verificar temperaturas propícias nos cultivos de seca, e acima do ótimo no das águas, sendo as deficiências hídricas nos cultivos das secas contornadas pela irrigação. No entanto, pode-se afirmar que apesar do uso de irrigação suplementar, devido à elevada demanda evapotranspiratória, o tempo de molhamento foliar pode não ter sido o suficiente para promover a infecção pelos patógenos. Já para a safra das águas pelo elevado índice pluvial no estágio inicial da cultura, havia plenas condições climáticas para o desenvolvimento de bacterioses. Para Micheriff et al. (2001), características abióticas e bióticas atuam de modo direto e indireto com diferentes intensidades e de maneira imprevisível sobre o desenvolvimento de doenças.



**Figura 1.** Dados climatológicos para o ano de 2009 da unidade climatológica da UNIOESTE, Mal. C. Rondon/PR, localizada a latitude 24° 33' 22" S e longitude 54° 03' 24" W. Destaque dado ao período experimental do primeiro (safra da seca, 2009) e segundo ensaio (safra das águas, 2009).

Sendo atendidos todos os fatores da interação, a baixa incidência dos patógenos poderia ser explicada pela interação entre diferentes microrganismos exercendo o controle biológico; pelo balanço nutricional equilibrado explicado pela teoria da trofobiose; e por indução de resistência natural, proporcionado tanto por rizobactérias promotoras de crescimento como por microrganismos/substâncias do filoplano, hipóteses estas perfeitamente passíveis de serem observadas em sistemas orgânicos de cultivo.

O contexto no qual o ensaio foi implantado, ou seja, área isolada de cultivos convencionais e nunca submetida ao uso de produtos químicos pode ter contribuído para os resultados alcançados. Segundo Silveira (2001), as estratégias de biocontrole de doenças de plantas fazem parte de um manejo integrado constituído por medidas que visam a diminuição da densidade populacional do patógeno, não apenas através do uso de microrganismos antagonistas, mas também pelo uso de métodos culturais que forneçam ambiente favorável ao desenvolvimento dos antagonistas.



**Figura 2. Dados climatológicos para o ano de 2010 da unidade climatológica da UNIOESTE, Mal. C. Rondon/PR, localizado a latitude 24° 33' 22" S e longitude 54° 03' 24" W. Destaque dado ao período experimental do terceiro ensaio (safra da seca, 2010).**

Romeiro et al. (2005) encontraram em um universo de 500 residentes de filoplano obtidos de plantas sadias de feijoeiro, um isolado de *Bacillus cereus* que promovia o biocontrole de múltiplas enfermidades fúngicas e bacterianas da cultura, embora não exercesse antagonismo direto contra os patógenos incitantes das enfermidades, levando os autores a concluírem que o biocontrole é devido à indução de resistência.

Um aspecto importante para evitar problemas com doenças é aumentar a biodiversidade da propriedade. Além disso, há necessidade de se produzir tomando todos os cuidados para que a planta não fique doente. Portanto, devemos trabalhar com a saúde da planta, que é conseguida com técnicas que evitem qualquer tipo de estresse (BETTIOL, 2001).

Segundo Altieri (2002), um conjunto de práticas agrícolas baseadas nos princípios agroecológicos pode ser bastante eficaz no manejo da complexidade ambiental e na contribuição ao equilíbrio trofobiótico, resultando em menor vulnerabilidade das plantas a incidência de pragas e doenças. Essas práticas deverão sempre incluir: cobertura vegetal do solo; suprimento regular de matéria orgânica e promoção da atividade biótica do solo;

mecanismos de reciclagem de nutrientes através do uso de rotações de culturas; controle de pragas, com maior atividade dos agentes de controle biológico, do manejo da biodiversidade e dos inimigos naturais; maior capacidade de uso múltiplo da paisagem, e; manutenção da produção sem uso de insumos químicos que impactam negativamente no ambiente, requisitos estes que foram aplicados aos ensaios.

O manejo proporcionado à área experimental, visando aumentar os teores de matéria orgânica e reciclagem de nutrientes, mediante a inclusão de plantas de cobertura, certamente estimulou a biodiversidade do solo, resultando em melhorias nos aspectos nutricionais e biológicas. Segundo Paschoal (1996), a matéria orgânica humificada do solo também melhora as propriedades físicas e biológicas do solo, permitindo que as raízes desenvolvam-se mais e assim aumente a capacidade de absorção de nutrientes e outros compostos minerais e orgânicos liberados no solo pela maior atividade microbiana. Desta forma se alcança, na prática da agricultura orgânica, uma condição de resistência fisiológica da plantas as pragas e doenças, permitindo uma maior sustentabilidade do sistema de produção.

A aplicação do biofertilizante Supermagro certamente alterou as relações patológicas, tanto pelo efeito nutricional proporcionado a planta, como ao controle biológico, e possivelmente por indução de resistência. Segundo Bettioli et al. (1998), os biofertilizantes apresentam potencial para o controle de doenças de plantas e podem agir por meio de antibiose, competição, ação direta e indireta no fornecimento de nutrientes às plantas e indução de resistência. Para Barbosa & Medeiros (2007), os biofertilizantes líquidos apresentam compostos secundários que podem desempenhar funções importantes em interações planta-patógeno, através de ação antibiótica direta ou ativando mecanismos de defesa das plantas, tanto os mecanismos de SAR, como os de ISR, concordando com Medeiros et al. (2003), e contribuindo com o equilíbrio trofobiótico (VILANOVA & SILVA Jr., 2009).

Castro et al. (1991) verificaram inibição de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium* e *Cladosporium* pelo biofertilizante. Tratch & Bettioli (1997) observaram inibição do crescimento micelial de *Alternaria solani*, *Stemphylium solani*, *Septoria lycopersici* e *Botrytis cinerea* e inibição da germinação de esporos de *B. cinerea*, *Alternaria solani*, *Hemileia vastatrix* e *Coleosporium plumierae*.

O uso de EM como inoculante das sementes na implantação dos ensaios pode ter favorecido a indução natural. Além dos benefícios diretos, como disponibilização de nutrientes e micorrização, o EM tem devido a sua complexidade de microrganismos, as rizobactérias promotoras de crescimento. Segundo Silveira (2001), os principais efeitos observados na promoção de crescimento das plantas por rizobactérias são aumento da taxa de

germinação, no crescimento das plantas e aumento de rendimento. As rizobactérias promotoras de crescimento (PGPR) biocontroladoras também atuam no crescimento, infectividade, virulência e agressividade do patógeno, bem como nos processos de infecção, desenvolvimento de sintomas e reprodução.

Além do efeito antagonístico direto em patógenos de solo, algumas estirpes de PGPR também são capazes de reduzir doenças na parte aérea através da IRS, como tem sido demonstrado em várias espécies de plantas, por exemplo, feijão, cravo, pepino, rabanete, fumo, tomate e a planta modelo *Arabidopsis thaliana* (PIETERSE et al., 2005), sendo efetivo contra um amplo espectro de fitopatógenos, incluindo fungos, bactérias e vírus (BARROS et al., 2010). Os principais mecanismos que têm sido propostos para as PGPR de ação direta no crescimento das plantas são: produção de ácido cianídrico (HCN), fitohormônios e enzimas, mineralização de nutrientes, solubilização de fosfatos e fixação de nitrogênio (SILVEIRA, 2001). Dessa maneira, além do aspecto de controle de patógenos e a indução de resistência, as PGPR assumem importante função para a nutrição de plantas, principalmente em solos com teores adequados de matéria orgânica e baixa disponibilidade de nutrientes, corroborando com a teoria da trofobiose, e sendo plenamente plausível para a área experimental pelas suas condições de solo.

A compreensão da natureza somente é possível num enfoque holístico, observando ciclos, trabalhando com sistemas e respeitando as inter-relações e proporções. Todos os fatores são interdependentes. Com o enfoque temático-analítico que vem predominando na agricultura, perdeu-se a visão geral do sistema e, assim, aumentaram os problemas relacionados com a proteção de plantas, devido a um manejo inadequado dos solos, da natureza e do próprio controle desses problemas (BETIOL & GHINI, 2001). A abordagem sistêmica visa ao estudo do desempenho total de sistemas, em vez de se concentrar isoladamente nas partes. Na agricultura, o enfoque sistêmico tem-se tornado cada vez mais necessário, devido à crescente complexidade de sistemas organizados e manejados pelo homem e da emergência do conceito de sustentabilidade (PINHEIRO, 2000).

#### **4.2. Parâmetros produtivos**

Em virtude da baixa incidência de doenças nos ensaios, impossibilitando a avaliação mediante escala diagramática e resultando em ausência de danos à produtividade, não se pode fazer inferências a respeito de um provável custo energético da indução de resistência.

Observando as Tabelas 1, 2 e 3, constata-se que não ocorreu diferença significativa para as variáveis avaliadas nas três safras agrícolas. Assim, a primeira vista, pressupõe-se que não ocorreu custo adaptativo da indução de resistência, concordando em parte com KUHN & PASCHOLATI (2010), os quais observaram que o acúmulo de massa seca por parte de feijoeiro ao longo do seu ciclo não foi afetado pela presença do indutor biótico *Bacillus cereus*. Ainda segundo os mesmos autores, os tratamentos que receberam três e quatro aplicações de ASM diferiram estatisticamente após a terceira aplicação. Com quatro aplicações, o tratamento com ASM reduziu a massa seca a ponto de se diferenciar não apenas do controle, mas também dos tratamentos que receberam duas e três aplicações do indutor abiótico, enquanto que o tratamento com duas aplicações de ASM não foi afetado o suficiente para se diferenciar do controle negativo. Dessa forma, como no ensaio da safra das águas foram realizadas três aplicações, a ausência de custo energético para o indutor abiótico ASM concorda com esses autores.

**Tabela 1.** Número de vagens por planta, grãos por vagem, massa de 100 grãos e produtividade de feijoeiro cv. Rosinha safra da seca após tratamento com indutores de resistência derivados de *Saccharomyces boulardii*. Mal. C. Rondon/PR, 2009.

Tratamentos	Número de vagens/planta	Número de grãos/vagem	Massa de 100 grãos (g)	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )
Testemunhas:				
Água	9,38 <sup>ns</sup>	3,25 <sup>ns</sup>	28,86 <sup>ns</sup>	1.534,44 <sup>ns</sup>
Azoxystrobin	9,05	3,26	29,29	1.440,52
Floratil (mg L <sup>-1</sup> ):				
31,25	9,95	3,37	28,26	1.463,03
62,50	10,60	3,23	29,37	1.482,94
125,00	9,40	3,29	28,80	1.387,85
Massa de células (mg L <sup>-1</sup> ):				
31,25	9,53	3,28	28,95	1.420,24
62,50	9,23	3,31	28,35	1.602,62
125,00	9,68	3,29	29,31	1.486,44
Filtrado (%):				
1,0	10,35	3,35	29,03	1.517,76
5,0	9,33	3,46	28,58	1.508,85
C.V.(%)	12,34	4,78	3,57	10,24
DMS	2,90	0,39	2,51	369,79
Média	9,65	3,31	28,88	1.484,47

<sup>ns</sup>Não significativo ao teste de Tukey a 5%.

**Tabela 2.** Número de vagens por planta, grãos por vagem, massa de 100 grãos e produtividade de feijoeiro cv. Rosinha safra das águas após tratamento com indutores de resistência derivados de *Saccharomyces boulardii*. Mal. C. Rondon/PR, 2009.

Tratamentos	Número de vagens/planta	Número de grãos/vagem	Massa de 100 grãos (g)	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )
Testemunhas:				
Água	10,55 <sup>ns</sup>	2,50 <sup>ns</sup>	27,28 <sup>ns</sup>	1042,50 <sup>ns</sup>
Calda sulfocautica (1%)	8,40	2,50	28,70	917,50
Bion	8,45	2,55	28,90	960,50
Floratil (mg L <sup>-1</sup> ):				
31,25	9,70	2,60	27,60	1212,50
62,50	8,25	2,60	27,63	835,00
125,00	7,85	2,60	28,68	753,00
Massa de células (mg L <sup>-1</sup> ):				
31,25	8,30	2,40	27,46	624,00
62,50	8,20	2,50	28,48	798,50
125,00	8,25	2,70	27,82	942,50
Filtrado (%):				
1,0	8,10	2,65	28,09	811,00
5,0	8,10	2,55	28,14	825,00
10,0	10,15	2,55	29,05	892,50
C.V.(%)	12,87	4,98	3,08	25,77
DMS	4,00	0,45	3,10	814,56
Média	8,69	2,56	28,15	884,54

<sup>ns</sup>Não significativo ao teste de Tukey a 5%.

Para a produtividade, os dados obtidos estão dentro da média estadual e acima desta (safra das secas de 2010), que na safra de 2001 foi de aproximadamente 1.494 kg ha<sup>-1</sup> (PERIN et al., 2011), o que indica o atendimento das condições requeridas pela cultura.

Faulin (2010) obteve resultados semelhantes com o uso de ASM em feijoeiro, tanto a campo como em casa de vegetação, observando redução na produção, número de grãos por vagem e massa de 100 grãos com o uso de ASM em duas ou mais aplicações. Já o número de grãos por vagem não foi afetado. Ainda segundo esse autor, o custo adaptativo da indução por ASM em feijoeiro apenas é vantajoso na presença do patógeno, pois ocorreram alterações nos parâmetros bioquímicos e perdas na produção quando da ausência de patógenos.

Em feijoeiro, Iriti & Faoro (2003) induziram resistência com ASM (140 mg i.a. L<sup>-1</sup>) em uma única aplicação e, não detectaram diferenças na taxa de crescimento, comprimento de entrenós e expansão foliar ao longo do ciclo em casa de vegetação. No entanto, uma única aplicação não permite a indução da resistência por todo o ciclo da cultura. Já com indutor biótico *Pseudomonas putida*, Onega et al. (1999), trabalhando com pepino, observaram acentuada redução da severidade de *Pythium aphanidermatum*, porém, não houve redução da massa fresca de parte aérea e ocorreu aumento da massa seca de raízes das plantas induzidas.

**Tabela 3.** Número de vagens por planta, grãos por vagem, massa de 100 grãos e produtividade de feijoeiro cv. Rosinha safra da seca após tratamento com indutores de resistência derivados de *Saccharomyces boulardii*. Mal. C. Rondon/PR, 2010.

Tratamentos	Número de vagens/planta	Número de grãos/vagem	Massa de 100 grãos (g)	Produtividade (kg ha <sup>-1</sup> )
Testemunhas:				
Água	8,68 <sup>ns</sup>	3,18 <sup>ns</sup>	38,31 <sup>ns</sup>	1.868,95 <sup>ns</sup>
Azoxystrobin	9,82	3,08	39,30	1.898,52
Bion	8,40	3,10	38,49	1.777,98
Floratil (mg L <sup>-1</sup> ):				
31,25	9,08	3,18	38,81	1.945,98
62,50	8,45	3,25	38,60	1.937,38
125,00	8,55	3,20	38,03	1.836,58
Massa de células (mg L <sup>-1</sup> ):				
31,25	9,48	3,12	38,25	1.923,48
62,50	8,85	3,15	38,19	1.839,72
125,00	9,10	3,20	38,18	1.869,28
Filtrado (%):				
1,0	9,48	3,20	38,11	1.956,55
5,0	8,65	3,18	38,70	1.817,45
10,0	8,38	3,20	38,27	1.891,25
C.V.(%)	10,68	5,92	2,31	10,07
DMS	2,36	0,46	2,20	470,29
Média	8,90	3,17	38,44	1.880,26

<sup>ns</sup>Não significativo ao teste de Tukey a 5%.

Vários autores observaram custo metabólico da indução de resistência para variáveis de crescimento, tanto utilizando indutores bióticos como abióticos, no entanto as interferências diretas sobre a produtividade a campo são pouco pesquisadas. Kuhn (2007) trabalhando com feijão submetido aos indutores *B. cereus* e ASM, observou que o número de vagens por planta e a massa de 100 sementes não diferiram significativamente, assim como o seu tamanho, concordando com os dados apresentados nesse trabalho. No entanto, o mesmo observou redução no número de grãos por vagem e massa total de grãos por planta para o uso do ASM, pelo fato deste ter alterado o metabolismo da planta, gerando custo metabólico e redirecionando os fotoassimilados para investir em defesa, a custo de redução da produtividade. Tal indução foi associada a aumentos na atividade de peroxidase, quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase e proteases, aumento da síntese de ligninas, aumento no teor de proteínas solúveis e açúcares redutores.

Estando as plantas em estado induzido de resistência, uma possibilidade para a ausência de custo metabólico, é a baixa competição das diferentes rotas metabólicas pelo

mesmo substrato, entre a constituição da indução das defesas e o uso para o crescimento e produção do vegetal. Segundo Iriti & Faoro (2006), os custos da resistência induzida só se tornam evidentes quando as defesas das plantas são elicitadas sob condições nas quais os processos envolvidos no crescimento das plantas são obrigados a competir com os exigidos pela SAR. Para Cipollini et al. (2003) os custos da resposta induzida podem variar de acordo com as condições de cultivo.

Heil et al. (2000) e Dietrich et al. (2005) constataram que o nitrogênio tem papel importante na indução de resistência mediada por ASM. Em ambientes onde esse nutriente é escasso, o custo adaptativo da indução de resistência sempre é maior, visto que todo o sistema defensivo das plantas é baseado nesse nutriente, através da síntese de enzimas e proteínas relacionadas aos processos de defesa (COLEY et al., 1985), uma vez que o nutriente é essencial para a produção de aminoácidos, proteínas, hormônios de crescimento, fitoalexinas e fenóis (HUBER, 1980).

Segundo Heil et al. (2000), plantas de trigo tratadas com ASM apresentaram menor ganho de biomassa e menor número de espiguetas e sementes em relação às plantas não tratadas. Este efeito foi mais pronunciado em plantas submetidas a baixos níveis de nitrogênio. Segundo os autores, as diferenças entre plantas tratadas e não-tratadas ocorreram possivelmente devido à competição metabólica entre os processos envolvidos no crescimento da planta e a síntese de compostos de defesa. O uso de ASM em trigo sob condições de deficiências de nitrogênio prejudicou a cultura devido a relocação de fotoassimilados que seriam utilizados para o crescimento e/ou desenvolvimento vegetal e desviados para a síntese de compostos de defesa (HEIL & BOSTOCK, 2002). Dietrich et al. (2005), trabalhando com *Arabidopsis* induzida por ASM (150 mg i.a. L<sup>-1</sup>), observaram redução no crescimento em função da concentração de nitrogênio e da água disponíveis.

Barbosa et al. (2008), avaliando dois níveis de nitrogênio e os indutores ASM, ácido jasmônico (AJ) e Agro-Mós<sup>®</sup> (AM) em algodão, constataram que as plantas tratadas com ASM apresentaram alto custo fisiológico com acentuada redução na altura de plantas, massa fresca e seca de parte aérea, enquanto as tratadas com AJ mostraram aumento significativo na massa seca aérea. No substrato suplementado com nitrogênio, para todos os indutores ocorreu redução significativa em relação à testemunha quanto ao comprimento de internódio, apesar de não diferirem entre si, enquanto no substrato sem adição de nitrogênio apenas o ASM reduziu significativamente dos demais. Isso concorda com Dietrich (2004) que afirma que em condições limitantes de nitrogênio o custo fisiológico da indução de resistência pode ter seus efeitos potencializados.

A nutrição mineral pode ter um efeito secundário sobre a resistência de plantas ao ataque de pragas e doenças. Nas plantas deficientes em potássio, a concentração de açúcares solúveis e aminoácidos nas folhas é alta, podendo aumentar a eficiência de germinação dos esporos em relação às plantas saudáveis. Quanto às barreiras anatômicas, a lignificação e o acúmulo de sílica nas paredes constituem numa efetiva barreira física contra a penetração das hifas (SILVEIRA, 1998).

Segundo Zambolim & Ventura (1996), as plantas desequilibradas nutricionalmente são mais suscetíveis do que aquelas corretamente nutridas; a forma como os nutrientes estão disponíveis às plantas influencia o seu efeito sobre as doenças. O uso e o manejo dos nutrientes, de forma equilibrada, tem demonstrado ser uma alternativa válida no controle às moléstias das plantas.

Outra hipótese para justificar a ausência de custo aparente neste trabalho é o detrimento no crescimento da planta em função da indução de resistência, reduzindo altura e massa de plantas e área foliar, parâmetros não avaliados. Assim a planta estaria sacrificando parâmetros de crescimento para evitar gastos que poderiam ser drenados dos parâmetros produtivos para a formação de defesas.

Segundo Kuhn (2007) há um aumento da respiração no processo da indução de resistência, uma vez que para a ativação das defesas é necessário energia para atender a demanda, o que pode consumir os fotoassimilados que poderiam fazer parte dos tecidos de reserva do vegetal, e conseqüentemente reduzir a produtividade se a respiração permanecer elevada em todo o ciclo da cultura. Ainda segundo o mesmo, em feijoeiro, o uso de ASM promoveu aumento na respiração bem acima do que *B. cereus*, que demonstrou apenas uma tênue alteração, indicando a não ativação dos mecanismos de defesa diretamente, mas que sejam ativados mais rapidamente na presença de um patógeno, indicando um pré-condicionamento.

Existem evidências que agentes indutores bióticos não resultariam em custos adaptativos. Kuhn (2007) verificou que *B. cereus* não alterou o crescimento e produtividade do feijoeiro, embora a resistência induzível tenha sido ativada, sendo que este fenômeno pode ocorrer em função dos diferentes caminhos que as plantas podem expressar resistência. Ainda segundo o mesmo, a ativação ocorreu pela via do ácido jasmônico/etileno, com custos bem abaixo da ativação com ASM que ocorre pela via do ácido salicílico.

Trabalhos utilizando promotores de crescimento, como o de Nandakumar et al. (2001) com *Pseudomonas fluorescens* em arroz e de Kehlenbeck & Schönbeck (1995) com *B. subtilis*

em cevada, mostraram redução da severidade das doenças com aumentos na produtividade das culturas.

No entanto não é possível afirmar neste trabalho que a indução de resistência foi devida apenas a aplicação dos tratamentos, uma vez que tratos culturais, como o uso do biofertilizante Supermagro em aplicações foliares, de EM nas sementes como inoculante, além das próprias condições do ambiente de cultivo podem ter provocado a indução de resistência em todas as parcelas experimentais, mascarando possíveis dados referentes exclusivamente dos tratamentos com a levedura.

## 5 CONCLUSÃO

A aplicação do indutor biótico *Saccharomyces boulardii*, com as condições descritas neste experimento, não resultou em diferença entre os tratamentos para nenhum dos parâmetros, indicando a ausência de custo metabólico na ausência de doenças ou aplicações preventivas em ambiente agrícola equilibrado.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste trabalho evidenciam que em um ambiente manejado ecologicamente e equilibrado há uma elevada atuação de forças que favorecem os vegetais, em detrimento à patógenos/pragas.

Apesar dos baixos teores de nutrientes detectados na área experimental, utilizando um manejo com rotações de culturas e que estimule a formação/conservação de palhada, de matéria orgânica e reciclagem de nutrientes, há condições favoráveis para as plantas desenvolverem melhor o seu sistema radicular e, conseqüentemente, aumentar a absorção de água e nutrientes. Isso também estimula a população microbiana benéfica, resultando em benefícios as plantas, através da solubilização de nutrientes e controle de patógenos.

Com o suprimento nutricional (fatores de produção) em níveis adequados, o custo adaptativo para a cultura pode não existir, ou tornar-se oculto.

Elicidores bióticos possivelmente não tenham custo adaptativo, ou em níveis baixos, comparados a agentes abióticos, o que os tornaria mais vantajosos em ambientes de cultivo nos quais se tem dúvida da manifestação de doenças ou em severidades muito baixas.

A abordagem holística não pode ser dispensada ou menosprezada, principalmente em ensaios de campo, onde além dos fatores a serem avaliados mais de uma centena estão refletindo alterações no estudo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5<sup>th</sup> ed San Diego: Elsevier Academic Press. p. 207-248, 2005.
- ALTIERI, M.. **Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável**. Guaíba: Agropecuaria, 592p. 2002.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; FERREIRA, P. T.; CAVALCANTI, L. S. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 51-80. 2005.
- BARBOSA, A.; MEDEIROS, M. B. Potencial de ação elicitora dos biofertilizantes líquidos na indução de resistência sistêmica vegetal. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Vol.2 No.2 1453 – 1457. 2007.
- BARBOSA, M. A. G.; LARANJEIRA, D.; COELHO, R. S. B. Custo fisiológico da resistência em algodoeiro sob diferentes níveis de nitrogênio. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.4, p.338-342, 2008.
- BARROS, F. C.; SAGATA, E. ; FERREIRA, L. C. de C; JULIATTI, F. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 231-239, Mar./Apr. 2010.
- BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. **Proceedings of the Royal Society of London**, serie A, London, 160:268-282, 1937.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, 919p. 1995.
- BETTIOL, W. & GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: MICHEREFF, S.J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 1-15. 2001.
- BETTIOL, W. Métodos alternativos para o controle de doenças de plantas. In: MICHEREFF, S.J.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 123-140. 2001.
- BETTIOL, W. (Ed). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPDA, 288 p. 1991.
- BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J.A.H. **Controle de doenças de plantas com microrganismos**. Jaguariúna:EMBRAPA-CNPMA, 22p., 1998.
- CARAMORI. P. H.; GONÇALVES. S. L.; WREGGE. M. S.; CAVIGLIONE. J. H.; OLIVEIRA. D. de, FARIA. R. T. de.; LOLLATO. M. A.; ARIOT. E. J. M.; KRANZ. W. Miguel.; PARRA. M. S.; BIANCHINI. A. Zoneamento de riscos climáticos e definição de datas de semeadura para o feijão no Paraná. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v.9, n.3, (Nº Especial: Zoneamento Agrícola), p.477-485, 2001.

CASTRO, C. M.; SANTOS, A. C. V.; AKIBA, F.. Comprovação *in vitro* da ação inibidora do biofertilizante “Vairo” produzido a partir da fermentação anaeróbica do esterco bovino, sobre a germinação de conídios de diversos gêneros de fungos fitopatogênicos. In: **Reunião Brasileira sobre Controle Biológico de Doenças de Plantas**, 4, Campinas – SP, 1991. Anais.... Jaguariúna, EMBRAPA-CNPDA, p.18. 1991.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, cap. 4. p.81-124. 2005 b.

CIPOLLINI, D.; PURRINGTON, C. B.; BERGELSON, J. Costs of induced responses in plants. **Basic Appl. Ecol.** 4, 79–85, 2003.

COLEY, P. D., BRYANT, F. S., CHAPIN, F. S. Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science**. 230: 895–899. 1985.

COOK, R. J.; BAKER, K. F. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. St. Paul: The American Phytopathology Society, 539p. 1983.

DIETRICH, R. Constitutive and induced resistance to pathogens in *Arabidopsis thaliana* depends on nitrogen supply. **Plant, Cell and environment**, Oxford, v. 27, n.7, p. 896-906, 2004.

DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Growth responses and fitness costs after induction of pathogen resistance depend on environmental conditions. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.28, n.2, p.211-222, 2005.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solo, Rio de Janeiro. RJ. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. Brasília: Embrapa-SP/Embrapa-CNPS, 412p. 2006.

FAULIN, M. S. A. R. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) por acibenzolar-S-metil contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*: parâmetros bioquímicos e da produção**. Piracicaba: ESALQ/USP. 147p. 2010. (Tese) doutorado.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.

GAYLER, S. et al. Modelling the effect of environmental factors on the “trade off” between growth and defensive compounds in Young Apple trees. Springer Berlin / Heidelberg. **Trees**. v. 18, p. 363-371, 2004.

GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariúna, SP: **Embrapa Meio Ambiente**, 2000.

GOMES, E. C. S; PEREZ, J. O.; BARBOSA, J.; NASCIMENTO, E. F.; AGUIAR, I. F. Efeito de indutores de resistência na proteção de uva “Itália” e uva de vinho “Cabernet

Sauvignon” contra o oídio e o mildio no Vale do São Francisco. In: **II Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica**. João Pessoa, PB. 2007.

HAMMERSCHMIDT, D.; DANN, E. K. Induced resistance to disease. In: RECHCIGL, N. A.; RECHCIGL, J. E. (Ed). **Environmentally safe approaches to crop disease control**. Boca Raton: CRC – Lewis Publishers, p. 177 – 199. 1997.

HARTLEY, H.O. The use of range in analysis of variance. **Biometrika**, London, **37**:271-280, 1950.

HEIL, M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens – a promising field for ecological research. Perspectives in Plant Ecology, **Evolution and Systematics**, Jena, v.4, n.2, p.65-79, 2001.

HEIL, M.; BALDWIN, I.T. Fitness costs of induced resistance: emerging experimental support for a slippery concept. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.7, n.2, p.61-67, 2002.

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

HEIL, M.; HILPERT, A.; KAISER, W.; LINSENMAIR, K.E. Reduced growth and seed set following chemical induction of pathogen defence: does systemic acquired resistance (SAR) incur allocation costs? **The Journal of Ecology**, Oxford, v.88, n.4, p.645-654, 2000.

HOFFLAND, E.; NIEMANN, G. J.; VAN PELT, J. A.; PUREVEEN, J. B. M.; EIJKEL, G. B.; BOON, J. J.; LAMBERS, H. Relative growth rate correlates negatively with pathogen resistance in radish: the role of plant chemistry. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.19, n.11, p.1281-1290, 1996.

HUBER, D. M. The role of mineral nutrition in defense. In: HORSFALL, J.G.; COWLING, E.B. (Ed.). **Plant pathology: an advanced treatise**. New York : Academic, v. 5, p. 381-406, 1980.

IRITI, M.; FAORO, F. Does benzothiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean. **Journal of Plant Pathology**, Bari, v.85, n.4, p.265-270, 2003.

IRITI, M.; FAORO, F. Fitness costs of chemically-induced resistance: double edged sword or (un) stable equilibrium. **Journal of Plant Pathology**, **88** (1), 5-6. 2006.

KEHLENBECK, H. SCHÖNBECK, F. Effects of induced resistance on diseases severity/yield relations in mildewed barley. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v 143, p. 561- 567, 1995.

KUC, J. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 33, p. 275-297, 1995.

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

**produção.** Tese (Doutorado em Agronomia). Piracicaba SP. ESALQ – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. 2007.

KUHN, O.J. & PASCHOLATI, S.F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar- S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. *Summa Phytopathologica*, v.36, n.2, p.107-114, 2010.

LINTHORST, H. J. M. Pathogenesis-related proteins of plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, v. 10, p. 123-150, 1991.

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

LYON, G.D.; NEWTON, A.C. Do resistance elicitors offer new opportunities in integrated disease control strategies. *Plant Pathology*. v.46, p.636-641. 1997.

KAMIDA, H.M.; PASCHOLATI, S.F.; WULFF, N. A. Influencia de *Saccharomyces cerevisiae* no metabolismo de fenois e na atividade da fenilalanina amônia-liase em mesocotilos de sorgo. *Fitopatologia Brasileira*, brasilia, v.22, suplemento, p.279, 1997.

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

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B. Isolamento de bactérias fitopatogênicas. **Manual de práticas em fitobacteriologia.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 27-35. 2000.

MARTINS, E. M. F.; DE MARIA, A. C.; STOCKER, G. G.; MORAES, W. B. C. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat-treatment. *Fitopatologia Brasileira*, v.11, p.899-909, 1986.

MANI-MAUCH, B. & MÉTRAUX, J. P. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen ttack. *Annals of botany*, oxford, v. 82, p.535-540, 1998.

MEDEIROS, M. B de; WANDERLEY, P. A.; WANDERLEY, M. J. A. Biofertilizantes Líquidos: Processo trofobiótico para proteção de plantas em cultivos orgânicos. *Biociência*, v.13, n.1, p.31-38, 2003.

MERCK. **Monografias & Tabalhos: Floratil.** In: [www.merck.com.br/index.php?link=monografias\\_floratil.php](http://www.merck.com.br/index.php?link=monografias_floratil.php) Acesso em 01 de fev. de 2009.

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

MICHERIFF, S. J.; PERUCH, L. A. M.; ANDRADE, A. E. G. T. Manejo sustentável de doenças radiculares em solos tropicais. In: MICHERIFF, S. J.; BARROS, R.. **Proteção de plantas na agricultura sustentável.** Recife: UFRPE. Cap.2, p. 15-70. 2001.

MÜLLER, S. F.; **Controle de doenças do feijoeiro por mananoligossacarídeo fosforilado.** Trabalho de Conclusão de Curso de Agronomia, UNIOESTE: Mal. C. Rondon/PR. 25 p. 2007.

MÜLLER, S. F. ; STANGARLIN, J.R. . Mananoligossacarídeo fosforilado na indução de resistência a doenças em feijoeiro.. In: XXXII Congresso Paulista de Fitopatologia e IV Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência a Doenças em Plantas a Patógenos, 2009, São Pedro - SP. **Summa Phytopathologica**, 2009.

NANDAKUMAR, R.; BABU, S.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance in rice against sheath blight disease by *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology & Biochemistry**, Oxford, v. 33, p. 603-612, 2001.

ONGENA, M.; DAAYF, F.; JACQUES, P.; THONART, P.; BENHAMOU, N.; PAULITZ, T.C.; CORNÉLIS, P.; KOEDAM, N.; BÉLANGER, R.R. Protection of cucumber against *Pythium* root rot by fluorescent pseudomonads: predominant role of induce resistance over siderophores and antibiosis. **Plant Pathology**, London, v.48, p.66-76, 1999.

PASCHOAL, A. D. **Pragas da Agricultura nos Trópicos.** 72 p. (ABEAS – Curso de Agricultura Tropical – Modulo 3.1). 1996.

PASCHOLATI, S. F. Indução de resistência sistêmica: opção para o controle de doenças de plantas no século XXI. In: I REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS CONTRA FITOPATÓGENOS, 19 a 21 de novembro de 2002, São Pedro – SP. **Summa Phytopathologica**, v.29, n.1, p.115-116, 2003.

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

PAULA Jr., T. J.; ZAMBOLIM, L. Doenças. In: VIEIRA, C.; PAULA Jr., T. J.; BARÉM, A. (Eds). **Feijão: Aspectos gerais da cultura no Estado de Minas.** Viçosa: UFV, P. 375-433. 1998.

PERIN, E.; VIEIRA, J. A. N.; LOVATO, L. F.; MACHADO, M. L. S.; BERTUOL, O. Referências modulares para a produção de feijão no Sudoeste do Paraná. Disponível em: [http://www.iapar.br/arquivos/File/zip\\_pdf/redereferencia/pp\\_modsudestefeijao.pdf](http://www.iapar.br/arquivos/File/zip_pdf/redereferencia/pp_modsudestefeijao.pdf). Acesso em: 20/10/11.

PIETERSE, C. M. J.; PELT, J. A. V.; WEES, S. C. M. V.; TON, J.; VERHAGEN, B. W. M.; LÉON-KLOOSTERZIEL, K.; HASE, S.; VOS, M.; OOSTEN, V. V.; POZO, M.; SPOEL, S.; ENT, S. V.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN-JUNIOR, A.; RESENDE, M. L. V.; & VAN LOON, L. C. V. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **RAPP** – Volume 13, 277-295. 2005.

PINHEIRO, S. L. G. O enfoque sistêmico e o desenvolvimento rural sustentável: uma oportunidade de mudança da abordagem hard-system para experiências com soft-system. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, 1(2):27-37, abr/jun, 2000.

- ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, v.13, p. 411-431. 2008.
- ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. Viçosa, UFV. **Cadernos Didáticos**, n. 56, 1999.
- ROMEIRO, R. S.; VIEIRA Jr., J. R.; SILVA, H. S. A.; BARACAT-PEREIRA, M. C.; CARVALHO, M. G. Macromolecules released by a plant growth-promoting rhizobacterium as elicitors of systemic resistance in tomato to bacterial and fungal pathogens. **Journal of Phytopathology**. 153: 120-123. 2005.
- ROMERO, A. M.; KOUSIK, C. S.; RITCHIE, D. F. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-S-methyl. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, p.189-194, 2001.
- SARTORATO, A.; RAVA, C. A.; RIOS, G. P. Doenças fúngicas e bacterianas da parte aérea. In: ARAUJO, R. S.; RAVA, C. A.; STONE, L. F.; ZIMMERMANN, M. J. O. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, 1996. p. 669 – 772.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F., STANGARLIN J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.8, p.54-56. 2003.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, p.227-248. 2008.
- SILVA, L. H. P; RESENDE, M. L. V.; SOUZA, R. M.; CAMPOS, R. J.; efeito do indutor de resistencia acibenzolar-S-metil na proteção contra *Xanthomonas vesicatoria*, *Oidium lycopersici* e *Septoria lycopersici* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, botucatu, v.29 n 3, p. 244-248, 2003.
- SILVA, S.R. & PASCHOLATI, S.F. *Saccharomyces cerevisiae* protects maize plants, under greenhouse conditions, against *Colletotrichum graminicola*. **Journal of Plant Disease and Protection**, v.99, n.2, p.159-167, 1992.
- SILVEIRA, E. B. **Bactérias promotoras de crescimento de plantas e biocontrole de doenças**. In: **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. – Recife : UFRPE, Imprensa Universitária, 368 p. : il. 71-100. 2001.
- SMITH, C. J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**, v. 132, p. 1-45, 1996.
- SOMSSICH, I. E.; HAHLBROCK, K. Pathogen defense in plants: a paradigm of biological complexity. **Trends in plant science**, Kidlington, v.3, p. 86-90, 1998.
- STADNIK, M. J.; BUCHENAUER, H. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f. sp. tritici, **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.57, p 25-34, 2000.

STANGARLIN, J.R.; SCHULZ, D.G.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; KUHN, O.J. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.1, p.91-98, jan./mar., 2010

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

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Proteção de plantulas de milho pipoca contra *Exserohilium turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**, v.20, n.1, p 16-21, 1994.

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

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

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

TRATCH, R.; BETTIOL, W. Efeito de biofertilizantes sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.32, n.11, p.1131-1139, 1997.

VALLAD, G. E.; GOODMAN, R. M. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop Science**, Madison, v.44, n.6, p.1920-1934, 2003.

VILANOVA, C.; SILVA Jr., C. D. da. A Teoria da Trofobiose sob a abordagem sistêmica da agricultura: eficácia de práticas em agricultura orgânica. **Revista Brasileira de Agroecologia**. 4(1):39-50, 2009.

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

ZAMBOLIM, L., VENTURA, J. A. Resistência a doenças induzidas pela nutrição das plantas. **Informações Agrônomicas (POTAFOS)**, v.75, Encarte Técnico, 1996.