

# CONTROLE ALTERNATIVO DE FITOPATÓGENOS

WALKVRIA B. C. MORAES<sup>1</sup>

**RESUMO** - As plantas como os animais e o homem são passíveis de serem temporária ou permanentemente protegidas do ataque de microorganismos fitopatogênicos, como os vírus, bactérias e fungos. A experiência tem mostrado que essa indução de proteção temporária ou mesmo a imunização permanente ocorrem quando a planta tem seus mecanismos de defesa ativados através do tratamento das mesmas com microorganismos saprofitos ou raças avirulentas de um dado patógeno, ou mesmo por um patógeno atenuado ou morto. Também organismos patogênicos ou seus metabólitos podem induzir na planta uma resistência que irá variar uma intensidade, longevidade e abrangência de acordo com o microorganismo usado como indutor e na dependência de condições ambientais, idade da planta e dos tecidos tratados etc. No Brasil, experimentos de laboratório e campo tem demonstrado a viabilidade do emprego dos métodos de indução de resistência em diversas culturas, como cereais, café, banana e outros. O maior interesse sobre o uso de controles alternativos se concentra na possibilidade de imunização de plantas, o que significa um controle que perdure por todo o ciclo vital do hospedeiro. Principalmente no caso de culturas anuais, o emprego da imunização já foi comprovado como possível, exequível e eficiente.

Termos para indexação: microorganismos fitopatogênicos, resistência induzida, imunização.

## ALTERNATIVE CONTROL OF PHYTOPATOGENS

**ABSTRACT** - Plants, like animals and men, are subject to temporary or permanent protection from the attack of such phytopathogenical microorganisms as viruses, bacteria and fungi. Experience has shown that such temporary protection or even immunization, which is permanent, occurs when the plant has its defense mechanisms activated through treatments with saprophytic microorganism or antivirus breeds of a given pathogen, or even of a attenuated or dead pathogen. Pathogenic organisms or their metabolites can also induce resistance in plants of varying intensity, longevity and scope in accordance with the microorganisms used as inductors and depending on environmental conditions, plant age and tissue treated, etcetera. In Brazil, laboratory and field experiments have shown the feasibility of the use of induction methods for resistance in several crops such as cereals, coffee, bananas and others. Main interest in the use of alternative control is concentrated on the possibility of plant immunization. This means control which will last throughout the whole life cycle of the host plant. Mainly, in the case of perennial crops, the use of immunization has been shown to be possible, usable and efficient.

Index terms: Phytopathogenical microorganisms, induced resistance, immunization.

## INTRODUÇÃO

Sob a denominação genérica de **Controle Alternativo** estão incluídos o **Controle Biológico** e o **Controle Induzido**, também

conhecido como **Indução de Resistência**, **Resistência Induzida** e **Imunização**. As práticas de Controle Alternativo, quer de pragas ou de doenças de plantas, não fazem uso de defensivos agrícolas, embora possam estar associadas, de maneira integrada, aos métodos tradicionais de controle químico e/ou de práticas culturais, como rotação de culturas, poda,

<sup>1</sup> Bióloga, Pesquisadora-Científica VI, Aposentada - Instituto Biológico.

eliminação de restos culturais etc, a fim de aumentar sua eficiência. Alguns autores incluem o **Melhoramento Vegetal** entre as práticas de Controle Alternativo. Entretanto, essa inclusão "só pode ser aceita no caso em que o novo cultivar seja resistente por favorecer ou permitir a presença de uma população de organismos com capacidade de controle de fitopatógenos ou de pragas" (Deacon 1983).

O Controle Alternativo pode ser empregado tanto em relação a pragas como a doenças causadas por fitopatógenos e até mesmo a ervas daninhas.

O emprego do **Controle Biológico** e da **Indução de Resistência** visa o controle de pragas e doenças com menor impacto ambiental e com menor risco para o homem, bem como com a redução de custos em relação ao emprego de métodos químicos tradicionais.

O termo Controle Biológico tem recebido inúmeras definições por parte dos autores, sem que, entretanto, tenham os mesmos chegado a um consenso. Segundo Deacon (1983), Controle Biológico "é a prática na qual, ou processo pelo qual, os efeitos indesejáveis de um microorganismo são reduzidos através da intervenção de outro organismo que não seja a planta hospedeira, a praga ou patógeno, ou o homem".

Uma diferença fundamental entre o Controle Biológico e o Controle Induzido é que, no primeiro, a ação controladora se faz direta e primariamente sobre a praga ou o patógeno, enquanto que, no Controle Induzido, a ação se dá sobre a planta hospedeira modificando a sua relação com a praga ou patógeno.

Com relação ao Controle Biológico de Fitopatógenos, ele é potencialmente aplicável contra qualquer tipo de microorganismo, seja ele um vírus, um fungo ou uma bactéria. Entretanto, uma maior atenção tem sido dada ao controle biológico de fungos, em parte por serem estes responsáveis pela ocorrência da maioria das doenças de plantas e, em parte, por serem mais facilmente controlados por outros microorganismos. Por outro lado, o controle biológico de fungos deve ser executado nas fases iniciais da infecção, uma vez que, ao

penetrar no hospedeiro, o patógeno dificilmente poderá ser atingido pelo agente controlador, já que este não encontra no interior do hospedeiro, na maioria das vezes, um ambiente favorável ao seu desenvolvimento.

O Controle Biológico de fitopatógenos pode ser efetuado diretamente pela ação de microorganismos antagonísticos não-patogênicos, existentes na natureza quase sempre na forma saprofítica, que agem diretamente sobre o patógeno. Essa ação pode se dar pela produção de antibióticos ou substâncias tóxicas (*antibiose*), pela predação ou por parasitismo, resultando em inibição, bloqueio do desenvolvimento do patógeno ou mesmo em sua destruição. Muitas vezes, o microorganismo antagonista produz enzimas capazes de degradar as paredes celulares do patógeno. A esse processo chamamos heterólise, em contrapartida à produção de enzimas degradativas liberadas pelo próprio patógeno, devido ao estresse sofrido pela falta de nutrientes. Neste caso, o processo é denominado autólise. O controle biológico poderá se dar, também, de uma forma indireta pela competição que se estabelece entre o patógeno e um microorganismo por fontes de nutrientes e energia ou pelo espaço físico.

Como já referido anteriormente, o **Controle Induzido** difere fundamentalmente do anterior por ter sua ação direcionada para a planta hospedeira e não para o patógeno. Conseqüentemente, como efeito secundário, haverá inibição, bloqueio ou mesmo a morte do organismo invasor que se quer combater.

Todo controle induzido pressupõe o acontecimento de alterações no mecanismo bioquímico de resposta de resistência das plantas tratadas, com reflexos na expressão genética da resistência das mesmas.

O termo **Indução de Resistência** e sua sinonímia, tanto pode ser utilizado para designar uma **proteção local**, isto é, a indução de uma resistência apenas nos tecidos onde foi feito o tratamento com o agente indutor, como pode indicar uma **resistência sistêmica** que se manifesta à distância do local onde foi aplicado o agente indutor. Entretanto, tem-se sugere

rido que se restrinja o uso do termo **imunização** para os casos de indução de resistência sistêmica, a exemplo do que ocorre no homem e nos animais, em que a proteção a uma dada doença se faz através do emprego de vacinas de efeito sistêmico no organismo. Assim, uma planta imunizada contra um certo fitopatógeno equivaleria a uma planta "vacinada". É evidente que os mecanismos envolvidos no processo de imunização humana ou animal comparados aos das plantas são totalmente distintos. No primeiro caso há todo um envolvimento do sistema imunológico do organismo, o que não ocorre nas plantas. Nestas últimas, os mecanismos bioquímicos envolvidos no processo de imunização, embora não totalmente esclarecidos, diferem dos primeiros em vários aspectos fundamentais. Uma das diferenças mais notáveis é a falta de especificidade verificada na imunização de plantas, enquanto que na imunização de animais as vacinas são altamente específicas.

Tanto no Controle Biológico como no Induzido, além da participação do patógeno, do antagonista ou indutor e da planta, a participação do meio ambiente com suas inúmeras variáveis é fundamental e, muitas vezes, decisiva para o sucesso do Controle Alternativo. É exatamente devido às limitações impostas pelas variáveis ambientais que o controle biológico de microorganismos encontrados no solo, principalmente de fungos patogênicos, apresenta maiores probabilidades de sucesso, uma vez que as condições no solo são mais estáveis do que na filosfera.

No presente trabalho, procuraremos nos ater mais especificamente ao **Controle Induzido**, quer do tipo local ou do sistêmico (**Imunização**) de doenças fúngicas em plantas.

Para que haja uma melhor compreensão das razões pelas quais se pode lançar mão de tais processos, tomemos três pontos básicos para reflexão:

1. Por que, no decurso da evolução, as plantas nativas conseguiram sobreviver, sem que tenham sido submetidas a qualquer tipo de

controle de seus fitopatógenos, à despeito de estarem em condições extremamente desfavoráveis quanto à proporção existente entre o número de espécies vegetais e o número de espécies de microorganismos potencialmente patogênicos?

2. Por que o grau de suscetibilidade ou resistência de uma planta, ou de parte dela, pode variar em função da idade do tecido ou da planta, das condições ambientais, do grau de diferenciação do tecido, do estado de maturação do mesmo etc?
3. É possível se modificar a expressão genética de uma planta para resistência ou suscetibilidade? Como e por que?

Com relação ao primeiro tema, podemos dizer que a evolução é um fato incontestável porque fatores como a **regulação e diversificação** são características da própria vida, sendo que **adaptações e modificações** são ingredientes fundamentais para a sobrevivência de um organismo. Assim, a sobrevivência de uma espécie é o resultado, entre outros, do desenvolvimento e aprimoramento de mecanismos bioquímicos e, conseqüentemente, de alterações estruturais e fisiológicas muito poderosas e efetivas que, no decorrer dos tempos, permitiram às plantas impedir, bloquear ou minimizar a ação de agentes patogênicos que poderiam por em risco a sobrevivência das mesmas. Porém, temos que considerar que, como as plantas, os patógenos também foram alvo dos processos evolutivos e continuam, até hoje, a sofrer modificações e adaptações, numa taxa muito mais alta e mais veloz do que aquela verificada para organismos superiores. Em última análise, isto pode representar uma tentativa, por parte do patógeno, para superar o bloqueio estrutural ou bioquímico imposto pela evolução das plantas como meio de defesa à colonização pretendida pelo patógeno. Em conseqüência da evolução do patógeno, a sobrevivência das plantas hospedeiras estaria condicionada, também, ao processo evolutivo, que permitisse a elas superar as adaptações e modificações sofridas pelo patógeno. Para isso, as plantas teriam que fazer uso de novos

caminhos metabólicos e alterações bioquímicas e estruturais. Há, portanto, um delicado balanço entre as ações e reações envolvidas na interação entre os dois componentes do sistema planta-patógeno, que resultará numa situação de compatibilidade ou de incompatibilidade entre ambos.

Assim, pode-se dizer que os mecanismos bioquímicos que se processam nas plantas e nos microorganismos estão sujeitos à modificações e adaptações, mesmo que pequenas, porém suficientes para garantir a sobrevivência de ambos através dos tempos.

Patógenos produtores de enzimas degradativas de parede celular e que fazem uso desse mecanismo para penetrar os tecidos do hospedeiro deixarão de ter sucesso caso o hospedeiro, através de modificações de seu metabolismo, passe a sintetizar substâncias tóxicas ao patógeno e a acumular na superfície dos tecidos normalmente atacados. Um fato bem conhecido na literatura especializada é a presença de substâncias tóxicas nas camadas superficiais de órgãos de plantas superiores (cascas de frutos e de raízes, periderme de tubérculos e cutícula das folhas) capazes de bloquear o desenvolvimento de patógenos em potencial (Johnson e Schaal 1952; Magro et al. 1983). Por exemplo, o acúmulo de fenóis na periderme de tubérculos de batata em resposta à presença de *Helminthosporium carbonum*, que, embora patogênico a outras culturas é inócuo para a batata, pode ser a razão porque este não consiga penetrar os tecidos da planta (Kuc et al. 1955, 1956; Kuc 1957; Clark et al. 1959; Allen & Kuc 1968). O seu desenvolvimento é bloqueado nas fases mais iniciais. Entretanto, a presença de compostos fungitóxicos não impede o ataque por fungos patogênicos, que não são por eles afetados, quer por não serem sensíveis aos níveis de concentração dessas substâncias nos tecidos do hospedeiro, quer por possuírem um sistema de detoxificação das mesmas. A literatura mostra que formas avirulentas de um patógeno podem ser sensíveis a determinados níveis de um composto fungitóxico, enquanto que as formas virulentas não o são. A resistência de tubérculos de batata à

requeima é um exemplo de como compostos fungitóxicos acumulados nos tecidos podem bloquear o desenvolvimento do patógeno em combinações incompatíveis (Preisig & Kuc 1987).

Trabalhos pioneiros desenvolvidos por Angell et al. (1930) e por Link & Walker (1933), com cebolas de casca vermelha, demonstraram a participação de compostos fenólicos, como o ácido protocatecólico e o catecol, no mecanismo de resistência ao *Colletotrichum circinans*. A presença de compostos fenólicos associados à cutina que recobre a superfície das folhas pode representar a diferença entre uma planta resistente, onde esses compostos estão presentes e agem como inibidores do patógeno, e uma planta suscetível onde eles não existem ou são encontrados em concentrações muito baixas (Shepherd & Mandryk 1963; Johnston & Sproston 1965; Tuzun et al. 1989).

Também a lignificação e suberização das paredes celulares do hospedeiro, ao redor do sítio de infecção, podem estar correlacionadas com a resistência, uma vez que poucos patógenos especializados são capazes de degradar diretamente tais barreiras (Manners & Myers 1975; Henderson & Friend 1979; Ride & Barber 1987; Hammerschmidt 1984; Pearce & Ride 1980). Esses compostos podem acumular no sítio de infecção formando uma barreira à penetração do patógeno. É o que ocorre, por exemplo, em plantas de milho resistentes a *Fusarium nivale* e *Giberella zeae* (Gauermann 1950), em folhas de cereais (Ride & Pearce 1979) e em tubérculos de batata feridos (Fox et al. 1972).

Tanto as bactérias como os fungos apresentam mecanismos bioquímicos bem definidos através dos quais podem superar os mecanismos de resistência de uma planta, seja ela hospedeira ou não. No caso da resistência ser determinada pela presença de compostos preformados, tóxicos ao microorganismo, então a suscetibilidade só poderá ser estabelecida para aqueles patógenos que forem insensíveis, tolerantes ou que possuam mecanismos bioquímicos capazes de degradar tais compostos. Uma proteína sintetizada *in vitro* por

*Colletotrichum lindemuthianum* inibe especificamente a enzima glucanase produzida pelo hospedeiro para degradar a parede quitinosa do fungo (Albersheim & Valent 1978). Outros microorganismos têm a capacidade de degradar compostos posformados, como as fitoalexinas, capazes de inibir o desenvolvimento de muitos microorganismos potencialmente patogênicos. É o caso, por exemplo, de *Botrytis cinerea* e *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* em pimentão, cuja suscetibilidade aos dois patógenos foi relacionada à capacidade daqueles em degradar as fitoalexinas acumuladas no tecido do hospedeiro (Higgins & Millar 1969; Ward & Stoessl 1972). Isto sugere que o patógeno, no decorrer de sua evolução, também modificou suas vias metabólicas para garantir a produção de enzimas degradativas de parede celular a fim de não ser afetado pelas substâncias tóxicas sintetizadas pelo hospedeiro, ou para fugir da ação degradativa de enzimas proteolíticas produzidas por este. Em muitos casos, a produção, pelo patógeno, de enzimas degradativas de parede é fundamental para o processo de penetração do mesmo no hospedeiro. A ação de enzimas proteolíticas por parte da planta impediria essa penetração, por destruir as enzimas degradativas de paredes liberadas pelo patógeno. O fenômeno segundo o qual um patógeno consegue evitar a ação de substâncias tóxicas produzidas pelo hospedeiro é denominado de **detoxificação** e pode ser verificado em muitos microorganismos patogênicos face à compostos pré ou posformados em seus hospedeiros. Essa batalha que se trava em nível celular e molecular em cada um dos organismos envolvidos numa interação patógeno-hospedeiro, corresponde a uma "declaração de guerra" entre eles, da qual sairá vencedor aquele que tiver maior sucesso nas alterações metabólicas que venham a ocorrer. Este é um dos princípios básicos da evolução e sobrevivência das espécies, pois determina o equilíbrio entre as mesmas, destartes seja uma patogênica a outra.

Portanto, desta primeira reflexão, pode-se inferir que a sobrevivência de uma dada espécie

vegetal depende: (a) da existência de mecanismos efetivos de defesa e resposta na planta, que são, porém, sujeitos à alterações devido à evolução; (b) de sua resistência à capacidade dos microorganismos em sofrer modificações e adaptações ao meio, o que resulta também em sua evolução e (c) da transmissibilidade desses mecanismos adquiridos às gerações futuras, o que representa a garantia da perpetuação da espécie.

Em resumo, pode-se dizer que os mecanismos de defesa de uma planta não apenas existem, mas podem sofrer alterações no curso da evolução e são geneticamente determinados.

Quanto à segunda reflexão, poderíamos fazer a seguinte pergunta para complementá-la: se a resistência é geneticamente determinada, e se os genes, em condições normais, não se perdem e nem se criam, como então explicar as mudanças no comportamento de uma planta ou de parte da mesma em função de vários fatores como idade, estado de maturação dos tecidos, condições ambientais etc?

Por exemplo, como poderia ser explicado o fato de que frutos jovens de maçã, resistentes a *Botryosphaeria ribis*, se tornam suscetíveis com a aproximação da fase de maturação dos mesmos? Ou, por que folhas de maçã quando totalmente expandidas são suscetíveis a *Venturia inaequalis*, enquanto que as folhas jovens são resistentes? E ainda, por que cultivares de pepino, resistentes a *Cladosporium cucumerinum* quando mantidos entre 20 a 24°C, se comportam como suscetíveis à temperaturas mais baixas? Como estes, existem inúmeros casos na literatura que dão conta de mudanças no comportamento de uma planta quanto à sua resistência ou suscetibilidade a um patógeno, em função de fatores intrínsecos e extrínsecos à mesma.

Assim, uma vez mais podemos concluir que a suscetibilidade de uma planta depende de um balanço muito delicado entre os mecanismos bioquímicos de ataque e defesa dos dois componentes do sistema patógeno-hospedeiro, e das condições ambientais sob as quais ocorre a interação. Este equilíbrio pode ser quebrado, tanto em nível do hospedeiro como do patógeno-

no, o que resultará na mudança do comportamento da planta frente ao patógeno, podendo passar da condição de suscetível para a de resistente ou vice-versa.

Daf se conclui que todas as plantas possuem um potencial genético para resistência, específico ou inespecífico, cuja expressão é função de vários fatores intrínsecos ou extrínsecos tanto à planta como ao patógeno. O fato de uma planta expressar seu potencial para suscetibilidade a um patógeno não implica, necessariamente, que ela não possua outros mecanismos de resistência inespecífica que possam ser ativados. Implica, isto sim, em que tais mecanismos possam estar bloqueados ou reprimidos, mas que em condições especiais podem ser ativados. Vale aqui lembrar que a velocidade e a intensidade com que esse potencial para resistência é expresso pode significar a diferença entre suscetibilidade e resistência. A manipulação dos mecanismos de resistência, antes inoperantes no hospedeiro, apenas leva a planta a um "estado de alerta", quando todas as suas defesas estão ativadas para impedir uma posterior infecção por um patógeno.

Em relação à terceira e última reflexão, experimentos realizados por inúmeros autores tem demonstrado que uma planta suscetível pode passar a se comportar como resistente e vice-versa, dependendo de processos que levam à ativação de seus mecanismos bioquímicos. É exatamente esse processo de modificação da expressão genética de resistência que chamamos de **Resistência Induzida** e que representa toda a base do **Controle Induzido** e da **Imunização**.

Os primeiros trabalhos sobre a indução de resistência datam de fins do século passado, porém poucos detalhes se tem sobre eles. Em 1901, Ray demonstrou a possibilidade de diminuir a incidência de ferrugem em plantas de begonia previamente tratadas com formas atenuadas do próprio patógeno. Outro trabalho pioneiro digno de menção foi o realizado por Bernard (1909), no qual o autor demonstrou a proteção obtida em bulbos de orquídeas contra o ataque de *Rhizoctonia repens* através do tra-

tamento prévio dos mesmos com formas atenuadas do patógeno. Trabalhos esporádicos sobre o assunto foram publicados nos anos subsequentes, porém, só após a década de 50 é que a investigação sobre a indução de resistência voltou a captar a atenção dos cientistas do mundo todo.

A metodologia empregada para se estimular a resposta inespecífica de resistência das plantas é a mesma, independente da natureza do patógeno visado, seja ele um fungo, uma bactéria ou um vírus. Todo o processo é fundamentado no tratamento das plantas com um indutor antes que tenha ocorrido a infecção pelo patógeno. Ao contrário do Controle Biológico, cuja ação se dá sobre o patógeno, o processo de indução de resistência e a imunização são métodos que têm uma ação preventiva, mas geralmente não têm ação curativa. Como o estímulo de todo mecanismo bioquímico leva a efeitos de duração transitória, também a indução de resistência, por se processar segundo esse princípio, estimula uma resposta transitória no hospedeiro, com efeitos de duração quase sempre limitada. Com isso, os tratamentos indutores devem ser repetidos a intervalos regulares enquanto durar o período crítico para infecção. Em termos de persistência, o efeito indutor na planta irá variar de acordo com o hospedeiro, o indutor, a concentração deste, as condições ambientais (principalmente o regime e o volume de precipitação pluviométrica), o tipo de formulação empregada no preparo do indutor, o potencial de inóculo e muitos outros fatores.

## TIPOS DE INDUTORES

Por **Indutor** entende-se: "todo e qualquer agente microbiano ou substância por ele produzida capaz de induzir na planta hospedeira uma resposta de resistência, em consequência da ativação de seus mecanismos inespecíficos de resposta". Como indutores podem ser usados:

### Microorganismos não-patogênicos

Em 1976, Hammerschmidt et al. trabalharam

do com plantas de pepino, lograram torná-las resistentes a *Colletotrichum lagenarium* e *Cladosporium cucumerinum* pela inoculação prévia com *Colletotrichum lindemuthianum*, não-patogênico à cultura. Resistência induzida, que variou de 40 a 93%, também foi observada em cafeeiros suscetíveis à *Hemileia vastatrix*, quando as plantas foram previamente inoculadas com *Puccinia psidi* (85%), *Tranzschelia prunispinosae* var. *discolor* (93%), *Puccinia oxalidis* (41%), *Helminthosporium carbonum* (61%) e *Mycosphaerella melonis* (80%). Bactérias não-patogênicas ao cafeeiro também se mostraram ativas em induzir resistência contra a ferrugem. Entre aquelas podem ser citadas: *Bacillus megaterium* (92,5%), *Xanthomonas manihotis* (92%), *Alcaligena faecalis* (60%), *Bacillus subtilis* (56%), *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (84%) e *Pseudomonas rubrilineans* (52%) (Bettiol et al. 1989; Martins et al. 1985, 1986; Roveratti et al. 1989a,b).

Tratamento de plantas jovens de melão com uma suspensão de esporos de *Helminthosporium carbonum* tornou-as resistentes a uma infecção posterior por *Mycosphaerella melonis* (Pascholati et al. 1986). Os autores verificaram que a taxa de proteção induzida variou de acordo com o cultivar de melão empregado nos testes. Para o cv. Amarelo Tandral, a proteção foi de 74%, enquanto que para o Valenciano Verde foi de 89%.

Pesquisas recentes mostraram que a antracnose do milho, causada por *Colletotrichum graminicola*, também foi controlada em experimentos de casa-de-vegetação pela inoculação prévia das folhas com uma suspensão ou filtrado de células de *Sacharomyces cerevisiae* (Silva 1989). Já no caso do café, essa mesma levedura protegeu as plantas contra a ferrugem, porém não por ter induzido resistência, mas por um efeito físico. A suspensão de células da levedura ao se depositar sobre as folhas impede a aderência necessária dos uredíniosporos, para que eles possam germinar e infectar as folhas (Roveratti 1989c).

Gregersen e Smedegaard (1989) usaram um

fungo saprofito - *Cladosporium macrocarpum* - para induzir resistência em plantas de cevada contra *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, porém o nível de proteção obtida não ultrapassou 37%, sendo considerado baixo quanto a sua eficiência.

A concentração do indutor e a relação desta com a concentração do patógeno é um dos determinantes da porcentagem de proteção atingida. Da mesma maneira, o intervalo entre a aplicação do indutor e a inoculação com o patógeno também é fator limitante para o sucesso do processo de indução. Estes intervalos variam de cultura para cultura em função da idade das plantas, da relação entre a concentração do indutor e o potencial de inóculo, das condições climáticas, da época do ano etc.

Entre os fatores extrínsecos que podem afetar o processo de indução de resistência, a luz é um dos mais importantes. Lozano e Sequeira (1970) verificaram que só era possível induzir proteção em folhas de fumo previamente infiltradas com células de *Pseudomonas solanacearum* termicamente inativadas, se as plantas fossem mantidas em regime de luz. Entretanto, há exemplos onde a luz exerce uma ação contrária a verificada pelos autores acima referidos, como demonstrado por Carrol e Lukezic (1972). Estes autores verificaram que plantas de alfafa inoculadas com estirpes fracas de *Corynebacterium insidiosum* se mostravam mais resistentes a uma subsequente inoculação com o patógeno, quando eram mantidas em condição de escuro.

### Raças avirulentas de um patógeno

Inúmeros trabalhos têm demonstrado a possibilidade de se induzir resistência através do tratamento com raças avirulentas de um patógeno. Plantas de feijão foram protegidas contra *Colletotrichum lindemuthianum*, causador da antracnose, através do tratamento prévio com raças avirulentas do mesmo (Skip & Deverall 1973; Ellinston et al. 1971; Rahe et al. 1969a,b). As plantas protegidas desenvolveram pequenas lesões, típicas de reação de hipersensibilidade, sendo que a proteção se deu tanto em nível local como sistêmica. Ain-

da nesse trabalho, os autores mostraram a influência do intervalo entre as duas inoculações na eficiência do método de indução.

Littlefield (1969) também logrou induzir proteção em plantas de linho contra a ferrugem causada por *Melampsora lini*, através da inoculação prévia de raças avirulentas do patógeno.

#### **Microorganismos inativados, patogênicos ou não**

A utilização de microorganismos, patogênicos ou não, termicamente inativados ou submetidos à sonicação tem sido alvo de várias pesquisas, que demonstraram ser esta uma das formas de se induzir resistência em plantas contra fitopatógenos.

Moraes et al. (1976) conseguiram uma redução superior a 70% no número médio de lesões por folha, em cafeeiros inoculados com *Hemileia vastatrix*, pelo tratamento prévio das plantas com uma suspensão de uredíniosporos autoclavados. Resultados similares foram obtidos por Pascholati et al. (1986) ao tratar plantas de melão com uma suspensão de confídios de *Mycosphaerella melonis* termicamente inativados, previamente à inoculação com o patógeno vivo. A proteção alcançada nesse caso foi da ordem de 80%.

#### **Patógenos ou raças fisiológicas virulentas**

Esta é uma das formas mais intrigantes do controle induzido, ou seja, a utilização do próprio patógeno contra um ataque posterior por ele mesmo. Neste caso, podem ser usados patógenos diferentes ou o mesmo para as duas inoculações. Em geral, escolhe-se como indutor um patógeno causador de lesões locais. Quando a proteção induzida é sistêmica, as folhas inoculadas com o indutor podem, inclusive, ser eliminadas após alguns dias, sem que isso interfira com os resultados da indução.

Entre os trabalhos mais significativos nos últimos vinte anos sobre o tema em questão, merecem especial destaque aqueles realizados pela equipe do Professor Kuc (Kuc & Rahe

1970; Kuc et al. 1976; Kuc 1982; Kuc & Preisig 1984; Kuc 1985; Preisig & Kuc 1987). Este grupo obteve resultados surpreendentes quanto à imunização de plantas de feijão, pepino, melão, melancia, batata e fumo contra diferentes patógenos.

Com relação aos trabalhos com pepino, melancia e melão, a inoculação de folhas cotiledonares com *Colletotrichum lagenarium* resultou na proteção das folhas superiores, lançadas posteriormente, contra uma subsequente inoculação com o patógeno (Kuc et al. 1975; Caruso & Kuc, 1977a,b; Kuc & Richmond, 1977; Caruso & Kuc, 1979). Os autores observaram que a proteção assim obtida era sistêmica e que não dependia da presença da folha previamente inoculada, uma vez que a remoção da mesma não alterou os resultados. Um aspecto muito interessante observado foi o de que as plantas de pepino não se tornavam protegidas quando o tratamento indutor era aplicado após o início da floração e frutificação (Guedes et al. 1980). A imunização foliar de plantas de pepino com *C. lagenarium* ou com o vírus da necrose do fumo mostrou ser efetiva tanto contra *C. lagenarium* como contra *C. cucumerinum* e *Pseudomonas lachrymans*, além de diversos outros patógenos, incluindo vírus, bactérias e fungos, tanto da parte aérea como da raiz. Em 1975, Kuc et al. demonstraram que oito cultivares de pepino, suscetíveis a *Colletotrichum lagenarium* raça 1, se tornavam resistentes a ele, pelo tratamento prévio com o próprio patógeno. Os autores também verificaram que tratamentos sucessivos com o patógeno, aumentavam a persistência do efeito indutor até 10 semanas. Embora o *Cladosporium cucumerinum* proteja os cultivares de pepino a ele resistentes contra uma posterior infecção por *C. lagenarium*, o *C. lagenarium* induz proteção contra o *C. cucumerinum* independente do grau de resistência ou suscetibilidade em relação a este último.

Isto vem comprovar, uma vez mais, o aspecto inespecífico da proteção induzida, o que é altamente interessante do ponto de vista prático.

### Metabólitos microbianos

Em muitos casos tem sido demonstrado que a presença física do microorganismo indutor nem sempre é necessária para que haja uma resposta de resistência nas plantas tratadas. Metabólitos produzidos em meio de cultura ou extraídos por lavagem de esporos e micélio de fungos e de células bacterianas podem agir como indutores de resistência com a mesma eficácia que os organismos que os produziram.

Schoenbeck et al. (1980) e Alten e Schoenbeck (1981) conseguiram reduzir a infecção por *Uromyces appendiculatus* (syn. *U. phaseoli*) em plantas de feijão, através do tratamento prévio das mesmas com filtrado do meio de cultura de diversos isolados de bactérias gram-negativas e gram-positivas, entre elas o *Bacillus subtilis*. Os autores verificaram que tanto a germinação dos esporos do patógeno, como o crescimento das hifas e a formação de apressórios, não foram afetados pelo tratamento com o indutor. Porém, a penetração e o desenvolvimento do *U. appendiculatus* no interior do tecido do hospedeiro, incluindo a fase de esporulação do patógeno, foram significativamente reduzidas. A resistência induzida foi sistêmica e eficaz não apenas contra a ferrugem do feijão, mas também contra o oídio, míldio e algumas ferrugens em outros hospedeiros. Dentre as bactérias testadas, apenas uma gram-negativa e uma gram-positiva reduziram a germinação do patógeno, o que caracterizou o controle, nesses casos, como sendo do tipo biológico propriamente dito e não indutivo.

Também Mukhopadhyay e Sinha (1980) lograram obter proteção induzida em plantas de arroz contra *Drechslera oryzae* pelo tratamento prévio daquelas com filtrado da água de germinação dos esporos do patógeno.

No Brasil, Beretta et al. (1977) trabalhando com cafeeiros suscetíveis induziram proteção sistêmica contra *Hemileia vastatrix*, quando trataram previamente as plantas com o filtrado da água de lavagem de uredíniosporos do patógeno, termicamente inativados. Dependendo do intervalo entre os dois tratamentos, a

proteção alcançou até 92,5%, no caso extremo para 72 h de intervalo. Posteriormente, Guzzo et al. (1987), mostraram tratar-se de um indutor termo-estável, de natureza polissacarídica, com predominância de resíduos de manose ligados em  $\beta$  configuração, formando cadeias de  $\beta$ -mananas. Também foi verificada a presença de resíduos de glucose, galactose e traços de arabinose, nas preparações purificadas a partir do indutor bruto.

Proteção sistêmica foi induzida em plantas de batata contra uma posterior infecção por *Phytophthora infestans*, quando aquelas foram previamente tratadas com componentes da parede celular do micélio do patógeno. A proteção foi observada mesmo para intervalos maiores, de até 20 dias, entre a aplicação do indutor e a inoculação com o patógeno (Doke et al. 1987). Os autores ainda sugerem que os componentes da parede celular do micélio do patógeno tem a propriedade de induzir reação de hipersensibilidade nas folhas das plantas de batata, o que atavaria ou desencadearia um sistema de resposta no hospedeiro capaz de interferir posteriormente com a infecção pelo patógeno. Segundo esses autores, essa resposta do hospedeiro levaria, entre outras coisas, a uma redução no número de zoósporos germinados, com conseqüente redução da penetração e manifestação dos sintomas.

### TRANSMISSÃO DA RESISTÊNCIA INDUZIDA

Em alguns casos, já foi possível demonstrar a possibilidade de transmissão da resistência induzida através de técnicas de enxertia, como no caso de plantas de pepino enxertadas sobre porta-enxertos previamente protegidos. Jenns e Kuc (1979) enxertaram plantas de pepino sobre porta-enxertos da mesma variedade, previamente protegidos contra *Colletotrichum lagenarium* pelo mesmo ou por vírus da necrose do fumo. Posteriormente, Dean e Kuc (1986a,b,c) verificaram que plantas de pepino previamente protegidas contra *C. lagenarium* por inoculação das folhas com o próprio pató-

geno, quando eram usadas como porta-enxertos para plantas sadias, podiam transmitir a estas a proteção antes induzida, desde que o porta-enxerto mantivesse uma folha infectada após o processo de enxertia. Estes e outros experimentos complementares levaram os autores a formular a hipótese de que a folha infectada que permanece no porta-enxerto representa a fonte de um "sinal" para a proteção sistêmica induzida no enxerto, e que esse "sinal" não é retranslocado ou produzido novamente nas folhas sistematicamente protegidas do enxerto.

### PERSPECTIVAS DO EMPREGO DE MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS NO CAMPO

Nesta última década, a agricultura de muitos países desenvolvidos vem passando por mudanças radicais das práticas agrícolas adotadas, visando diminuir a poluição ambiental e a contaminação dos alimentos causadas pelo uso excessivo, indevido e, muitas vezes, indiscriminado de agrotóxicos. Nos Estados Unidos, a atenção de técnicos, agricultores e ambientalistas se volta, cada vez mais, para a implantação de uma "agricultura ambientalista", baseada em práticas não-convencionais de cultivo, associadas a métodos alternativos de controle de doenças e pragas. Tanto a imunização como a indução de resistência, associadas à práticas culturais que diminuem os riscos de contaminação dos recursos naturais e dos alimentos em geral, se enquadram perfeitamente dentro dessa nova filosofia de "agricultura ambientalista" ou "agricultura alternativa".

Inúmeros trabalhos têm demonstrado a possibilidade do emprego, na prática, da imunização de plantas e da indução de resistência, como métodos alternativos de controle de doenças. Entretanto, apesar das perspectivas favoráveis quanto ao sucesso do emprego destes no campo, faz-se necessário o estabelecimento de parâmetros bem definidos para sua

utilização, já que inúmeros fatores, como as condições ambientais, níveis iniciais do potencial de inóculo, variedade do hospedeiro, tipo de indutor utilizado, concentração do indutor, intervalo entre as aplicações do indutor, entre outros, podem interferir no êxito do tratamento.

Shimotsuma et al. (1972) demonstraram que a severidade da murcha causada em plantas de melancia por *Fusarium oxysporum* f.sp. *niveum* era profundamente afetada pela temperatura, cultivar do hospedeiro, local onde a inoculação era realizada e pelo intervalo entre esta e o tratamento prévio com o indutor. Neste caso, a inoculação prévia com *Helminthosporium carbonum* se mostrou mais efetiva no processo de proteção do que quando o indutor foi o *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* ou o *Verticillium albo-atrum*. Os autores observaram, também, que temperaturas mais altas (27°C) afetaram negativamente o processo de indução de proteção quando comparado aos resultados obtidos à temperaturas de 20°C.

Também foram observados, na prática, resultados positivos quanto à proteção induzida contra *Colletotrichum lagenarium* em plantas de pepino, melão e melancia submetidas a uma baixa infecção pelo patógeno, antes de serem transplantadas para o campo. A sobrevivência de plantas de melancia com proteção induzida foi de 98% contra 32% do controle não tratado (Caruso e Kuc 1977b).

Desde 1959 já era conhecida a possibilidade de se reduzir a severidade do mofo cinzento através da indução de resistência pelo próprio patógeno (Pont 1959). Posteriormente, esses dados foram confirmados por Cruickshank e Mandrik (1960), tanto em nível de casa-de-vegetação como em campo. Mais recentemente, Tuzun et al. (1984), confirmaram a viabilidade do emprego da imunização de plantas de fumo crescidas no campo contra o ataque pelo mofo cinzento. A proteção obtida e a redução da severidade da doença foi comparável ao controle exercido pelo metalaxil. Os experimentos foram reali-

zados em dois campos comerciais na região produtora de fumo, no Kentucky, EUA, e em Porto Rico. Nestes casos, foi injetada, no caule das plantas, uma suspensão de esporângios de *Peronospora tabacina* como agente indutor. A infecção se deu naturalmente no campo. Os autores também verificaram que esporângios do patógeno aplicados no solo, ao redor das plantas, também induziam proteção nas plantas (Cohen e Kuc 1981).

Segundo Falkhof et al. (1988), as condições ambientais em que as plantas se desenvolvem antes de serem submetidas a um processo de indução de resistência, no campo, são fundamentais para o êxito da operação. Condições naturais de luz, temperatura e umidade, como as que existem no campo, favorecem o processo de indução de resistência. Os autores trabalharam com feijão, trigo e cevada e os patógenos *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, *E. graminis* f.sp. *tritici*, *Puccinia hordei* e *Uromyces appendiculatus*. Como indutor de resistência foi utilizado o *Bacillus subtilis*. Em todos os casos, a redução na severidade da doença foi consideravelmente maior do que aquela obtida para plantas crescidas em condições controladas antes da aplicação do indutor. A luz e a temperatura mostraram ser fatores limitantes para o êxito do controle induzido, na fase de desenvolvimento da planta anterior ao tratamento, o que indica a intensa relação existente entre o estado fisiológico da planta no momento do tratamento indutor e a capacidade da mesma em responder positivamente ao tratamento.

No Brasil, os experimentos sobre a indução de resistência em cafeeiros contra a ferrugem foram levados ao campo, a fim de que se pudesse comparar os resultados obtidos com aqueles anteriormente verificados para plantas mantidas em casa-de-vegetação. Inicialmente, usou-se o Thuricide HD, à base de *Bacillus thuringiensis*, como agente indutor, por ser este um produto já comercializado e por ter se mostrado altamente eficaz na redução da severidade da doença em nível de casa-de-vegetação. Além disso, a persistência do efeito

protetor por mais de quatro semanas, em condições de casa-de-vegetação, teve um papel decisivo na escolha do produto a ser testado como indutor em plantas no campo. Os resultados desse primeiro experimento, realizado com plantas de dois a três anos de idade, foram bastante promissores, com uma proteção variando entre 43 e 84%, dependendo da época em que as aplicações foram iniciadas e o número de aplicações feitas. Estes resultados serviram de base para experimentos subsequentes, porém com outros produtos comerciais à base do mesmo bacilo. Os resultados não diferiram muito dos primeiros, porém, a proteção induzida foi menor, ao redor de 50%. Entretanto, é importante salientar que as condições climáticas, no decorrer dos dois experimentos, foram significativamente diferentes, assim como a incidência da ferrugem que foi consideravelmente maior no segundo (Roveratti et al. 1989b).

Também foi testado o emprego do fermento biológico comercial (Fermento Fleischman) à base de *Saccharomyces cerevisiae*, como meio de controle da ferrugem no campo. Embora o produto tenha sido testado apenas durante um ano agrícola, os resultados não foram tão animadores como no caso anterior, uma vez que a proteção, alta no início do experimento, decresceu no decorrer do experimento, atingindo no final valores abaixo de 20%. Apesar disso, uma observação feita durante o período de rebrota dos cafeeiros mostrou que as plantas que haviam sido tratadas com o fermento biológico se apresentavam mais vigorosas e mais enfolhadas, denotando, com isso, uma melhor recuperação quando comparadas aos controles ou a aquelas tratadas com fungicidas cúpricos (Roveratti, D.S. Comunicação pessoal).

Embora em muitos países já existam projetos sendo executados a nível de campo, em culturas comerciais, no Brasil essa experiência ainda é muito restrita e apenas insipiente. Os dados obtidos no exterior sugerem várias possibilidades do emprego da imunização e da indução local de proteção como um meio de se

alterar a expressão do genoma de uma planta através da ativação dos seus mecanismos inespecíficos de defesa. Com o desenvolvimento da biotecnologia e da biologia molecular, esses processos alternativos de controle de doenças e pragas de plantas podem se tornar ainda mais eficazes. Tais práticas poderão garantir a preservação das alterações obtidas pelos processos de indução de resistência ou imunização e a sua transmissão às gerações futuras, inclusive através da multiplicação "in vitro", como já vem sendo tentado nos EUA. Além disso, uma vez conhecidos os mecanismos de defesa ativadas pela indução de resistência, poder-se-á, através do emprego da engenharia genética, introduzir no genoma da planta genes específicos para resistência provenientes de espécies selvagens. Também, já vem sendo tentada a introdução na planta de genes obtidos de microorganismos produtores de substâncias elicitoras de fitoalexinas, como alguns polissacarídeos, com o fim de induzir uma resposta de resistência permanente no hospedeiro. Essa alteração do genoma para resistência já faz parte de projetos de pesquisas de diversos grupos em países como a Alemanha e os Estados Unidos.

Embora as perspectivas para o emprego, no campo, de métodos alternativos de controle sejam favoráveis, há ainda muitos problemas a serem contornados antes que se possa pensar numa viabilização absoluta de tais métodos. A maioria dos problemas diz respeito à necessidade de esclarecimento de alguns aspectos básicos dos mecanismos específicos e inespecíficos de reconhecimento e resposta das plantas. Outro ponto importante é a determinação química e o modo de ação e transmissão do "sinal" gerado durante a indução de resistência e responsável pela ativação do mecanismo de resistência.

Outro problema que ainda precisa ser superado é a baixa competitividade econômica com os métodos tradicionais de controle. Isso se deve, entre outros fatores, à falta de uma pesquisa orientada para novas tecnologias de produção de indutores mais eficientes e com menor custo. Também são necessárias maiores in-

formações sobre os parâmetros adequados para aplicação desses indutores no campo. A resposta para essa questão seria o incentivo da aplicação prática do método no campo, para diferentes culturas. Para isto, entretanto, seria necessário um maior apoio por parte do próprio governo, uma redução do ceticismo dos pesquisadores em aceitar o fato de que as plantas podem ser imunizadas ou ter seus mecanismos de defesa ativados, como ocorre nos animais, e a boa vontade dos próprios agricultores que relutam em substituir o uso de agrotóxicos por métodos alternativos.

Segundo Kuc (1987), as dificuldades para o uso, na prática, da imunização ou do controle induzido são muito mais do tipo logístico do que conceitual, principalmente para que alguns problemas econômicos referentes à tecnologia de preparo e aplicação dos indutores possam ser superados. Também, problemas relacionados com a formulação dos indutores ainda precisam ser contornados, antes que eles possam ser efetivamente usados na prática com êxito total.

É verdade que o processo de imunização representa um amplo campo de trabalho e tem aberto outros tantos na área da biologia molecular. Referimo-nos, com isso, às perspectivas de manipulação do genoma da planta a fim de modificar, expressar e perpetuar os mecanismos inespecíficos da resposta de resistência, contribuindo para um controle de doenças e pragas de menor risco ao meio ambiente e ao homem.

## REFERÊNCIAS

- ALBERSHEIM, P.; VALENT, B.S. Host pathogen interactions in plants. Plants, when exposed to oligosaccharides of fungal origin, defend themselves by accumulating antibiotics. *Journal of Cell Biology*, v.78, p.627-643, 1978.
- ALLEN, E.H.; KUC, J. Solanine and chaconine as fungitoxic compounds in extracts of irish potato tubers. *Phytopathology*, v.58, p.776-781, 1968.

- ALTEN, H. von; SCHOENBECK, F. Zur Einfluss induzierter Wirtresistenz auf Vitalität und Infektionsität von *Uromyces phaseoli* (Pers.) Wint. **Phytopathologische Zeitschrift**, v.101, p.271-274, 1981.
- ANGELL, H.R.; LINK, K.P.; WALKER, J.C. The relation of protocatechuic acid to disease resistance in the onion. **Phytopathology**, v.20, p.431-438, 1930.
- BERETTA, M.J.G.; MARTINS, E.M.F.; MORAES, W.B.C. Induced protection to *Hemileia vastatrix* at a distance from the site of the inducing action in coffee plants. **Summa Phytopathologica**, v.3, p.66-70, 1977.
- BERNARD, N. Remarques sur l'immunité chez les plantes. **Bulletin de l'Institut Pasteur**, v.7, p.369-386, 1909.
- BETTIOL, W.; GALVÃO, J.A.H.; CHINI, R.; MENDES, M.D.L. Efeito de *Bacillus subtilis* sobre a ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*). **Summa Phytopathologica**, v.15, p.43, 1989.
- CARROL, R.B.; LUKEZIC, F.L. Induced resistance in alfafa to *Corynebacterium insidiosum* by prior treatment with avirulent cells. **Phytopathology**, v.62, p.555-563, 1972.
- CARUSO, F.; KUC, J. Field protection of cucumber, watermelon and muskmelon against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. **Phytopathology**, v.67, p.1290-1292, 1977b.
- CARUSO, F.; KUC, J. Induce resistance of cucumber to anthracnose and angular leaf spot by *Pseudomonas lachrymans* and *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v.14, p.191-201, 1979.
- CARUSO, F.; KUC, J. Protection of watermelon and muskmelon against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. **Phytopathology**, v.67, p.1285-1289, 1977a.
- CLARK, R.S.; KUC, J.; HENZE, R.E.; QUACKENBUSH, F.W. The nature and fungitoxicity of an amino acid addition product of chlorogenic acid. **Phytopathology**, v.49, p.594-597, 1959.
- COHEN, Y.; KUC, J. Evaluation of systemic resistance to blue mold induced in tobacco leaves by prior stem inoculations with *Peronospora tabacina*. **Phytopathology**, v.71, p.781-789, 1981.
- CRUICKSHANK, I.A.M.; MANDRIK, M. The effect of stem injection of tobacco with *Peronospora tabacina* Adam on foliage reaction to blue mold. **Journal of the Australian Institute Agricultural Science**, v.26, p.369-372, 1960.
- DEACON, J.W. **Microbial control of plant pests and diseases**. Berkshire: England, Van Nostrand Reinhold, 1983. p.1-88.
- DEAN, R.; KUC, J. Induced systemic protection in cucumber: the source of the signal. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.28, p.227-233, 1986a.
- DEAN, R.; KUC, J. Induced protection in cucumbers: time of production and movement of the "signal". **Phytopathology**, v.76, p.996-970, 1986b.
- DEAN, R.; KUC, J. Induced systemic protection in cucumber: effects of inoculum density of symptom development of *Colletotrichum lagenarium* in protected and unprotected plants. **Phytopathology**, v.76, p.186-189, 1986c.
- DOKE, N.; RAMIREZ, A.V.; TOMIYAMA, K. Systemic induction of resistance in potato plants against *Phytophthora infestans* by local treatment with hyphal wall components of the fungus. **Journal of Phytopathology**, v.119, p.232-239, 1987.
- ELLISTON, J.; KUC, J.; WILLIAMS, E.B. Induced resistance to anthracnose at a distance from the site of the inducing interaction. **Phytopathology**, v.61, p.1110-1112, 1971.
- FALKHOF, A.G.; DEHNE, H.W.; SCHOENBECK, F. Dependence of the effectiveness of induced resistance on environmental conditions. **Journal of Phytopathology**, v.123, p.311-321, 1988.
- FOX, R.T.V.; MANNERS, J.G.; MYERS, A. Ultrastructure of tissue disintegrations and host reactions in potato tubers infected by *Erwinia carotovora* var. *atroseptica*. **Potato Research**, v.15, 130-145, 1972.
- GAUMANN, E. **Principles of plant infection**. BRIERLEY, W.B. (ed.) London: Crosby Lockwood, 1950.

- GREGERSEN, P.L.; SMEDEGAARD, V. Induction of resistance in barley against *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei* after preinoculation with the saprophytic fungus, *Cladosporium macrocarpum*. **Journal of Phytopathology**, v.124, p.128-136, 1989.
- GUEDES, M.E.M.; RICHMOND, S.; KUC, J. Induced systemic resistance to anthracnose in cucumber as influenced by the location of the inducer inoculation with *Colletotrichum lagenarium* and the onset of flowering and fruiting. **Physiological Plant Pathology**, v.17, p.229-233, 1980.
- GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F.; MORAES, W.B.C. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*. I. Partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. **Fitopatologia brasileira**, v.12, p.377-385, 1987.
- HAMMERSCHMIDT, R. Rapid deposition of lignin in potato tuber tissue as a response to fungi non-pathogenic on potato. **Physiological Plant Pathology**, v.24, p.33-42, 1984.
- HAMMERSCHMIDT, R.; ACRES, S.; KUC, J. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Cladosporium cucumerinum* and *Colletotrichum lindemuthianum*. **Phytopathology**, v.66, p.790-793, 1976.
- HENDERSON, S.J.; FRIEND, J. Increase in PAL and lignin-like compounds as race-specific responses of potato tubers to *Phytophthora infestans*. **Phytopathologie Zeitschrift**, v.94, p.323-334, 1979.
- HIGGINS, V.J.; MILLAR, R.L. Comparative abilities of *Stemphylium botryosum* and *Helminthosporium turcicum* to induce and degrade a phytoalexin from alfafa. **Phytopathology**, v.95, p.1493-1499, 1969.
- JENNS, A.; KUC, J. Graft transmission of systemic resistance of cucumber to anthracnose induced by *Colletotrichum lagenarium* and tobacco necrosis virus. **Phytopathology**, v.69, p.753-756, 1979.
- JOHNSON, G.; SCHAAL, L.A. Relation of chlorogenic acid to scab resistance in potatoes. **Science**, v.115, p.627, 1952.
- JOHNSON, H.W.; SPROSTON, T.Jr. The inhibition of fungus infection pegs in *Ginkgo biloba*. **Phytopathology**, v.55, p.225-227, 1965.
- KUC, J. A Biochemical study of the resistance of potato tuber tissue to attack by various fungi. **Phytopathology**, v.47, p.676-689, 1957.
- KUC, J. Plant immunization-mechanisms and practical implications. In: WOOD, R.K.S. ed. **Active defense mechanism in Plants**, New York: Plenum Press, 1982. p.157-178.
- KUC, J. Expression of latent genetic information for disease resistance in plants. In: KEY, J.; KOSUGUE, T. (ed.) **Cellular and Molecular Biology of Plant Stress**. New York: A. Liss, 1985. p.303-318.
- KUC, J. Plant immunization and its applicability for disease control. In: CHET, I. (ed.) **Innovative approaches to plant disease control**, New York: John Wiley 1987. p.255-274.
- KUC, J.; PREISIG, C.L. Fungal regulation of disease resistance mechanisms in plants. **Mycologia**, v.76, p.767-784, 1984.
- KUC, J.; RAHE, J.E. Factors affecting gene expression as a key to disease resistance in plants. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.37, p.1-7, 1970.
- KUC, J.; RICHMOND, S. Aspects of protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. **Phytopathology**, v.67, p.533-536, 1977.
- KUC, J.; CURRIER, W.; ELLINSTON, J.; McINTYRE, J. Determinants of plant disease resistance and susceptibility: a perspective based on three plant-parasite interactions. In: TOMIYAMA, K.; DALY, J.; URITANI, I.; OKU, H.; OUCHI, S. (ed.) **Biochemistry and Cytology of Plant-Parasite Interaction**. Tokyo: Kodansha 1976. p.168-180.
- KUC, J.; HENZE, R.E.; ULLSTRUP, A.J.; QUACKENBUSH, F.W. Chlorogenic and caffeic acids as fungistatic agents produced by potatoes in response to inoculation with *Helminthosporium carbonum*. **Journal American of Chemical Society**, v.78, p.3123-3125, 1956.
- KUC, J.; SCHOCKLEY, G.; KEARNEY, K. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by

- Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v.7, p.195-199, 1975.
- KUC, J.; ULLSTRUP, A.J.; QUACKENBUSH, F.W. Production of fungistatic agents by plant tissue after inoculation. **Science**, v.122, p.1186, 1955.
- LINK, K.P.; WALKER, J.C. The isolation of catechol from pigmented onion scales and its significance in relation to disease resistance in onions. **Journal of Biological Chemistry**, v.100, p.379-383, 1933.
- LITTLEFIELD, L.J. Flax rust resistance induced by prior inoculation with an avirulent race of *Melampsora lini*. **Phytopathology**, v.59, p.1223-1328, 1969.
- LOZANO, J.C.; SEQUEIRA, L. Prevention of the hypersensitive reaction in tobacco leaves by heat-killed cells of *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**, v.68, p.875-877, 1970.
- MAGRO, P.; MARCIANO, P.; DI LENNA, P. Metabolic alteration induced by *Botrytis allii* in two onion cultivars with different resistance to neck rot. **Plant Pathology**, v.32, p.295-302, 1983.
- MANNERS, J.G.; MYERS, A. The effect of fungi (particularly obligate pathogens) on the physiology of higher plants. **Symposium Society Experimental Biology**, v.29, p.279-296, 1975.
- MARTINS, E.M.F.; BERETTA, M.J.G.; ROVERATTI, D.S.; MORAES, W.B.C. Comparative induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, v.10, p.521-529, 1985.
- MARTINS, E.M.F.; MARIA, A.D. DE; GRUNEWALDT-STOECKER, G; MORAES, W.B.C. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat treatment. **Fitopatologia brasileira**, v.11, p.898-909, 1986.
- MORAES, W.B.C.; MARTINS, E.M.F.; MUSUMECI, M.R.; BERETTA, M.J.G. Induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. **Summa Phytopathologica**, v.2, p.39-43, 1976.
- MUKHOPADHYAY, S.; SINHA, A.K. Spore germination fluid as inducer of resistance in rice plants against brown spot disease. **Transactions of the British Mycological Society**, v.74, p.69-72, 1980.
- PASCHOLATI, S.F.; MORAES, W.B.C.; FIGUEIREDO, M.B.; OLIVEIRA, A.R. Induced protection in melon plants against *Mycospahaerella melonis* by prior inoculations with *Helminthosporium carbonum* or heat-inactivated *M. melonis*. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, p.507-514, 1986.
- PEARCE, R.B.; RIDE, J.P. Specificity of induction of the lignification response in wounded wheat leaves. **Physiological Plant Pathology**, v.16, p.197-204, 1980.
- PONT, W. Blue mold (*Peronospora tabacina* Adam) of tobacco in North Queensland. Some aspects of chemical control. **Queensland Journal of Agricultural Sciences**, v.16, p.299-327, 1959.
- PREISIG, C.L.; KUC, J. Phytoalexins, elicitors, enhancers, suppressors, and other considerations in the regulation of R-gene resistance to *Phytophthora infestans* in potato. In: NISHIMURA, S. et al. (ed.) **Molecular determinants of plant diseases**. Berlin: Spring-Verlag, 1987. p.203-221.
- RAHE, J.E.; KUC, J.; CHUANG, CHIEN-MEI; WILLIAMS, E.B. Induced resistance in *Phaseolus vulgaris* to bean anthracnose. **Phytopathology**, v.59, p.1641-1645, 1969a.
- RAHE, J.; KUC, J.; CHUANG, CHIEN-MEI; WILLIAMS, E.B. Correlation of phenolic metabolism with historical changes in *Phaseolus vulgaris* inoculated with fungi. **Netherland Journal of Plant Pathology**, v.75, p.58-71, 1969b.
- RAY, J. Cultures et formes atténuées des maladies cryptogamiques des vegetaux. **Comptes Rendus**, v.133, p.307-309, 1901.
- RIDE, J.P.; BARBER, M.S. The effect of various treatments on induced lignification and the resistance of wheat to fungi. **Physiological and molecular plant pathology**, v.31, p.349-360, 1987.
- RIDE, J.P.; PEARCE, R.B. Lignification and papilla formation at sites of attempted penetration of wheat leaves by non-pathogenic fungi. **Physiological Plant Pathology**, v.15, p.79-92, 1979.

- ROVERATTI, D.S.; TEIXEIRA, A.R.R.; MORAES, W.B.C. *Bacillus thuringiensis* – a new perspective of an alternative method of control of coffee leaf rust. **Journal of Phytopathology**, v.126, p.149-159, 1989a.
- ROVERATTI, D.S.; TEIXEIRA, A.R.R.; MORAES, W.B.C. Efeito da proteção à ferrugem do cafeeiro determinada por bactérias do gênero *Bacillus*. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE CONTROLE BIOLÓGICO, 3., 1985. **Anais...** 1989b. p.86-87.
- ROVERATTI, D.S.; TEIXEIRA, A.R.R.; MORAES, W.B.C. Aspectos da proteção de plantas de café a ferrugem por *Saccharomyces cerevisiae*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.55, p.58, 1989c.
- ROVERATTI, D.S.; TEIXEIRA, A.R.R.; SERRA, J.R.; MORAES, W.B.C. Controle alternativo da ferrugem do cafeeiro no campo por *Bacillus thuringiensis* (Comercial). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.56, p.37, 1989d.
- SCHOENBECK, H.F.; DEHNE, W.; BEICHT, W. Untersuchungen zur Aktivierung unspezifischer Resistenzmechanismen in Pflanzen. **Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v.87, p.654-666, 1980.
- SHEPHERD, C.J.; MANDRIK, M. Germination of conidia of *Peronospora tabacina* Adam. II. Germination in vivo. **Australian Journal of Biological Sciences**, v.16, p.77-87, 1963.
- SHIMOTSUMA, M.; KUC, J.; JONES, C. The effects of prior inoculations with nonpathogenic fungi on *Fusarium* wilt of watermelon. **Hortscience**, v.71, p.72-73, 1972.
- SILVA, S.R. da. **Aspectos do controle da antracnose em plantas de milho (*Zea mays* L.), mantidas em casa-de-vegetação pelo emprego de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen.** Piracicaba: ESALQ, 1989, 81p.
- SKIP, R.A.; DEVERALL, B.J. Studies on cross-protection in the anthracnose disease of beans. **Physiological Plant Pathology**, v.3, p.299-313, 1973.
- TUZUN, S.; NESMITH, W.; KUC, J. The effect of stem infections with *Peronospora tabacina* and metalaxyl treatment on growth of tobacco and protection against blue mold in the field. **Phytopathology**, v.74, p.804, 1984.
- TUZUN, S.; REUVENI, M; SIEGEL, M.R.; KUC, J. The effect of removing leaf surface components with acetone from immunized and nonimmunized resistant tobacco plants on their susceptibility to blue mold. **Phytopathology**, v.79, p.1024-1027, 1989.
- WARD, E.W.B.; STOESSL, A. Postinfectious inhibitors from plants. III. Detoxification of capsidiol, an antifungal compound from peppers. **Phytopathology**, v.62, p.1186-1187, 1972.