

**FORMULAÇÕES À BASE DE EXTRATOS
VEGETAIS COMBINADOS OU NÃO COM
INDUTORES E FERTILIZANTES FOLIARES
NO MANEJO DE BACTERIOSES DO
ALGODOEIRO E DO FEIJOEIRO**

ANA BEATRIZ ZACARONI

2008

ANA BEATRIZ ZACARONI

**FORMULAÇÕES À BASE DE EXTRATOS VEGETAIS COMBINADOS
OU NÃO COM INDUTORES DE RESISTÊNCIA E FERTILIZANTES
FOLIARES NO MANEJO DE BACTERIOSES DO ALGODOEIRO E DO
FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Zacaroni, Ana Beatriz.

Formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com indutores de resistência e fertilizantes foliares no manejo de bacterioses do algodoeiro e do feijoeiro / Ana Beatriz Zacaroni. – Lavras : UFLA, 2008.

80 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Ricardo Magela de Souza.

Bibliografia.

1. *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*. 2. *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. 3. Resistência induzida. 4. Misturas. 5. PR proteínas. 6. Fenóis solúveis. 7. Lignina I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.51

ANA BEATRIZ ZACARONI

**FORMULAÇÕES À BASE DE EXTRATOS VEGETAIS COMBINADOS
OU NÃO COM INDUTORES DE RESISTÊNCIA E FERTILIZANTES
FOLIARES NO MANEJO DE BACTERIOSES DO ALGODOEIRO E DO
FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Fitopatologia, para a obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 29 de setembro de 2008

Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA

Profª. Dra. Kátia Regina Freitas Schwan Estrada - UEM

Prof. Dr. Ricardo Magela de Souza
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL

A Deus,

pela vida, saúde e força para alcançar meus objetivos,

OFEREÇO

Aos meus pais, Israel e Aparecida, e irmãos, Ozana e Israel, pela confiança e apoio. Ao companheiro de todas as horas, Angelo, pela compreensão, incentivo e carinho

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo suporte financeiro.

Ao professor Ricardo Magela de Souza e à pesquisadora Alessandra Keiko Nakasone Ishida, pela amizade, orientação, confiança e apoio durante a realização deste trabalho.

Aos membros da banca: professores Mário Lúcio Vilela de Resende, e Kátia Regina Freitas Schwan Estrada, pelas valiosas sugestões.

Aos docentes da Universidade Federal de Lavras que contribuíram para a minha formação, em especial aos do Departamento de Fitopatologia.

À família de sangue (Zacaroni) e à de amizade (Laboratório de Bacteriologia), em especial aos que por ali passaram, a quem agradeço na pessoa da Ana Maria.

Ao Laboratório de Fisiologia do Parasitismo, em especial, Pedro, Daniel e Jadir.

Ao Flávio, pela valiosa contribuição nos abstracts.

Aos funcionários do DFP, que sempre auxiliaram nas atividades.

Aos demais colegas do Departamento de Fitopatologia, pela convivência e contribuição à formação profissional e pessoal.

MUITO OBRIGADA!

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
INTRODUÇÃO GERAL	01
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	07
CAPÍTULO 1: Formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com ASM, fertilizantes foliares e óleos para o manejo da mancha angular do algodoeiro e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro em casa de vegetação	13
1 Resumo.....	14
2 Abstract.....	16
3 Introdução.....	18
4 Material e Métodos.....	20
5 Resultados e Discussão.....	27
6 Conclusões.....	40
7 Referências Bibliográficas.....	41
CAPÍTULO 2: Resistência induzida por formulação à base de extrato vegetal (NEFID) combinado ou não com Agro-Mos®, no controle da mancha angular do algodoeiro	47
1 Resumo.....	48
2 Abstract.....	49
3 Introdução.....	50
4 Material e Métodos.....	52
5 Resultados e Discussão.....	59
6 Conclusões.....	72
7 Referências Bibliográficas.....	73
CONSIDERAÇÕES FINAIS	79

RESUMO

ZACARONI, Ana Beatriz. **Formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com indutores de resistência e fertilizantes foliares no manejo de bacterioses do algodoeiro e do feijoeiro.** 2008. 80 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Visando à obtenção de formulações à base de extratos vegetais como indutores de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam) e *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap), o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito de formulações à base de extratos vegetais puros e em mistura com ASM, fertilizantes foliares e óleos para o manejo da mancha-angular do algodoeiro e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro. Avaliaram-se também os mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa contra Xam. Todos os tratamentos foram aplicados via foliar, sete dias antes da inoculação do patógeno. Verificou-se que o extrato proveniente de folhas de café infectadas com ferrugem microprocessadas (NEFID), quando em misturas, potencializou o efeito de todos os produtos, exceto Fulland® + NEFID, chegando a 66,37% de controle da mancha-angular do algodoeiro. Extrato de cascas de frutos de café (CFC) reduziu a porcentagem da mancha-angular e extrato de cascas de frutos de café microprocessadas (NCFC) proporcionou controle para o crestamento bacteriano comum do feijoeiro, variando de 30,21% a 81,87%, mas não controlou a mancha-angular do algodoeiro em casa de vegetação. Os fertilizantes foliares Fulland® e Agro-Mos® inibiram o crescimento *in vitro* de Xam e Xap, a partir de 0 g p.c./L e de 2,5 g p.c./L, respectivamente. NEFID não inibiu o crescimento de Xam. A aplicação de Bion®, Agro-Mos®, NEFID + Agro-Mos® e NEFID aumentou a atividade das enzimas peroxidase, quitinase e glucanase, provocou variação na deposição de lignina 8 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos e não aumentou a atividade dos fenóis solúveis totais.

*Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA, Alessandra Keiko Nakasone Ishida - EMBRAPA

ABSTRACT

ZACARONI, Ana Beatriz. **Development of formulations based on plant extracts combined or not with ASM, foliar fertilizers and oils in the management of bacterial blight in cotton and bacterial blight in common bean.** 2008. 80 p. Dissertation (Master in Phytopathology) – Federal University of Lavras, Lavras, MG*.

In order to obtain formulations based on plant extracts as resistance inducers to *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam) and *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap), the present work aimed to evaluate the effect of formulations based on plant extracts (exclusively or mixed with ASM), foliar fertilizers and oils in the management of bacterial blight in cotton and in common bean. The biochemical mechanisms involved in the defense responses against Xam were also assessed. All treatments were sprayed on the shoot, seven days before the pathogen inoculation. The extract of micro-processed rust infected coffee leaf (NEFID) when in mixtures improved the effect of all products, except Fulland® + NEFID, reaching 66.37% of cotton blight control. Coffee husk extract (CFC) reduced the percent of cotton blight severity and the extract of micro-processed coffee husk (NCFC) the bean blight protection one, from 30.21 to 81.87% but did not protect cotton against bacterial blight under greenhouse conditions. The foliar fertilizers Fulland® and Agro-Mos® *in vitro* inhibited both bacterial growth 0 g c.p./L and 2.5 g c.p./L, respectively for Xam and Xap. NEFID did not inhibit Xam growth. The use of Bion®, Agro-Mos®, NEFID + Agro-Mos® and NEFID increased the activity of peroxidase, chitinase and glucanase; presented variation in the deposition of lignin 8 and 14 days after application of the treatments and did not increase the activity of total soluble phenols.

*Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA , Alessandra Keiko Nakasone Ishida - EMBRAPA

INTRODUÇÃO GERAL

O algodoeiro é uma das culturas anuais mais importantes no mundo, não apenas quanto ao valor econômico, mas também em relação ao social. No Brasil, a cotonicultura representa um segmento importante na geração de divisas, sendo notáveis o avanço do plantio em novas regiões e o emprego de alta tecnologia na produção (Suassuna et al., 2006; Cia et al., 2008).

O plantio de algodão (*Gossypium hirsutum*) em pequenas áreas e a falta de tecnologia perderam espaço na cotonicultura brasileira atual, criando-se um novo modelo produtivo, com a utilização de altas tecnologias, investimento em qualidade de fibra e plantio em extensas áreas. Em adição, o crescimento das indústrias têxteis tem intensificado a importância desta cultura no país (Beltrão, 1999). Acompanhando toda revolução tecnológica, novas doenças e até mesmo aquelas já conhecidas e que não eram prejudiciais no passado, manifestam-se, trazendo grandes desafios à produção (Penna, 2000).

A mancha-angular, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Smith) (Vauterin et al., 1995) (= *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*), tem se tornado uma importante doença nas principais regiões produtoras, principalmente em áreas irrigadas e em regiões com alta precipitação na época de desenvolvimento da cultura. Chuvas acompanhadas de fortes ventos e altas temperaturas são fatores importantes para o desenvolvimento de epidemias e têm grande influência na manifestação dos sintomas, até mesmo em variedades resistentes (Cia & Salgado, 1997).

Em relação ao controle químico, oxiclóreto de cobre é registrado para essa bacteriose (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008), mas os resultados não têm sido muito promissores.

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado durante todo o

ano, numa grande diversidade de ecossistemas, o que faz com que inúmeros fatores se tornem limitantes para a sua produção. Entre estes fatores, as doenças se destacam, pois, além de diminuírem a produtividade da cultura, podem também depreciar a qualidade do produto. O crestamento bacteriano comum (CBC), causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) (Vauterin et al., 1995) (= *X. campestris* pv. *phaseoli*), está entre as principais doenças da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), podendo provocar reduções de até 70% na produção em condições de infecção natural (Diaz, 2000). Esta bacteriose ocorre em quase todas as regiões produtoras e tem sido problemática nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Paraná, Santa Catarina, Espírito Santo, Rio Grande do Sul e na região Centro-Oeste, principalmente na safra das águas (Bianchini et al., 1997).

Para o controle do CBC no Brasil são recomendados o hidróxido de cobre e a mistura de sulfato de cobre com oxitetraciclina (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008). No entanto, o controle químico tem apresentado resultados bastante contraditórios. Existem relatos de controle do CBC com o emprego de cúpricos (Dickens & Oshima, 1969) e de carbamatos cúpricos (Oliveira et al., 1993), mas também de que estes compostos não proporcionaram controle eficiente da doença (Maringoni, 1988, 1990; Weller & Saettler, 1980). A aplicação dos antibióticos sulfato de estreptomicina (Dickens & Oshima, 1969), kasugamicina (Oliveira et al., 1993) ou da associação sulfato de estreptomicina + oxitetraciclina (Maringoni, 1990) também não foi eficiente.

A resistência induzida tem demonstrado seu potencial no controle de doenças de plantas, podendo ser ativada por agentes microbianos, produtos naturais e químicos. Esta resistência é expressa localmente no sítio de ataque do patógeno e sistemicamente em partes da planta não infectadas (Mauch-Mani & Métraux, 1998). Os mecanismos de defesa envolvidos incluem a combinação de

mudanças físicas, tais como lignificação da parede celular, formação de papilas ou indução de várias PR proteínas (Kessmann et al., 1994; Loon, 1997).

Alguns autores dividem a RI em duas categorias, a resistência sistêmica adquirida (RSA) (Sticher et al., 1997) e a resistência sistêmica induzida (RSI) (Loon et al., 1998). A ativação das defesas naturais da planta por meio da RSA é uma das estratégias para o controle da mancha-bacteriana (Louws et al., 2001), em que moléculas eliciadoras podem ativar resistência sistêmica, que protege os tecidos contra o ataque subsequente de uma ampla variedade de patógenos (Hammond-Kosack & Parker, 2003).

A RSA é expressa tanto local quanto sistemicamente, em resposta a patógenos que causam lesões necróticas (HR) ou por aplicação exógena de ácido salicílico ou compostos sintéticos, como o éster S-metil do ácido benzo [1,2,3] tiadiazol-7-carbotióico (ASM) e o ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA). A resistência expressa está associada ao aumento de atividade de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) que, muitas vezes, possuem atividade antimicrobiana, são excelentes marcadores moleculares para a resposta de resistência (Hammerschmidt & Smith-Becker, 1999) e é mediada por um processo dependente do ácido salicílico. Outros processos de defesa podem ser incluídos, como explosão oxidativa, acúmulo de fitoalexinas, lignificação e enrijecimento de parede (Durrant & Dong, 2004). Já na RSI, induzida por rizobactérias, a molécula sinalizadora é mediada pelo ácido jasmônico e o etileno (Loon et al., 1998).

Vários produtos químicos têm sido descobertos e parecem atuar em diferentes pontos nas vias de ativação de defesa de plantas e imitam parte ou toda a ativação biológica de resistência. O ASM é o ativador de resistência melhor estudado e o primeiro produto comercial sob os nomes de Bion®, ACTIGARD™ e BOOST® (Venâncio et al., 2000). No Brasil, esta molécula vem sendo testada em cacau, tomate, citros, café, feijão, algodão e em outras

culturas, apresentando resultados promissores no controle de fungos e bactérias. Na cultura do tomate, na qual se concentra grande parte dos estudos, o ASM foi promissor no controle de *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas vesicatoria*. Silva et al. (2001a) verificaram redução na incidência de *R. solanacearum* após duas pulverizações foliares (2,5 g i.a./100 L). Para o controle de *X. vesicatoria*, após três pulverizações do produto, foi observada redução na severidade da doença em torno de 50% a 60%, em relação à testemunha (Silva et al., 2001b; 2003a, b). Araújo et al. (2005) verificaram que sete aplicações, em intervalos semanais de ASM, reduziram a severidade da murcha-bacteriana. Em experimentos conduzidos em campo, Castro et al. (2000, 2001) verificaram que a adição do ASM ao método de manejo do agricultor proporcionou significativa redução nos sintomas de requeima, pinta-preta, septoriose e murcha-bacteriana e aumentos na produção e qualidade dos frutos, quando comparado ao método de manejo padrão do agricultor.

Na cultura do algodão, o ASM também tem sido promissor no controle da mancha-angular, proporcionando 50% de redução na severidade da doença em relação à testemunha (Ishida et al., 2003, 2004, 2005). Em feijoeiro, resultados positivos foram obtidos com ASM no controle de *Phaeoisariopsis griseola* e *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (Romeiro et al., 1999; Jesus Júnior et al., 1999).

Diversos trabalhos enfatizam a existência de substâncias bioativas em extratos aquosos vegetais, que proporcionam a ativação do sistema de defesa das plantas contra patógenos, tais como *Phoma* sp. (Barguil et al., 2005), *Cercospora coffeicola* (Santos et al., 2007) e *Hemileia vastatrix* em cafeeiro (Santos et al., 2007), além de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* em tomateiro (Cavalcanti et al., 2006).

Cavalcanti et al. (2006), ao tratarem plantas de tomateiro com ASM, formulação biológica proveniente de biomassa cítrica (Ecolife[®]), suspensão de

quitosana proveniente de micélio de *Crinipellis pernicioso* (MCp) e extrato aquoso de ramos de lobeira (*Solanum lycocarpum*) infectadas por *Crinipellis pernicioso*, quatro dias antes da inoculação de *X. campestris* pv. *vesicatoria*, obtiveram redução da mancha-bacteriana em casa de vegetação. A resistência induzida em plantas tratadas com MCp, segundo os autores, pode ser evidenciada pelos altos picos de atividades das enzimas relacionadas com a defesa, tais como a peroxidase, a polifenoloxidase, a quitinase, além de proporcionar maiores concentrações de lignina e de outros compostos fenólicos.

Extratos aquosos vegetais têm sido estudados como indutores de resistência com resultados promissores no controle de doenças de plantas (Dong et al., 2002).

O controle de bacterioses com extratos vegetais vem sendo constatado em diversos trabalhos (Kuhn et al., 2006; Motoyama et al., 2003; Cavalcanti et al., 2006; Baysal & Zeller, 2005), podendo estar relacionado ao aumento da atividade das enzimas envolvidas nas respostas de defesa de plantas (Baysal & Zeller, 2005; Cavalcanti et al., 2006).

A utilização de extratos de casca de café e de folhas de café infectadas com *Hemileia vastatrix* vem sendo avaliada em algodoeiro contra a mancha-angular (Ishida et al., 2005, 2006; Zacaroni et al., 2007) e em mudas de café contra *Phoma costarricensis* e *Cercospora coffeicola* (Amaral, 2005; Barguil et al., 2005). Para os extratos de casca de café e de folhas de café com ferrugem, foram observadas reduções de 20% e 38% na percentagem da mancha-de-phoma (Barguil et al., 2005) e de 40% e 37% para cercosporiose, respectivamente (Amaral, 2005). Santos (2006) observou, em testes de campo, que o tratamento com extrato de folhas de café reduziu a área abaixo da curva de progresso da mancha-de-phoma em 61%, comparada à testemunha pulverizada com água e em 30% em relação à testemunha pulverizada com Viça-Café plus®.

Formulações à base de extratos vegetais podem ser usadas separadamente, alternadamente ou em misturas, com ou sem espalhantes adesivos, adjuvantes, micronutrientes ou mesmo fungicidas, para o controle de doenças em plantas (Amaral, 2008).

Diante dos desafios enfrentados pelos produtores, torna-se necessário o estudo de novas alternativas para o manejo integrado de doenças, mediante o uso de produtos menos agressivos ao meio ambiente, bem como do modo como esses produtos agem na planta.

Dessa forma, objetivou-se, com o presente trabalho, verificar o efeito de formulações à base de extratos vegetais puros e em mistura com indutor de resistência, fertilizantes foliares e óleos no controle da mancha-angular do algodoeiro e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro em casa de vegetação, bem como caracterizar as reações bioquímicas desenvolvidas em função do estímulo de indução no patossistema algodão x *X. axonopodis* pv. *malvacearum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO
AGROFIT - Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em:
<<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 18 set. 2008.
- AMARAL, D.R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola*.** 2008. 92 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- AMARAL, D.R. **Indução de resistência em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* por eliciadores abióticos e extratos vegetais.** 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ARAÚJO, J.S.P.; GONÇALVES, K.S.; OLIVEIRA, B.C.; RIBEIRO, R.L.D.; POLIDORO, J.C. Efeito do acibenzolar-S-methyl sobre murcha-bacteriana do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 5-8, 2005.
- BARGUIL, B.M.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, R.S.; BESERRA JR., J.E.A.; SALGADO, S.L. Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 535-537, 2005.
- BAYSAL, O.; ZELLER, W. Extract of *Hedera helix* induces resistance on apple rootstock M26 similar to Acibenzolar-S-methyl against Fire Blight (*Erwinia amylovora*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, United Kingdom, v. 65, n. 6, p. 305-315, 2004.
- BELTRÃO, N.E.M. Bom negócio para o Nordeste. **Cultivar**, Pelotas, v. 8, n. 8, p. 19-20, ago. 1999.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; RESENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** 3.ed. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p. 376-399.

CASTRO, R.M.; VIEIRA, M.; SCANAVACHI, V.; AZEVEDO, L.A.S. Efeito do ativador de plantas acibenzolar-S-methyl na proteção contra doenças, incremento de produção e qualidade de frutos em tomate estaqueado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 492, ago. 2001. Suplemento.

CASTRO, R.M.; VIEIRA, M.; SCANAVACHI, V.; GUICHERIT, E. Redução na severidade de doenças e incremento da produção e qualidade dos frutos de tomate estaqueado em áreas comerciais através da aplicação do ativador de plantas acibenzolar-s-methyl. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 324, ago. 2000. Suplemento.

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

CIA, E.; FUZATTO, M.F.; KONDO, J.K.; SABINO, N.P.; GALBIERI, R.; LÜDERS, R.R.; CARVALHO, L.H.; FUMIKO ITO, M.F.; ERISMANN, N.M.; CHIAVEGATO, E.J.; BOLONHEZI, D.; FOLTRAN, D.E.; KASAI, F.S.; BORTOLETTO, N.; GALLO, P.B.; RECCO, P.C.; ROSSETTO, R. Comportamento de genótipos de algodoeiro no Estado de São Paulo: produtividade, resistência a doenças e qualidade da fibra. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 326-331, mar./abr. 2008.

CIA, E.; SALGADO, C.L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: KIMATI, K.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, cap. 6, p. 33-48.

DIAZ, C.G. **Avaliação de danos causados por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2000. 78 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

DICKENS, L.E.; OSHIMA, N. Protective sprays inhibit secondary spread of common bacterial blight in snap beans. **Plant Disease Report**, Washington, v. 53, n. 8, p. 647, 1969.

DONG, H.; LI, W.; ZHANG, D.; TANG, W. Differential expression of induced resistance by an aqueous extract of killed *Penicillium chrysogenum* against *Verticillium* wilt of cotton. **Crop Protection**, Oxford, v. 22, n. 1, p. 129-134, Feb. 2002.

DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Saint Paul, v. 42, p. 185-209, 2004.

HAMMERSCHMIDT, R.; SMITH-BECKER, J.A. The role of salicylic acid in disease resistance. In: AGRAWAL, A.A.; TUZUN, S.; BENT, E. (Ed.).

Induced plant defenses against pathogens and herbivores - biochemistry, ecology and agriculture. Saint Paul: APS, 1999. p. 37-53.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; PARKER, J.E. Deciphering plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. **Current Opinion in Biotechnology**, United Kingdom, v. 14, n. 2, p. 177-193, 2003.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; BARBOSA, J.F.; ZACARONI, A.B.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JUNIOR, P.M. Novos indutores de resistência do algodoeiro à *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 65, ago. 2005. Suplemento.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; OLIVEIRA, D.L.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A. Efeito comparativo do acibenzolar-S-metil (ASM) com fungicidas e antibiótico no controle da mancha angular do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Gramado, v. 29, p. 87, ago. 2004. Suplemento.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; OLIVEIRA, D.L.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A. Efeito da época de aplicação e dosagem de acibenzolar-S-metil na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Uberlândia, v. 28, p. 393, ago. 2003. Suplemento.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; ZACARONI, A.B.; RIBEIRO JUNIOR, P.M.; AMARAL, D.R.; RESENDE, M.L.V. Extratos aquosos vegetais, fertilizantes foliares e ASM no controle da mancha angular do algodoeiro (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*). **Fitopatologia Brasileira**, Salvador, v. 31, p. 268, ago. 2006. Suplemento.

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

KESSMAN, H.T.; STAUB, T.; HOFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Saint Paul, v. 32, p. 439-459, 1994.

KUHN, O.J.; PORTZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; DEL ÁGUILA, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *Manihotis*. **Semina-Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 13-20, 2006.

LOON, L.C. van; BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review Phytopathology**, Saint Paul, v. 36, p. 453-483, 1998.

LOON, L.C. van. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 103, n. 9, p. 753-765, 1997.

LOUWS, F.J.; WILSON, M.; CAMPBELL, H.L. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. **Plant Disease**, v. 85, n. 5, p. 481-488, 2001.

MARINGONI, A.C. Controle químico do cretamento bacteriano comum do feijão e seu efeito na transmissão de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* pelas sementes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 8, p. 1151-1156, 1990.

MARINGONI, A.C. Efeito de produtos químicos no controle do cretamento bacteriano comum do feijão e na transmissibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* na semente. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 97, 1988.

MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. **Annals of Botany**, London, v. 82, n. 5, p. 535-540, 1998.

MOTOYAMA, M.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; FIORI, A.C.G.; SCAPIN, C.A. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 509-512, 2003.

OLIVEIRA, S.H.F.; VALARINI, P.J.; RECCO, C.A.V. Controle químico do cretamento bacteriano comum do feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Aracaju, v. 18, p. 295, ago. 1993. Suplemento.

PENNA, J.C.V. Cultivares diferentes, lucro maior. **Cultivar**, Pelotas, v. 2, n. 17, p. 32-36, jun. 2000.

ROMEIRO, R.S.; RODRIGUES, F.A.; JESUS JÚNIOR, W.C.; PEREIRA, J.L.A. Fitotoxidez e ativação de mecanismos de defesa de feijoeiro contra *X. campestris* pv. *phaseoli* de um derivado benzotiodiazólico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, p. 255, ago. 1999. Suplemento.

SANTOS, F.S. **Estudo e manejo de doenças de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob cultivo orgânico** 2006. 187 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, F.S.; SOUZA, P.E.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A.; MIRANDA, J.C.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; MANERBA, F.C. Efeito de extratos aquosos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 59-63, 2007.

SILVA, H.S.A.; DEUNER, C.C.; ROMEIRO, R.S.; CARRER FILHO, R.; BATISTA, U.G. Em suporte à estratégia de seleção de rizobactérias para promoção de crescimento e para indução de resistência sistêmica e plantas com direcionamentos distintos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 304, ago. 2001a. Suplemento.

SILVA, H.S.A.; ROMEIRO, R.S.; BATISTA, U.G.; CARRER FILHO, R. Biocontrole experimental da mancha bacteriana pequena do tomateiro (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) - antagonismo microbiano ou indução de resistência sistêmica? **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 106, jan./mar. 2001b.

SILVA, L.H.C.P.; RESENDE, M.L.V.; SOUZA, R.M.; CAMPOS, J.R. Avaliação comparativa do indutor de resistência acibenzolar-S-metil na proteção contra *Xanthomonas vesicatoria*, *Oidium lycopersici* e *Septoria lycopersici* no tomateiro. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 244-248, jul./set. 2003a.

SILVA, L.H.C.P.; RESENDE, M.L.V.; SOUZA, R.M.; CAMPOS, J.R.; CASTRO, A.M.S. Indução de resistência contra *Xanthomonas vesicatoria* em tomateiro por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 177-181, abr./jun. 2003b.

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

SUASSUNA, N.D.; CHITARRA, L.G.; BIONUS, G.L.; INOMOTO, M.M. **Manejo de doenças do algodoeiro**, Campina Grande: Embrapa Algodão, 24 p. 2006. (Circular Técnica 97).

VAUTERIN, L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. Reclassification of *Xanthomonas*. **International Journal Systematic Bacteriology**, v. 45, n. 3, p. 472-489, 1995.

VENÂNCIO, W.S.; ZAGONEL, J.; FURTADO, E.L.; SOUZA, N.L.; PERES, N.A.R.P. Novos fungicidas: II - famoxadone e indutores de resistência. **Revisão Annual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 8, p. 59-92, 2000.

WELLER, D.M.; SAETTLER, A.W. Evaluation of seedborne *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas campestris* var. *fuscans* as primary inocula in bean blights. **Phytopathology**, v. 70, n. 2, p. 148-152, 1980.

ZACARONI, A.B.; SOUZA, R.M.; ISHIDA, A.K.N.; RESENDE, M.L.V.; MAC LEOD, R.E.O.; TOYOTA, M.; PÁDUA, M. Extrato vegetal e fertilizante foliar na indução de resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Maringá, v. 32, p. 270, ago. 2007. Suplemento.

CAPÍTULO 1

Formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com asm, fertilizantes foliares e óleos para o manejo da mancha-angular do algodoeiro e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro em casa de vegetação

1 RESUMO

ZACARONI, Ana Beatriz. Formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com ASM, fertilizantes foliares e óleos para o manejo da mancha-angular do algodoeiro e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro em casa de vegetação. In: _____. **Formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com indutores de resistência e fertilizantes foliares no manejo de bacterioses do algodoeiro e do feijoeiro**. 2008. Cap.1, p. 14-46. (Dissertação em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Objetivou-se, com a realização deste trabalho, avaliar o efeito de extratos vegetais e da mistura dos mesmos com o indutor de resistência comercial Bion®, com fertilizantes foliares e óleos na severidade da mancha-angular do algodoeiro (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* - Xam) e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* - Xap). Foram realizados três experimentos em casa de vegetação e um experimento *in vitro*. No ensaio *in vitro*, os produtos foram utilizados nas dosagens: 1; 2,5; 5 e 10 mL do p.c./L. Os extratos, provenientes de folhas de café infectadas com ferrugem (EFID) e cascas de frutos de café (CFC), obtidos de partículas grosseiras e NEFID e NCFC, obtidos de partículas microprocessadas, foram utilizados puros e em mistura com Bion®, Agro-Mos®, Assist®, Fulland®, Reforce®, Supa Sílica®, Veget' Oil® e Vitaphol®. Foram aplicados por pulverização na parte aérea das plantas, 7 dias antes da inoculação do patógeno. O NEFID, em mistura, potencializou o efeito de todos os produtos, exceto Fulland®, chegando a 66,37% de redução da severidade da mancha angular, não apresentando diferença significativa na altura e na massa seca da parte aérea das plantas de algodoeiro. No entanto, houve indício de incremento na altura e no peso em todos os tratamentos em relação à testemunha. O EFID não reduziu a severidade da mancha-angular, entretanto, plantas tratadas com EFID, Bion®, Assist® e as misturas Reforce® + EFID, Assist® + EFID, Bion® + EFID, Agro-Mos® + EFID apresentaram maiores massa seca da parte aérea e incremento na altura de plantas, diferindo significativamente da testemunha. O CFC reduziu a porcentagem da mancha-angular do algodoeiro, porém, seu controle foi abaixo do obtido com o tratamento padrão (Bion®). O NCFC proporcionou controle para o crestamento bacteriano comum do feijoeiro, variando de 30,21% a 81,87%, mas não controlou a mancha-angular. Os tratamentos Veget' Oil®, Agro-Mos®, Vitaphol® + NCFC e Supa Sílica® + NCFC proporcionaram incremento na altura das plantas, diferindo significativamente da testemunha e a mistura Agro-Mos® + NCFC diferiu significativamente da testemunha quanto ao peso da massa seca da parte aérea das plantas tratadas. Fulland® e Agro-Mos® inibiram

o crescimento *in vitro* de Xam em todas as concentrações testadas e de Xap a partir de 2,5 mL do p.c./L. Vitaphol® inibiu o crescimento de Xam a partir de 2,5 g p.c./L e não teve efeito sobre o crescimento de Xap. Os fertilizantes foliares Reforce® e Supa Sílica® e os óleos Assist® e Veget' Oil® não tiveram efeito sobre o crescimento de nenhuma das bactérias.

Palavras-chaves: *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, resistência induzida, misturas

*Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA, Alessandra Keiko Nakasone Ishida - EMBRAPA

2 ABSTRACT

ZACARONI, Ana Beatriz. Formulations based on plant extracts combined or not with ASM, foliar fertilizers and oils to manage cotton and common bean bacterial blight in the greenhouse. In: _____. **Development of formulations based on plant extracts combined or not with ASM, foliar fertilizers and oils in the management of bacterial blight in cotton and bacterial blight in common bean.** 2008. Cap.1, p. 14-46. (Dissertation in Plant Pathology) – Federal University of Lavras, Lavras, MG*.

The present work aimed to evaluate the effect of plant extracts and its mixture with the commercial resistance inducer Bion®, with foliar fertilizers and oils in the severity of bacterial blight in cotton (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* - Xam) and in common bean (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* - Xap). Three experiments were performed in greenhouse and one *in vitro*. In the last, products were used at 1, 2.5, 5 and 10 mL c.p./L. The extracts from rust infected coffee leaves (EFID) and coffee husks (CFC), obtained from coarse particles and NEFID and NCFC both obtained from micro-processed particles, were used exclusively or in combination with Bion®, Agro-Mos®, Assist®, Fulland®, Reforce®, Supa Silica®, Veget' Oil® and Vitaphol®. They were applied by spray of the shoot, 7 days before the pathogen inoculation. NEFID when used in mixture improved the effect of all products, except Fulland®, reaching up to 66.37% severity reduction in cotton blight, without any significative difference in height and dry matter of cotton plants. However, there has been an indication of in height and weight in all treatments compared to the control. EFID did not reduce cotton blight severity, however, plants treated with EFID, Bion®, Assist® and the mixtures Reforce® + EFID, Assist® + EFID, Bion® + EFID, Agro-Mos® + EFID presented higher shoot dry matter and an increase in plant height, an effect significantly different from the control. CFC reduced the percent of cotton blight, however its control was below the obtained with the standard treatment (Bion®). NCFC produced control for bean blight, ranging from 30.21 a 81.87% but did not control cotton blight. Veget' Oil®, Agro-Mos®, Vitaphol® + NCFC and Supa Silica® + NCFC produced an increase in plant height, significantly different from the control or the mixture Agro-Mos® + NCFC significantly different from the control for shoot dry weight for the treated plants. Fulland® and Agro-Mos® inhibited *in vitro* Xam growth in all tested concentrations and for Xap starting at 2.5 mL of c.p./L. Vitaphol® inhibited Xam growth at doses starting at 2.5 g c.p./L and did not have an effect on Xap growth. The foliar fertilizers Reforce®, Supa Silica® and

the oils Assist® and Veget' Oil® had no effect on the growth of any of the tested bacteria.

Key-words: *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, induced resistance, mixtures

*Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA , Alessandra Keiko Nakasone Ishida - EMBRAPA

3 INTRODUÇÃO

O algodoeiro é uma das culturas anuais mais importantes no mundo, não apenas quanto ao valor econômico, mas também em relação ao social. No Brasil, a cotonicultura representa um segmento importante na geração de divisas e se caracteriza pelo o avanço do plantio em novas regiões e emprego de alta tecnologia na produção (Suassuna et al., 2006; Cia et al., 2008).

O alto investimento em tecnologia e o plantio em extensas áreas requerem medidas eficientes no que diz respeito aos fatores limitantes, como as doenças, para a obtenção de índices satisfatórios de produtividade (Ishida et al., 2008b).

A mancha-angular, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Smith) (Vauterin et al., 1995) (= *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*) (Xam), há muito tempo controlada na cultura do algodão (*Gossypium hirsutum*) pelo uso de cultivares resistentes, voltou ao cenário produtivo como uma das enfermidades mais importantes da cultura, devido, principalmente, ao extenso cultivo em regiões nas quais predominam condições favoráveis à sua ocorrência. Portanto, a complexidade de fatores ambientais, além da ocorrência de pragas, de outras doenças e de várias exigências na condução desta cultura, permite afirmar que não existe a cultivar perfeita de algodão e que nem sempre as variedades resistentes têm atendido às preferências dos produtores (Penna, 2000).

Em relação ao controle químico, oxiclreto de cobre e acibenzolar-S-metil são os únicos princípios ativos registrados para essa bacteriose (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008) e os resultados não têm sido muito promissores.

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é cultivado durante todo o

ano numa grande diversidade de ecossistemas, o que faz com que inúmeros fatores se tornem limitantes para a sua produção. Entre estes fatores, as doenças se destacam, pois, além de diminuírem a produtividade da cultura, podem também depreciar a qualidade do produto. O crestamento bacteriano comum (CBC), causado por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Smith) (Vauterin et al., 1995) (= *X. campestris* pv. *phaseoli*) (Xap), está entre as principais doenças da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), podendo provocar reduções de até 70% na produção, em condições de infecção natural (Diaz, 2000).

Para o controle do CBC no Brasil são recomendados o hidróxido de cobre e a mistura de sulfato de cobre com oxitetraciclina (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2008). No entanto, o controle químico tem apresentado resultados bastante contraditórios. Existem relatos de controle do CBC com o emprego de cúpricos (Dickens & Oshima, 1969) e de carbamatos cúpricos (Oliveira et al., 1993), mas também de que estes compostos não proporcionaram controle eficiente da doença (Maringoni, 1988, 1990; Weller & Saettler, 1980). A aplicação dos antibióticos sulfato de estreptomicina (Dickens & Oshima, 1969), kasugamicina (Oliveira et al., 1993) ou da associação sulfato de estreptomicina + oxitetraciclina (Maringoni, 1990) também não foi eficiente.

Acibenzolar-S-metil (ASM) tem proporcionado o controle de diversas bacterioses, como a mancha-aquosa-do-meloeiro (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) (Sales Jr. et al., 2007), a murcha-bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) (Silva et al., 2007; Araújo et al., 2005), o cancro (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) (Bausal et al., 2003) e a pústula (*Xanthomonas vesicatoria*) (Silva et al., 2003; Buonauro et al., 2002) na cultura do tomateiro e do pimentão, a queima bacteriana da cebola (*X. campestris* pv. *allii*) (Gent & Schwartz, 2005), a mancha-angular do algodão (*X. axonopodis* pv. *malvacearum*) (Ishida et al., 2008a, No prelo) e a podridão-mole (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*) na batata (Benelli et al.,

2004).

O controle de bacterioses com extratos vegetais vem sendo constatado em diversos trabalhos (Kuhn et al., 2006; Motoyama et al., 2003; Cavalcanti et al., 2006; Baysal & Zeller, 2004), podendo estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas envolvidas nas respostas de defesa de plantas (Baysal & Zeller, 2004; Cavalcanti et al., 2006).

A utilização de extratos de casca de café e de folhas de café infectadas com *Hemileia vastatrix* vem sendo avaliada em algodoeiro, contra a mancha-angular (Ishida et al., 2005, 2006; Zacaroni et al., 2007) e em mudas de café, contra *Phoma costarricensis* e *Cercospora coffeicola* (Amaral, 2005; Barguil et al., 2005). Para os extratos de casca de café e de folhas de café com ferrugem, foram observadas reduções de 20% e 38% na percentagem da mancha-de-phoma (Barguil et al., 2005) e de 40% e 37% para cercosporiose, respectivamente (Amaral, 2005). Santos (2006) observou, em testes de campo, que o tratamento com extrato de folhas de café reduziu a área abaixo da curva de progresso da mancha-de-phoma em 61%, comparada à testemunha pulverizada com água e em 30% em relação à testemunha pulverizada com Viça-Café plus®.

Assim, objetivou-se, com a realização deste trabalho, avaliar o efeito de formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com ASM, fertilizantes foliares e óleos para o manejo da mancha-angular do algodoeiro e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro em casa de vegetação.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Os ensaios foram realizados no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (DFP/UFLA), em Lavras, MG, no Laboratório

de Bacteriologia de Plantas e em casa de vegetação, sob temperatura média de 32°C e irrigação automatizada. Foram utilizadas sementes de algodão da cultivar CNPA Ita 90 e de feijão da cultivar Carioca. As sementes foram semeadas em vasos de 3 L de capacidade, contendo a mistura solo:areia:esterco (2:1:1). Para o algodão foi utilizado também o substrato comercial Plantmax® HT.

Origem, isolamento e preservação do patógeno

O isolado de *X. axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam) utilizado nos ensaios foi obtido de folhas de algodoeiro, apresentando lesões típicas de mancha-angular, proveniente da região produtora do município de Rondonópolis, MT e o de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* de folhas de feijoeiro provenientes do município de Lavras, MG. Os isolamentos foram realizados em meio 523 (Kado & Heskett, 1970), pelo método de estrias paralelas.

As inoculações dos patógenos foram realizadas 36 dias após a semeadura, pulverizando-se a face inferior das folhas com as suspensões bacterianas, na concentração de 10^9 UFC/mL. As plântulas foram mantidas por 24 horas antes e depois da inoculação em câmara úmida (28°-30°C e 90%-95% UR), sendo em seguida levadas para casa-de-vegetação.

Obtenção das formulações

Folhas de café cv. Mundo Novo, naturalmente infectadas por *Hemileia vastatrix* e caídas no solo, assim como cascas de frutos de café coletadas após o beneficiamento dos grãos, foram trituradas de modo a se obter partículas maiores, EFID e CFC, e extremamente finas, NEFID e NCFC. Os extratos foram processados no Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do DFP/UFLA. Tais extratos foram misturados com fertilizantes foliares, ASM e óleos mineral e vegetal (Tabela 1).

Tabela 1. Produtos testados no controle da mancha-angular do algodoeiro. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Produto	Marca comercial	Dose utilizada
Fertilizante	Vitaphol Cobre®	5 mL p.c./L de água
Fertilizante	Fulland®	5 mL p.c./L de água
Fertilizante	Reforce®	5 mL p.c./L de água
Fertilizante	Supa Sílica®	5 mL p.c./L de água
Fertilizante	Agro-Mos®	5 mL p.c./L de água
Óleo mineral	Assist®	2 mL p.c./L de água
Óleo vegetal	Veget' Oil®	2 mL p.c./L de água
Ativador de plantas	Bion® 500WG	15 g p.c./100L de água
EFID	-	10 g/L água
CFC	-	10 g/L água
NEFID	-	2,5 g/L água
NCFC	-	10 g/L água

Extratos de folhas de café com ferrugem (EFID) e de casca de café (CFC) puros e em mistura com ASM, fertilizantes foliares e óleo mineral no controle da mancha angular do algodoeiro, altura de plantas e massa seca da parte aérea

Avaliou-se a mistura de extratos de casca de café (CFC) (Tabela 2 ensaio 1) e de folhas de café com ferrugem (EFID) (Tabela 2 ensaio 2) com fertilizantes foliares e óleo mineral, no controle de Xam. Sementes de algodão da cultivar CNPA Ita 90 foram semeadas em vasos (3 L) contendo a mistura solo:areia:esterco (2:1:1).

Tabela 2. Tratamentos utilizados no controle da mancha angular do algodoeiro. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos – ensaio 1	Tratamentos – ensaio 2
1 Vitaphol Cobre®	1 Vitaphol Cobre®
2 Fulland®	2 Fulland®
3 Reforce®	3 Reforce®
4 Supa Sílica®	4 Supa Sílica®
5 Agro-Mos®	5 Agro-Mos®
6 Assist®	6 Assist®
7 Bion®	7 Bion®
8 CFC	8 EFID
9 Vitaphol Cobre® + CFC	9 Vitaphol Cobre® + EFID
10 Fulland® + CFC	10 Fulland® + EFID
11 Reforce® + CFC	11 Reforce® + EFID
12 Supa Sílica® + CFC	12 Supa Sílica® + EFID
13 Agro-Mos® + CFC	13 Agro-Mos® + EFID
14 Assist® + CFC	14 Assist® + EFID
15 Bion® + CFC	15 Bion® + EFID
16 Testemunha	16 Testemunha

Os tratamentos (Tabela 2) foram pulverizados uma única vez, 7 dias antes da inoculação do patógeno, ocorrida aos 28 dias após o plantio. Foram avaliadas a severidade da doença, a massa seca da parte aérea (MS) e a altura das plantas. A avaliação da severidade da mancha-angular foi realizada aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a inoculação do patógeno, utilizando-se a escala de notas de Sidhu & Webster (1977) adaptada, baseada em um critério de notas variando de 0 a 4, em que 0 = 0% de folha lesionada; 1 = 1% a 25% de folha lesionada; 2 = 26% a 50% de folha lesionada; 3 = 51% a 75% de folha lesionada; 4 = acima de 76% de folha lesionada. Os valores obtidos serviram de

base para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), proposta por Shaner & Finney (1977). A altura e a MS das plantas de algodão foram avaliados aos 35 dias após a aplicação dos tratamentos.

Para cada uma das variáveis foi realizada a análise de variância e a comparação das médias pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 4 repetições (3 plantas/parcela).

Extratos de folhas de café com ferrugem (NEFID) e de casca de café (NCFC) microprocessadas, puros e em misturas com ASM, fertilizantes foliares e óleo vegetal no controle da mancha-angular do algodoeiro

Extratos de folhas de café com ferrugem (NEFID) e de casca de café (NCFC) microprocessadas, puros e em mistura com fertilizantes foliares e óleo vegetal, foram avaliados no controle da mancha-angular do algodoeiro, em dois ensaios separadamente. Para isso, sementes de algodão da cultivar CNPA Ita 90 foram semeadas em vasos (3 L) contendo o substrato comercial Plantmax[®] HT. Foram utilizados os produtos com suas respectivas dosagens (Tabela 1).

Os tratamentos (Tabela 3) foram pulverizados aos sete dias antes da inoculação do patógeno. Avaliaram-se a severidade da doença em todos os ensaios e também a massa seca da parte aérea (MS) e a altura das plantas. A avaliação da severidade da doença foi realizada aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a inoculação do patógeno. A altura e a MS das plantas foram avaliadas aos 35 dias após a inoculação. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 4 repetições (3 plantas/repetição) em ambos os ensaios.

Tabela 3. Tratamentos utilizados no controle da mancha angular e do crestamento comum. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Ensaio 1	Ensaio 2
1 Vitaphol Cobre®	1 Vitaphol Cobre®
2 Fulland®	2 Fulland®
3 Reforce®	3 Reforce®
4 Supa Sílica®	4 Supa Sílica®
5 Agro-Mos®	5 Agro-Mos®
6 Veget' Oil®	6 Veget' Oil®
7 Bion®	7 Bion®
8 NCFC	8 NEFID
9 Vitaphol Cobre® + NCFC	9 Vitaphol Cobre® + NEFID
10 Fulland® + NCFC	10 Fulland® + NEFID
11 Reforce® + NCFC	11 Reforce® + NEFID
12 Supa Sílica® + NCFC	12 Supa Sílica® + NEFID
13 Agro-Mos® + NCFC	13 Agro-Mos® + NEFID
14 Veget' Oil® + NCFC	14 Veget' Oil® + NEFID
15 Bion® + NCFC	15 Bion® + NEFID
16 Testemunha	16 Testemunha

Misturas de extratos de folhas de café com ferrugem (NEFID) e de casca de café (NCFC) microprocessadas, com ASM, fertilizantes foliares e óleo vegetal no controle do crestamento bacteriano comum do feijoeiro

Avaliou-se o efeito da mistura de extratos de folhas de café com ferrugem (NEFID) e de casca de café (NCFC) microprocessadas, com fertilizantes foliares e óleo vegetal, no controle de Xap. Sementes de feijão da cultivar Carioca foram semeadas em vasos (3 L) contendo a mistura solo:areia:esterco (2:1:1).

Os tratamentos (Tabela 3) foram pulverizados aos sete dias antes da inoculação do patógeno, ocorrida 28 dias após a semeadura. A severidade do CBC foi avaliada aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a inoculação do patógeno, utilizando-se a escala diagramática desenvolvida por Diaz et al. (2001). Os valores obtidos serviram de base para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), proposta por Shaner & Finney (1977).

Foram realizadas análise de variância e comparação das médias pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 4 repetições (3 plantas/parcela) em ambos os ensaios.

Efeito *in vitro* de fertilizantes foliares e óleos mineral e vegetal sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* e *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

Os fertilizantes foliares Vitaphol Cobre®, Fulland®, Reforce®, Supa Sílica®, Agro-Mos® e os óleos mineral Assist® e vegetal Veget' Oil® foram avaliados sobre o crescimento *in vitro* de Xam e Xap. Os produtos foram incorporados ao meio 523 (Kado & Heskett, 1970) nas seguintes dosagens: 1; 2,5; 5 e 10 mL do p.c./L. Após a solidificação do meio de cultura acrescido dos produtos, foram adicionadas alíquotas de 5 µL das suspensões bacterianas em 4 pontos equidistantes em cada placa de Petri. As placas foram incubadas, por 48 horas, a 28°C. A avaliação foi realizada verificando-se a ocorrência ou não do crescimento bacteriano. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições.

Em ensaios anteriores, verificou-se que os extratos não inibiram o crescimento das bactérias, não sendo, portanto, testados novamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Extratos de folhas de café com ferrugem (EFID e NEFID) e de casca de café (CFC e NCFC), puros e em misturas com ASM, fertilizantes foliares e óleos mineral e vegetal no controle da mancha-angular do algodoeiro, altura de plantas e massa seca da parte aérea

A mistura de EFID com fertilizantes foliares e óleo mineral no controle da mancha-angular do algodoeiro não proporcionou diferença significativa entre os tratamentos (Figura 1).

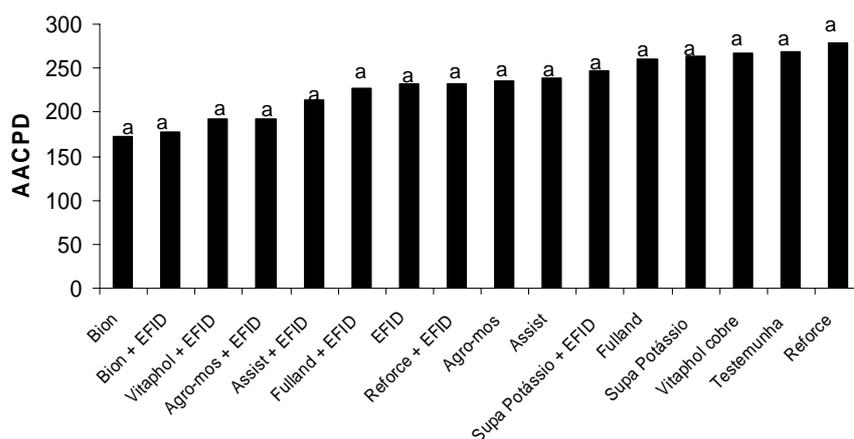


Figura 1. Área abaixo da curva de progresso da mancha-angular do algodoeiro (AACPD) após a aplicação de EFID puro e em misturas. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Os tratamentos EFID, Bion®, Assist® e as misturas Reforce® + EFID, Assist® + EFID, Bion® + EFID, Agro-Mos® + EFID apresentaram maiores MS e proporcionaram incremento na altura de plantas, diferindo significativamente da testemunha (Tabela 4), enquanto Supa Sílica® e Fulland® + EFID não diferiram da testemunha quanto à MS.

Tabela 4. Altura e massa seca (MS) de plantas de algodoeiro tratadas com extratos de folhas de café com ferrugem (EFID), puros e em mistura com fertilizantes foliares e óleo mineral, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	Altura de plantas (cm)	MS (g)
Agro-Mos®	43,75 a	2,75 a
Agro-Mos® + EFID	49,50 b	4,25 b
Assist®	48,50 b	3,50 b
Assist® + EFID	47,00 b	4,00 b
Bion®	47,75 b	3,75 b
Bion® + EFID	47,50 b	4,00 b
Fulland®	40,50 a	2,25 ^a
Fulland® + EFID	45,50 b	3,00 a
EFID	46,50 b	3,50 b
Reforce®	41,75 a	2,75 a
Reforce® + EFID	44,50 b	3,75 b
Supa Sílica®	46,00 b	3,00 a
Supa Sílica® + EFID	43,75 a	3,25 a
Testemunha	41,25 a	3,25 a
Vitaphol®	38,75 a	2,75 a
Vitaphol® + EFID	45,75 b	3,25 a
CV	8,48	15,83

^aMédias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

No experimento com NEFID, todos os tratamentos diferiram significativamente da testemunha, exceto Fulland®, Reforce®, Fulland® + NEFID e Supa Sílica®. Os tratamentos Agro-Mos® + NEFID, Bion® e Veget' Oil® + NEFID apresentaram, respectivamente, 66,37%, 53,54% e 48,32% de controle da mancha-angular do algodoeiro em relação à testemunha inoculada (Figura 2).

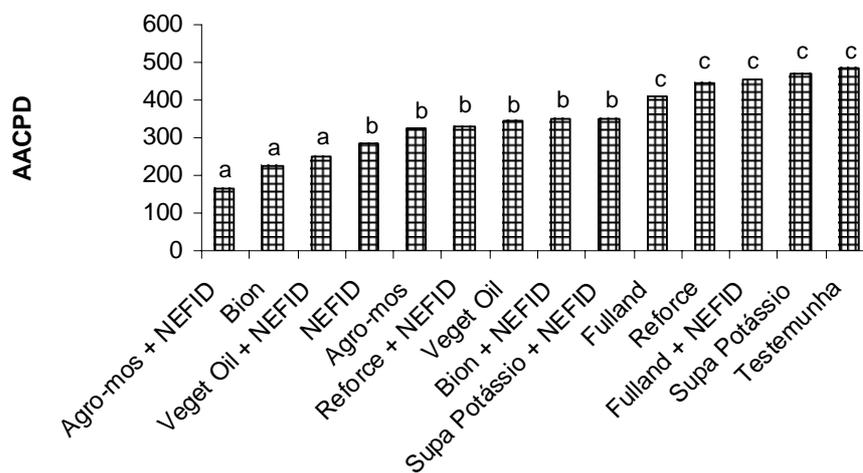


Figura 2. Área abaixo da curva de progresso da mancha-angular do algodoeiro (AACPD) após a aplicação de NEFID puro e em misturas. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Na avaliação do efeito da mistura do NEFID com fertilizantes foliares e óleo vegetal na altura e na massa seca da parte aérea de plantas de algodoeiro, verificou-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 5). No entanto, houve indício de incremento na altura e no peso, em todos os tratamentos, em relação à testemunha.

Tabela 5. Formulação à base de extrato vegetal NEFID puro e em mistura com fertilizantes foliares e óleo vegetal na altura e na massa seca da parte aérea (MS) de plantas de algodoeiro, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	Altura de plantas (cm)	MS (g)
Agro-Mos®	45,08 a	20,21 a
Agro-Mos® + NEFID	48,46 a	20,70 a
Bion®	52,39 a	20,67 a
Bion® + NEFID	49,37 a	21,07 a
Fulland®	49,14 a	19,50 a
Fulland® + NEFID	48,71 a	20,12 a
NEFID	48,50 a	21,71 a
Reforce®	55,33 a	23,20 a
Reforce® + NEFID	45,37 a	21,30 a
Supa Sílica®	45,66 a	19,48 a
Supa Sílica® + NEFID	49,37 a	20,05 a
Testemunha	44,00 a	19,15 a
Veget' Oil®	45,79 a	20,44 a
Veget' Oil® + NEFID	49,50 a	21,35 a
CV	14,63	14,51

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

As formulações à base de casca de café (CFC), CFC + Fulland®, Bion® + CFC, Vitaphol® + CFC e Agro-Mos® + CFC, bem como Bion® e Reforce®, diferiram significativamente da testemunha inoculada, apresentando entre 25,64% e 50,88% de controle da mancha-angular (Figura 3).

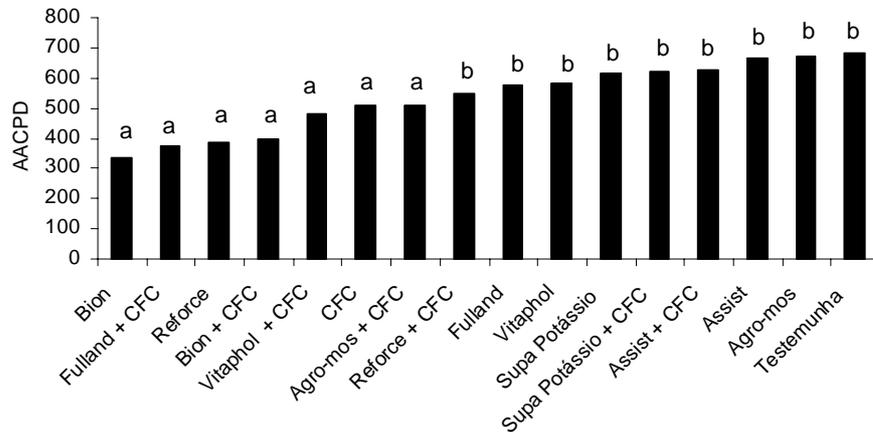


Figura 3. Área abaixo da curva de progresso da mancha-angular do algodoeiro (AACPD) após a aplicação de CFC puro e em misturas. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Os tratamentos CFC, Reforce®, Bion®, Vitaphol® + CFC, Fulland® + CFC, Assist® + CFC, Bion® + CFC, Supa Sílica® + CFC, Reforce® + CFC, Agro-Mos® + CFC proporcionaram as maiores alturas de plantas, diferindo significativamente da testemunha. Exceto para os tratamentos com Bion® e Reforce®, a mistura de CFC aos óleos e fertilizantes foliares proporcionou maiores alturas de plantas. Em relação à massa seca da parte aérea, todas as plantas tratadas com as misturas de CFC diferiram significativamente da testemunha (Tabela 6).

Tabela 6. Formulações à base de extrato de casca de café (CFC) puro e em mistura com fertilizantes foliares e óleo mineral e altura e massa seca da parte aérea (MS) de plantas de algodoeiro, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	Altura de plantas (cm)	MS (g)
Agro-Mos®	25,13 a	1,63 a
Agro-Mos® + CFC	47,50 b	3,71 b
Assist®	23,58 a	1,24 a
Assist® + CFC	39,25 b	2,66 b
Bion®	34,00 b	2,19 a
Bion® + CFC	39,83 b	3,15 b
CFC	35,50 b	1,88 a
Fulland®	30,92 a	1,79 a
Fulland® + CFC	37,17 b	2,52 b
Reforce®	34,75 b	2,04 a
Reforce® + CFC	42,50 b	3,14 b
Supa Sílica®	29,50 a	2,02 a
Supa Sílica® + CFC	42,17 b	3,21 b
Testemunha	29,16 a	1,79 a
Vitaphol cobre®	26,25 a	1,65 a
Vitaphol cobre® + CFC	36,33 b	2,63 b
CV	23,10	37,22

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

As formulações à base de extratos de casca de café microprocessadas (NCFC) + Bion® e Bion® diferiram significativamente da testemunha inoculada, apresentando controle de 72,70% e 56,81%, respectivamente (Figura 4).

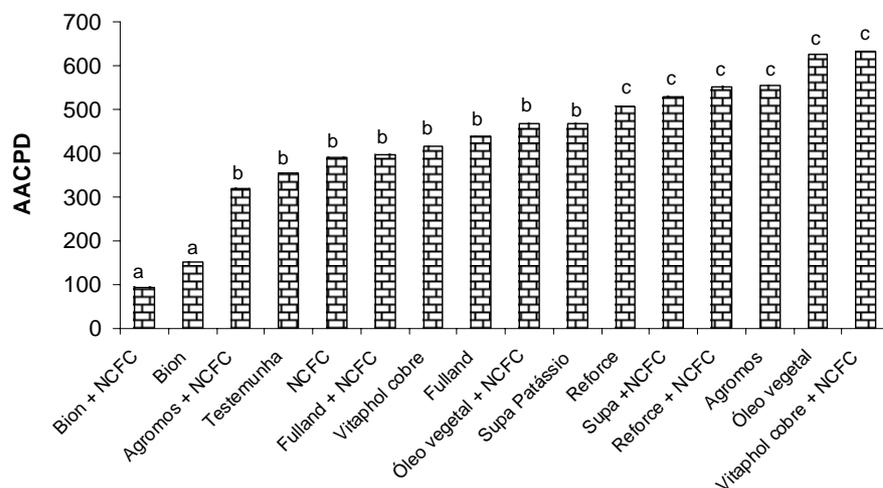


Figura 4. Área abaixo da curva de progresso da mancha-angular (AACPD), após a aplicação de NCFC puro e em misturas. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Os tratamentos Veget' Oil®, Agro-Mos®, Vitaphol cobre® + NCFC e Supa Patássio® + NCFC proporcionaram as menores alturas de plantas, diferindo significativamente da testemunha (Tabela 7). Apenas plantas tratadas com a mistura Agro-Mos® + NCFC diferiram significativamente da testemunha quanto à massa seca.

Tabela 7. Efeito da mistura da formulação à base de extrato vegetal CFC com fertilizantes foliares e óleo vegetal na altura e na massa seca da parte aérea (MS) de plantas de algodoeiro, em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	Altura de plantas (cm)	MS (g)
Agro-Mos®	28,41 a	4,00 a
Agro-Mos® + NCFC	49,83 b	15,50 b
Bion®	40,58 b	6,25 a
Bion® + NCFC	44,16 b	9,25 a
NCFC	42,58 b	8,00 a
Fulland®	45,66 b	8,50 a
Fulland® + NCFC	40,67 b	6,75 a
Reforce®	40,25 b	7,00 a
Reforce® + NCFC	39,58 b	8,75 a
Supa Patássio®	39,29 b	6,75 a
Supa Sílica® + NCFC	33,41 a	6,25 a
Testemunha	42,66 b	7,25 a
Veget' Oil®	27,75 a	3,50 a
Veget' Oil® + NCFC	37,33 b	5,75 a
Vitaphol®	41,33 b	9,75 a
Vitaphol® + NCFC	33,25 a	4,25 a
CV	15,84	36,07

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Misturas de extratos de folhas de café com ferrugem (NEFID) e de casca de café (NCFC) microprocessadas, com ASM, fertilizantes foliares e óleo vegetal, no controle do crestamento bacteriano comum do feijoeiro

As misturas do NEFID com fertilizantes foliares e óleo vegetal não apresentaram diferenças significativas no controle do crestamento bacteriano comum do feijoeiro (Figura 5). No entanto, os tratamentos Bion® + NEFID,

Fulland® + NEFID e Bion® proporcionaram controle acima de 49% do cretamento bacteriano comum em relação à testemunha.

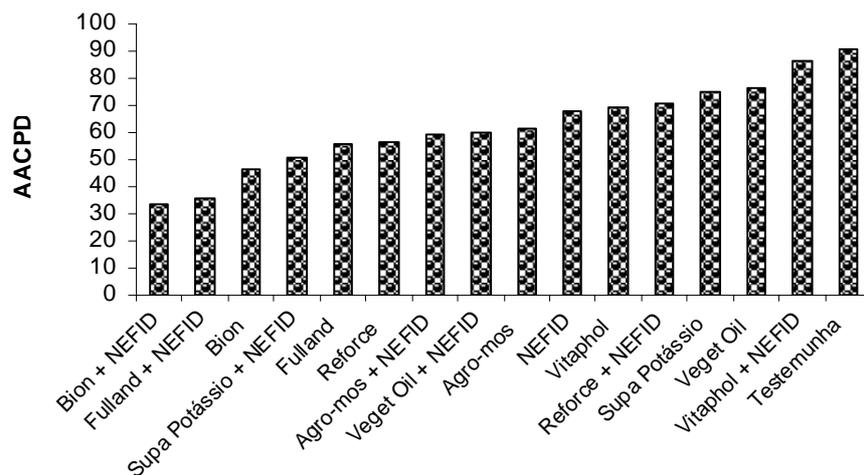


Figura 5. Área abaixo da curva de progresso do cretamento bacteriano comum (AACPD) após a aplicação de NEFID puro e em mistura com fertilizantes foliares e óleos. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Na mistura do NCFC com fertilizantes foliares e óleo vegetal, verificou-se que os tratamentos Bion® + NCFC, Bion®, Agro-Mos® + NCFC, Fulland® + NCFC, Reforce® + NCFC, Fulland®, NCFC, Reforce®, Agro-Mos® e Vitaphol® + NCFC diferiram significativamente da testemunha (Figura 4), variando de 30,21% a 81,87% o controle cretamento bacteriano comum do feijoeiro em relação à testemunha.

Plantas tratadas com Veget' Oil®, Vitaphol® e Supa Sílica® tiveram a severidade da doença aumentada.

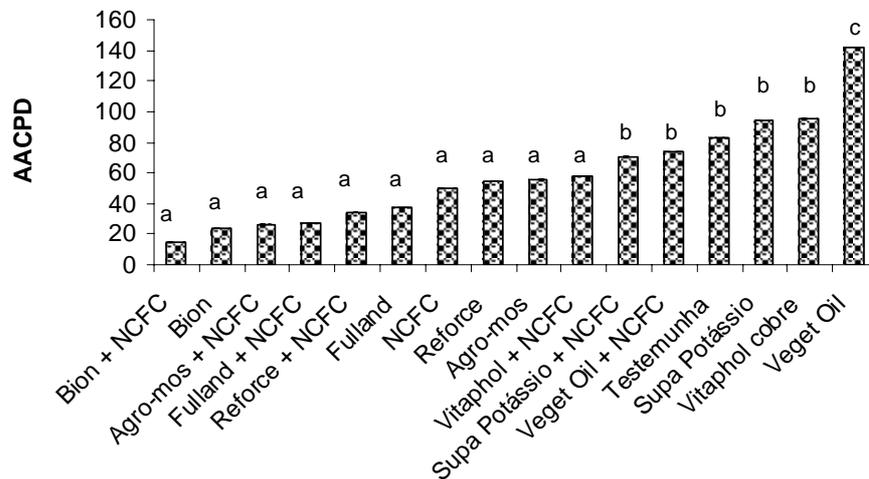


Figura 6. Área abaixo da curva de progresso do crestamento bacteriano comum do feijoeiro (AACPD), após a aplicação de NCFC puro e em mistura com fertilizantes foliares e óleos. Tratamentos com letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Efeito de fertilizantes foliares e óleos mineral e vegetal sobre o crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* e *X. axonopodis* pv. *phaseoli*

Os fertilizantes foliares Fulland® e Agro-Mos® inibiram o crescimento *in vitro* de Xam em todas as concentrações testadas (Tabela 8) e de Xap a partir de 2,5 mL do p.c./L (Tabela 9). O fertilizante Vitaphol® inibiu o crescimento de Xam a partir da dose 2,5 g p.c./L e não teve efeito sobre o crescimento de Xap. Os fertilizantes foliares Reforce® e Supa Sílica® e os óleos Assist® e Veget Oil® não tiveram efeito sobre Xam (Tabela 8) e nem sobre Xap (Tabela 9).

Tabela 8. Crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* exposta a diferentes concentrações dos fertilizantes foliares comerciais Agro-Mos®, Fulland®, Reforce®, Supa Sílica®, Vitaphol® e dos espalhantes adesivos Assist® e Veget' Oil®. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	0 mL p.c./L	1 mL p.c./L	2,5 mL p.c./L	5 mL p.c./L	10 mL p.c./L
Vitaphol	+	+	-	-	-
Fulland®	+	-	-	-	-
Reforce®	+	+	+	+	+
Supa Sílica®	+	+	+	+	+
Agro-Mos®	+	-	-	-	-
Assist®	+	+	+	+	+
Veget' Oil®	+	+	+	+	+

+ com crescimento bacteriano, - sem crescimento bacteriano

Tabela 9. Crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* exposta a diferentes concentrações dos fertilizantes foliares comerciais Agro-Mos®, Fulland®, Reforce®, Supa Sílica®, Vitaphol® e do espalhantes adesivos Veget' Oil®. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	0 mL p.c./L	1 mL p.c./L	2,5 mL p.c./L	5 mL p.c./L	10 mL p.c./L
Vitaphol®	+	+	+	+	+
Fulland®	+	+	-	-	-
Reforce®	+	+	+	+	+
Supa Sílica®	+	+	+	+	+
Agro-Mos®	+	+	-	-	-
Veget' Oil®	+	+	+	+	+
Assist®	+	+	+	+	+

+ com crescimento bacteriano, - sem crescimento bacteriano

Os resultados proporcionados por EFID no controle da mancha-angular do algodoeiro diferiram dos encontrados por Zacaroni et al. (2007), em que EFID e Bion® reduziram em 20,90% e 53,44%, respectivamente, a

severidade da mancha-angular do algodoeiro em relação à testemunha em casa de vegetação. Pereira et al. (2004) e Cavalcanti et al. (2004) constataram menor valor de área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) causada por *X. vesicatoria* em plantas de tomate tratadas com extrato de vassoura-de-lobeira.

Somando-se a essas evidências o Bion®, na cultura do algodão, tem se mostrado promissor no controle da mancha-angular, proporcionando controle acima de 50% em relação à testemunha (Ishida et al., 2003, 2004; 2005). Isso sugere que, neste experimento, fatores externos, como condições ambientais, possam ter influência nas respostas das plantas aos tratamentos.

No ensaio com CFC, os resultados corroboram aqueles já descritos na literatura, em que, na cultura do café, os extratos EFID e CFC proporcionaram reduções de 20% e 38% na mancha-de-phoma, respectivamente (Barguil et al., 2005). Para cercosporiose, observou-se diminuição na percentagem da doença de 40% e 37% em plantas tratadas com CFC e EFID, respectivamente (Amaral, 2005). Santos (2006) observou, em testes de campo, que o tratamento com CFC reduziu a área abaixo da curva de progresso da mancha-de-phoma em 61%, comparada à testemunha pulverizada com água. Em condição semelhante à da agricultura orgânica, Santos et al. (2007) observaram menor desfolha dos cafeeiros pulverizados com CFC e EFID e também redução na severidade da ferrugem e da cercosporiose de 49% e 47% em relação à testemunha, após pulverizações de EFID e CFC, respectivamente.

Nenhum dos tratamentos (puros ou em mistura com NEFID) diferiu significativamente da testemunha no controle do cretamento bacteriano comum do feijoeiro, em contraste com resultados obtidos por Jesus Jr. et al. (1999). Esses autores avaliaram o efeito de ASM pulverizado em feijoeiro, mostrando redução da severidade do cretamento bacteriano comum em, aproximadamente, 37,2%. O ensaio foi montado 4 vezes e apenas se obteve êxito quando o substrato foi trocado pela mistura solo:areia:esterco. Já no ensaio com NCFC, as maiores

percentagens de controles em relação à testemunha chegaram a 70,69%, 81,87% e 40,18%, respectivamente, para Bion® + NCFC, Bion® e NCFC, o que vem ao encontro de resultados da literatura para ASM (Jesus Jr. et al., 1999). Zacaroni et al. (2008) verificaram redução de 61,4% na severidade do crestamento bacteriano comum do feijoeiro após aplicação de Bion®.

No ensaio com NEFID, os resultados foram semelhantes aos encontrados por Ishida et al. (2005, 2006), em que Bion® e EFID diferiram significativamente da testemunha com controle da mancha-angular do algodoeiro acima de 51%. Em ensaio realizado com o NEFID em plantas de algodão, verificou-se 22,85% de controle da mancha-angular em casa de vegetação (dados não publicados). A mistura de NEFID com Agro-Mos® parece ter potencializado o efeito tanto de Agro-Mos® quanto de NEFID, pois plantas tratadas com a mistura apresentaram 66,37% de controle, enquanto Agro-Mos® e NEFID apresentaram 32,75% e 41,50% de controle em relação à testemunha, respectivamente. Esta porcentagem também foi superior ao Bion®, que apresentou 53,54% de controle em relação à testemunha. O espalhante adesivo Veget' Oil® potencializou o efeito do NEFID, talvez pelo fato de este ter permanecido por mais tempo em contato com as plantas.

No ensaio com NCFC, verificou-se que apenas os tratamentos Bion® + NCFC e o Bion® diferiram significativamente da testemunha inoculada, sugerindo que o controle da severidade da mancha-angular do algodoeiro é advindo do Bion® e não do extrato, sendo este ineficiente para seu controle. Ishida et al. (2006) observaram que CFC não diferiu da testemunha inoculada no controle da mancha-angular.

O potencial controle dos tratamentos refletiu em variações na altura e na MS de plantas tratadas com NCFC. Para alguns autores, as dosagens de ASM e a época de aplicação ainda precisam ser estudadas, visando melhores resultados no controle de doenças e no desenvolvimento das culturas (Kuhn, 2007).

Os fertilizantes foliares Fulland® e Agro-Mos® inibiram o crescimento *in vitro* de Xam e Xap, provavelmente por possuírem cobre em sua composição. Vitaphol® inibiu o crescimento de Xam a partir da dose 2,5 g p.c./L e não teve efeito sobre o crescimento de Xap e os demais (Reforce® e Supa Sílica® e os óleos Assist® e Veget' Oil®) não inibiram nenhuma das bactérias em todas as concentrações testadas. Em ensaios preliminares (dados não publicados), verificou-se que os extratos aquosos EFID, NEFID, CFC e NCFC não inibem o crescimento de Xap e nem de Xam, sugerindo, assim, características de indutores de resistência para tais extratos aquosos.

As formulações EFID e NEFID chamam a atenção por se tratar de mesma matéria-prima, porém, com produção diferenciada, já que, para a produção de NEFID, utilizaram-se menores partículas moídas. Apesar dessas diferenças, os resultados comportaram-se de maneira semelhante, tanto para os parâmetros de doença quanto para os de desenvolvimento.

6 CONCLUSÕES

O extrato proveniente de folhas de café infectadas com ferrugem microprocessadas (NEFID), quando em misturas, potencializou o efeito de todos os produtos, exceto Fulland® + NEFID, chegando a 66,37% de controle da mancha-angular do algodoeiro. EFID não reduziu a severidade da manchaangular do algodoeiro em casa de vegetação.

Extrato de cascas de frutos de café (CFC) reduziu a porcentagem da mancha-angular do algodoeiro, porém, seu controle foi abaixo do obtido com o tratamento padrão (Bion®).

NCFC proporcionou controle para o crescimento bacteriano comum do feijoeiro, variando de 30,21% a 81,87%, mas não controlou a mancha-angular do algodoeiro em casa de vegetação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **AGROFIT - Sistemas de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 18 set. 2008.
- AMARAL, D.R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. 2008. 92 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ARAÚJO, J.S.P.; GONÇALVES, K.S.; OLIVEIRA, B.C.; RIBEIRO, R.L.D.; POLIDORO, J.C. Efeito do acibenzolar-S-methyl sobre murcha-bacteriana do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 5-8, 2005.
- BARGUIL, B.M.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, R.S.; BESERRA JR., J.E.A.; SALGADO, S.L. Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 535- 537, 2005.
- BAUSAL, O.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 52, n. 6, p. 747-753, 2003.
- BAYSAL, O.; ZELLER, W. Extract of *Hedera helix* induces resistance on apple rootstock M26 similar to Acibenzolar-S-methyl against Fire Blight (*Erwinia amylovora*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, United Kingdom, v. 65, n. 6, p. 305-315, 2004.
- BENELLI, A.I.H.; DENARDIN, N.D.; FORCELINI, C.A. Ação do acibenzolar-S-metil aplicado em tubérculos e plantas de batata contra canela preta, incitada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* atípica. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 29, n. 3, p. 263-267, 2004.
- BUONAURIO, R.; SCARPONI, L.; FERRARA, M.; SIDOTI, P.; BERTONA, A. Induction of systemic acquired resistance in pepper plants by acibenzolar-S-methyl against bacterial spot disease. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 108, p. 41-49, 2002.

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

CAVALCANTI, F.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; PEREIRA, R.B.; ZACARONI, A.B.; VILLAS BOAS, C.H.; RESENDE, M.L.V. Natural extracts induce lignification on cocoa and tomato leaves In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS, 2., 2004, Lavras; SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4., 2004, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2004. p. 107.

CIA, E.; FUZATTO, M.F.; KONDO, J.K.; SABINO, N.P.; GALBIERI, R.; LÜDERS, R.R.; CARVALHO, L.H.; FUMIKO ITO, M.F.; ERISMANN, N.M.; CHIAVEGATO, E.J.; BOLONHEZI, D.; FOLTRAN, D.E.; KASAI, F.S.; BORTOLETTO, N.; GALLO, P.B.; RECCO, P.C.; ROSSETTO, R. Comportamento de genótipos de algodoeiro no Estado de São Paulo: produtividade, resistência a doenças e qualidade da fibra. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 326-331, mar./abr. 2008.

DIAZ, C.G. **Avaliação de danos causados por *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2000. 78 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

DIAZ, C.G.; BASSANEZI, R.B.; FILHO, A.BERGAMINHO. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. **Summa Phytopatologica**, Botucatu, v. 27, n. 7, p. 35-39, 2001.

DICKENS, L.E.; OSHIMA, N. Protective sprays inhibit secondary spread of common bacterial blight in snap beans. **Plant Disease Report**, Washington, v. 53, n. 8, p. 647, 1969.

GENT, D.H.; SCHWARTZ, H.F. Management of *Xanthomonas* leaf blight of onion with a plant activator, biological control agents, and copper bactericides. **Plant Disease**, St. Paul, v. 89, p. 631-639, 2005.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; BARBOSA, J.F.; ZACARONI, A.B.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JUNIOR, P.M. Novos indutores de resistência do algodoeiro à *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 65, ago. 2005. Suplemento.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; OLIVEIRA, D.L.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A. Efeito comparativo do acibenzolar-S-metil (ASM) com fungicidas e antibiótico no controle da mancha angular do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Gramado, v. 29, p. 87, ago. 2004. Suplemento.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; OLIVEIRA, D.L.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A. Efeito da época de aplicação e dosagem de acibenzolar-S-metil na indução de resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Uberlândia, v. 28, p. 393, ago. 2003. Suplemento.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; CAVALCANTI, F.R.; OLIVEIRA, D.L.; POZZA, E.A. Rizobactéria e acibenzolar-S-metil (ASM) na proteção contra a mancha angular (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) e na indução de respostas de defesa em algodoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 1, p. 27-34, 2008a.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; OLIVEIRA, D.L.; POZZA, E.A.; ZACARONI, A.B. Ação de acibenzolar-S-metil no controle da mancha angular do algodoeiro em condições de casa-de-vegetação. **Summa Phytopathologica**. No prelo.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; ZACARONI, A.B.; VILAS BOAS, C.H.; SOUZA, J.T. Rizobactérias no controle da mancha angular do algodoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 149-156, jan./fev. 2008b.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; ZACARONI, A.B.; RIBEIRO JUNIOR, P.M.; AMARAL, D.R.; RESENDE, M.L.V. Extratos aquosos vegetais, fertilizantes foliares e BION no controle da mancha angular do algodoeiro (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*). **Fitopatologia Brasileira**, Salvador, v. 31, p. 268, ago. 2006. Suplemento.

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

KADO, C.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 60, n. 6, p. 969-976, 1970.

KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção.** 2007. 140 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

KUHN, O.J.; PORTZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; DEL ÁGUILA, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Semina-Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 13-20, 2006.

MARINGONI, A.C. Controle químico do cretamento bacteriano comum do feijão e seu efeito na transmissão de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* pelas sementes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 8, p. 1151-1156, 1990.

MARINGONI, A.C. Efeito de produtos químicos no controle do cretamento bacteriano comum do feijão e na transmissibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* na semente. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 2, p. 97, 1988.

MOTOYAMA, M.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; FIORI, A.C.G.; SCAPIN, C.A. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 509-512, 2003.

OLIVEIRA, S.H.F.; VALARINI, P.J.; RECCO, C.A.V. Controle químico do cretamento bacteriano comum do feijão. **Fitopatologia Brasileira**, Aracaju, v. 18, p. 295, ago. 1993. Suplemento.

PENNA, J.C.V. Cultivares diferentes, lucro maior. **Cultivar**, Pelotas, v. 2, n. 17, p. 32-36, jun. 2000.

PEREIRA, R.B.; ZACARONI, A.B.; RIBEIRO-JUNIOR, P.M.; CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V. Produtos comerciais e extratos aquosos naturais no controle da mancha bacteriana causada por *Xanthomona campestris* pv. *vesicatoria* em tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 260, 2004. Suplemento.

SALES JÚNIOR, R.; PONTES FILHO, F.S.T.; NUNES, G.H.S.; TORRES, G.R.C. Eficiência de acibenzolar-S-methyl e oxicloreto de cobre no controle de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, agente causal da “Mancha-Aquosa” no meloeiro. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Paraíba, v. 7, n. 1, p. 66-71, 2007.

SANTOS, F.S. **Estudo e manejo de doenças de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob cultivo orgânico**. 2006. 187 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SANTOS, F.S.; SOUZA, P.E.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A.; MIRANDA, J.C.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; MANERBA, F.C. Efeito de extratos aquosos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 59-63, 2007.

SHANER, G.; FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox Wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, 1977.

SIDHU, G.S.; WEBSTER, J.M. The use of aminoacid fungal auxotrophs to study the predisposition phenomena in the root-knot: wilt fungus disease complex. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 11, n. 2, p. 117-127, 1977.

SILVA, L.H.C.P.; RESENDE, M.L.V.; SOUZA, R.M.; CAMPOS, J.R.; CASTRO, A.M.S. Indução de resistência contra *Xanthomonas vesicatoria* em tomateiro por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 177-181, 2003.

SILVA, R.F.; PASCHOLATI, S.F.; BEDENDO, I.P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 189-196, 2007.

SUASSUNA, N.D.; CHITARRA, L.G.; BIONUS, G.L.; INOMOTO, M.M. **Manejo de doenças do algodoeiro**, Campina Grande: Embrapa Algodão, 24p. 2006. (Circular Técnica 97).

VAUTERIN, L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. Reclassification of *Xanthomonas*. **International Journal Systematic Bacteriology**, v. 45, n. 3, p. 472-489, 1995.

WELLER, D.M.; SAETTLER, A.W. Evaluation of seedborne *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and *Xanthomonas campestris* var. *fuscans* as primary inocula in bean blights. **Phytopathology**, v. 70, n. 2, p. 148-152, 1980.

ZACARONI, A.B.; SOUZA, R.M.; ISHIDA, A.K.N.; RESENDE, M.L.V.; MAC LEOD, R.E.O.; TOYOTA, M.; PÁDUA, M. Extrato vegetal e fertilizante foliar na indução de resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Maringá, v. 32, p. 270, ago. 2007. Suplemento.

ZACARONI, A.B.; SOUZA, R.M.; ISHIDA, A.K.N.; RIBEIRO JUNIOR, P.M.; AMARAL, D.R.; RESENDE, M.L.V. Época de aplicação de acibenzolar-S-metil no controle do crestamento bacteriano comum do feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Belo Horizonte, v. 33, p. 89, ago. 2008. Suplemento.

CAPÍTULO 2

Resistência induzida por formulação à base de extrato vegetal (NEFID), combinado ou não com Agro-Mos®, no controle da mancha-angular do algodoeiro

]

1 RESUMO

ZACARONI, Ana Beatriz. Resistência induzida por formulação à base de extrato vegetal (NEFID), combinado ou não com Agro-Mos®, no controle da mancha-angular do algodoeiro. In: _____. **Formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com indutores de resistência e fertilizantes foliares no manejo de bacterioses do algodoeiro e do feijoeiro**. 2008. Cap.2, p. 48-79. (Dissertação em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Os objetivos deste trabalho foram: a) avaliar o efeito das formulações à base de extrato vegetal (NEFID), combinadas ou não com o fertilizante Agro-Mos®, no controle da mancha-angular do algodoeiro em casa de vegetação e no crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam); b) identificar possíveis mecanismos envolvidos na indução de resistência em algodoeiro à bactéria, verificando a influência dos tratamentos sobre as atividades de proteínas relacionadas à patogênese (PR), peroxidases, quitinase e beta-1,3-glucanase e no conteúdo de fenóis solúveis totais e lignina solúvel, em plantas de algodoeiro. Plantas de algodoeiro da cultivar CNPA Ita 90 foram pulverizadas com: acibenzolar-S-metil (Bion; 15 g p.c./100L), Agro-Mos® (5 mL p.c./L), extrato de folhas de café infectadas com ferrugem (NEFID 2,5%) e a mistura NEFID + Agro-Mos®, ambos os tratamentos com e sem inoculação de Xam, além de testemunha inoculada e testemunha pulverizada com água. Os tratamentos promoveram o aumento da atividade das enzimas peroxidase, quitinase e glucanase, principalmente após a inoculação do patógeno. Observou-se ligeira variação na deposição de lignina 8 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos, contudo, não foi observada alteração na atividade dos fenóis solúveis.

Palavras-chave: PR proteínas, fenóis solúveis, lignina, *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*

*Comitê Orientador: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA, Alessandra Keiko Nakasone Ishida - EMBRAPA

2 ABSTRACT

ZACARONI, Ana Beatriz. Resistance induced by formulations of plant extract (NEFID) combined or not with Agro-Mos®, against cotton bacterial blight. In: _____ **Development of formulations based on plant extracts combined or not with ASM, foliar fertilizers and oils in the management of bacterial blight in cotton and bacterial blight in common bean.** 2008. Cap.2, p. 46-77. (Dissertation in Plant Pathology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

The objective of this work were: a) to evaluate the effect of formulations for a plant extract (NEFID), combined or not with the fertilizer Agro-Mos®, in the control of cotton bacterial blight in greenhouse and in the *in vitro* growth of *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam); b) identify possible mechanisms involved in the cotton resistance induction to the bacterial disease, verify the treatment's influence on the activities of pathogenesis related proteins (PR), peroxidase, chitinase and beta-1,3-glucanase, in the contents of total soluble phenols and soluble lignin. Cotton plants from the cultivar CNPA Ita 90 were sprayed with: acibenzolar-S-metil (ASM; 7.5 g a.i./100L), Agro-Mos® (5 mL c.p./L), extract of rust infected coffee leaves (NEFID 2.5%) and the mixture NEFID + Agro-Mos®, both treatments with or without inoculation with Xam, and the control only inoculated or inoculated and treated with water. The treatments produced an increase in the activity of the enzymes peroxidase, chitinase and glucanase, specially after the pathogen inoculation. A slight variation in the lignin deposit 8 and 14 days after inoculation of treatments was observed and none in the activity of total phenols.

Key-words: PR proteins, soluble phenols, lignin, *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*

*Guidance Committee: Ricardo Magela de Souza - UFLA (Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA , Alessandra Keiko Nakasone Ishida - EMBRAPA

3 INTRODUÇÃO

A mancha-angular do algodoeiro, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Smith) (Vauterin et al., 1995) (Xam), constitui uma doença de grande importância, principalmente em condições de alta temperatura e umidade, podendo causar rasgadura e queda das folhas e danos nos capulhos, influenciando consideravelmente a produtividade. Sua ocorrência tem aumentado sensivelmente as principais regiões produtoras, principalmente naquelas em que as chuvas ou a irrigação disseminam o patógeno durante a estação de produção (Akello & Hillocks, 2002; Cia et al., 2003), devido à alta variabilidade do patógeno e ao cultivo de variedades susceptíveis (Cassetari Neto & Machado, 2001).

A resistência induzida é definida como o aumento da capacidade defensiva da planta contra amplo espectro de patógenos e pragas, adquirida após estímulo apropriado (Loon et al., 1998) e tem demonstrado seu potencial no controle de doenças de plantas. Baseia-se no reconhecimento de um invasor e em subsequentes eventos de transdução de sinal que levam à ativação das defesas (Mauch-Mani & Métraux, 1998), podendo ser ativada por agentes microbianos, produtos naturais e químicos (Loon et al., 1998). Esta resistência é expressa localmente no sítio de ataque do patógeno e sistemicamente em partes da planta não infectadas (Mauch-Mani & Métraux, 1998). Os mecanismos de defesa envolvidos incluem a combinação de mudanças físicas, tais como lignificação da parede celular, formação de papilas ou indução de várias proteínas relacionadas à patogênese (PR proteínas) (Kessmann et al., 1994; Loon, 1997).

Há relatos do ASM induzindo resistência contra *Ralstonia solanacearum* (Araújo et al., 2005), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Bausal et

al., 2003), *Xanthomonas vesicatoria* (Cavalcanti et al., 2006; Silva et al., 2003; Buonauro et al., 2002) *X. campestris* pv. *allii* (Gent & Schwartz, 2005), *X. axonopodis* pv. *malvacearum* (Ishida et al., 2008, No prelo) e *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* atípica (Benelli et al., 2004).

A redução da severidade da doença em alguns patossistemas, conferida por ASM, foi acompanhada pela indução de respostas de defesa, resumidas em aumentos nas atividades das enzimas β -1,3-glucanase (Cavalcanti et al., 2006), fenilalanina amônia-liase (Rodrigues et al., 2006), quitinase (Bausal et al., 2003) e peroxidase (Bausal et al., 2003; Kilic-Ekici & Yuen, 2004; Rodrigues et al., 2006).

O controle de bacterioses com extratos vegetais vem sendo constatado em diversos trabalhos (Kuhn et al., 2006; Motoyama et al., 2003; Cavalcanti et al., 2006; Baysal & Zeller, 2004), podendo estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas envolvidas nas respostas de defesa de plantas (Baysal & Zeller, 2004; Cavalcanti et al., 2006).

Produtos capazes de induzir ampla resistência em plantas surgem como opção para que o agricultor complemente programas de manejo integrado de doenças. Assim, objetivou-se, com a realização deste trabalho, avaliar o efeito da formulação à base de extrato vegetal (NEFID), combinado ou não com o fertilizante Agro-Mos®, no controle da mancha-angular do algodoeiro em casa de vegetação e no crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *malvacearum*, bem como identificar possíveis mecanismos envolvidos na indução de resistência, em algodoeiro, à bactéria.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (DFP/UFLA), MG, nos laboratórios de Bacteriologia de Plantas e de Fisiologia do Parasitismo e em casa de vegetação, com temperatura média de 32°C e irrigação automatizada.

Origem, isolamento e preservação do patógeno

O isolado de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam) utilizado nos ensaios foi obtido de folhas de algodoeiro apresentando lesões típicas de mancha-angular, proveniente da região algodoeira do estado de Mato Grosso. O isolamento foi realizado em meio 523 (Kado & Heskett, 1970), pelo método de estrias paralelas. O preparo da suspensão bacteriana foi realizado diluindo-se as colônias em água de torneira à concentração de 10⁹ UFC/mL.

A inoculação de Xam foi realizada 28 dias após a semeadura, pulverizando-se a face inferior das folhas com suspensão bacteriana. As plantas foram mantidas por 24 horas antes e depois da inoculação em câmara úmida (29±1°C e 90-95% UR), sendo, em seguida, levadas para casa de vegetação.

Obtenção das formulações

Folhas de café cv. Mundo Novo, naturalmente infectadas por *Hemileia vastatrix* e caídas no solo, foram trituradas em partículas extremamente finas (30 micras) e processadas no Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do DFP/UFLA, para a obtenção do extrato vegetal NEFID. Os produtos Agro-Mos® e Bion® foram obtidos junto às empresas Improcop do Brasil Ltda. e Syngenta Proteção de Cultivos Ltda., respectivamente.

Formulações à base de extrato vegetal (NEFID), combinadas ou não com Agro-Mos®, no controle da mancha-angular do algodoeiro, em casa de vegetação

Para se avaliar o NEFID (sob sigilo de patente), combinado ou não com o fertilizante (Agro-Mos®), no controle da mancha-angular do algodoeiro em casa de vegetação, sementes de algodão da cultivar CNPA Ita 90 foram semeadas em vasos (3 L) contendo substrato comercial Plantmax® HT .

Os tratamentos foram aplicados aos 7 dias antes da inoculação do patógeno, via foliar, pulverizando-se as folhas com pulverizador manual, até o ponto de escorrimento. Os produtos testados com suas respectivas dosagens estão listados na Tabela 1.

Tabela 1. Produtos testados no controle da mancha-angular do algodoeiro. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Produto	Marca comercial	Dose utilizada
Fertilizante	Agro-Mos®	5 mL p.c./L de água
Acibenzolar-S-metil	Bion®	15 g p.c./100L de água
NEFID	-	2,5%

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 5 tratamentos (NEFID, Agro-Mos®, Bion®, Testemunha e a mistura NEFID + Agro-Mos®) e 4 repetições com 6 plantas/parcela. A severidade da mancha-angular foi avaliada aos 7, 14, 21, 28 e 35 dias após a inoculação de Xam, utilizando-se a escala de notas de Sidhu & Webster (1977) adaptada, baseada em um critério de notas variando de 0 a 4, em que 0 = 0% de folha lesionada; 1 = 1% a 25% de folha lesionada; 2 = 26% a 50% de folha lesionada; 3 = 51% a 75% de folha lesionada e 4 = acima de 76% de folha lesionada. Os valores obtidos serviram de base para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), proposta por Shaner & Finney (1977). Para cada uma das

variáveis, foram realizadas a análise de variância e a comparação das médias pelo teste de Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Efeitos de formulações à base de extrato vegetal (NEFID), combinadas ou não com Agro-Mos®, sobre o crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*

As formulações à base de extrato vegetal (NEFID), combinado ou não com Agro-Mos®, foram avaliadas sobre o crescimento *in vitro* de Xam. Agro-Mos® foi incorporado ao meio 523 nas dosagens 1; 2,5; 5 e 10 mL do p.c./L e o NEFID nas concentrações 5%, 20%, 40% e 80%. Para a mistura, utilizou-se NEFID 20% + Agro-Mos®, nas dosagens anteriormente descritas. Após a solidificação do meio de cultura acrescido dos produtos, foram adicionadas alíquotas de 5 µL da suspensão bacteriana em 4 pontos equidistantes em cada placa de Petri. As placas foram incubadas, por 48 horas, a 28°C. A avaliação foi realizada verificando-se a ocorrência ou não do crescimento bacteriano. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições.

Mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa

Foram analisadas as atividades das enzimas peroxidase de guaicol, quitinase, α -1,3-glucanase, bem como os teores de lignina solúvel e de fenóis solúveis totais.

Sementes de algodão da cultivar CNPA Ita 90 foram semeadas em bandejas de plástico contendo substrato Plantmax®. Vinte e um dias após a semeadura, as plantas de algodão foram expostas aos tratamentos: NEFID, Agro-Mos®, Bion® e à mistura NEFID + Agro-Mos®, por pulverização da parte aérea, seguida ou não de inoculação do patógeno. Como testemunhas foram utilizadas plantas inoculadas e não inoculadas (absoluta). Os tempos de coleta das amostras foliares foram: 0 hora, 12 horas (0,5 dia), 24 horas (1 dia),

72 horas (3 dias), 168 horas (7 dias), 192 horas (8 dias), 240 horas (10 dias) e 360 horas (14 dias) após a aplicação dos tratamentos. Foram utilizadas 4 repetições de 3 plantas para cada tempo de coleta por tratamento.

Os tratamentos foram utilizados nas dosagens descritas na Tabela 1 e aplicados sete dias antes da inoculação de Xam. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com dez tratamentos e quatro repetições.

Após as coletas, a parte aérea das plantas de algodão foi envolvida em papel alumínio, identificada, mergulhada em nitrogênio líquido e, após o congelamento, acondicionada em sacos plásticos e armazenadas, a -80°C, até o preparo do material para as análises bioquímicas.

Preparo de extratos foliares para a avaliação de proteínas totais e atividade de peroxidase de guaiacol, quitinase e α -1,3-glucanase

Os tecidos vegetais foliares foram triturados em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, aproximadamente 1g desse pó foi depositado em um tubo, ao qual se adicionou o tampão acetato de sódio 50 mM pH 5,2 (8 mL de tampão para cada grama de amostra), homogeneizando-se, sob agitação, por 10 segundos. Após esse processo, a suspensão foi centrifugada a 12.000 rpm, por 15 minutos (0-4°C) e o sobrenadante, usado como fonte enzimática.

Proteínas totais

A concentração de proteína total solúvel foi aferida com a utilização de uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA) ajustada para 100 μ L do extrato enzimático, conforme ensaio de Bradford (1976).

Peroxidase de guaicol (POX; EC 1.11.1.7)

A atividade de peroxidases de guaicol foi determinada pela adição de 100 μL do extrato enzimático ajustado para 2 mL de solução contendo 900 μL de acetato de sódio 50 mM pH 5,2, 500 μL de guaicol 20 mM e 500 μL de peróxido de hidrogênio 60 mM. Após incubação, a 30°C, por 10 minutos, a reação foi paralisada com 500 μL de bissulfito de sódio 2%. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 480nm (Urbanek et al., 1991). Uma unidade POX foi expressa como variação de 1 OD₄₈₀ por miligrama de proteína solúvel por minuto ($\Delta_{480\text{nm}} \text{mgP}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

Quitinase (CHI; EC 3.2.1.14)

A atividade de quitinase foi determinada a fim de verificar a inespecificidade do possível indutor. Para tanto, foram adicionados 100 μL do extrato enzimático, 100 μL de acetato de sódio 50 mM pH 5,2 e 80 μL de CM-Chitin-RBV (2mg mL⁻¹; um substrato específico para quitinase fornecido por LOEWE Biochemica GmbH) em microplacas de 96 cavidades, com volume de 350 μL por cavidade. Após incubação, a 35°C, por 80 minutos, as amostras foram acidificadas com 50 μL de HCl 0,5N, resfriadas em banho de gelo por 10 minutos e centrifugadas (1.450g por 10 minutos), a 4°C. Uma alíquota de 200 μL do sobrenadante de cada amostra foi transferida para nova microplaca, para leitura em 492 nm, em um leitor EIA-compatível (Wirth & Wolf, 1990). A atividade CHI foi expressa pela variação de 1 OD₄₉₂ por miligrama de proteína solúvel por minuto ($\Delta_{492\text{nm}} \text{mgP}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

β -1,3-glucanase (GLU; EC 3.2.1.6)

A atividade da β -1,3-glucanase foi determinada de modo análogo ao da quitinase, apenas com substituição do substrato para CM-Curdlan-RBB (4 mg mL⁻¹; LOEWE Biochemica GmbH). Para promover ação hidrolítica de β -1,3-

glucanase, foi adotado tempo de incubação de 35°C, por 80 minutos. As amostras foram submetidas à leitura fotométrica em filtro de 620 nm de um leitor EIA (Wirth & Wolf, 1990). A atividade GLU foi expressa pela variação de 1 OD₆₂₀ por miligrama de proteína solúvel por minuto ($\Delta_{620\text{nm}} \text{ mgP}^{-1} \text{ min}^{-1}$). Todos os ensaios enzimáticos foram conduzidos em triplicatas.

Preparo de tecidos foliares para avaliação de lignina solúvel e fenóis solúveis totais

Os tecidos vegetais foliares foram triturados em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo, até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, as amostras foram liofilizadas por 12 horas. Uma alíquota de aproximadamente 30 mg do material liofilizado foi transferida para microtubo de 2 mL, homogeneizadas com 1,5 mL de metanol a 80% e mantidas sob agitação, por 15 horas, em agitador rotativo, protegido da luz à temperatura ambiente. A suspensão foi centrifugada a 12.000 rpm, por 10 minutos. O sobrenadante (extrato metanólico) foi transferido para novo microtubo, com o qual se realizou a determinação de fenóis solúveis totais, enquanto o resíduo sólido foi utilizado para a determinação de lignina solúvel como descrito abaixo.

Determinação de lignina solúvel

Foi adicionado ao resíduo sólido 1,5 mL de metanol 80%, homogeneizado e centrifugado, a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o resíduo seco, a 65°C, por 15 horas. Posteriormente, acrescentou-se 1,5 mL de solução de ácido tioglicólico:HCl 2M (1:10), agitando-se suavemente os microtubos para hidratar o resíduo e estes foram colocados em banho-maria, em fervura, por 4 horas.

Posteriormente, os microtubos foram centrifugados, a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado com

1,5 mL de água destilada e novamente centrifugado, a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4°C.

Na seqüência, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspense em 1,5 mL de NaOH 0,5M e mantido em agitador rotativo por 15 horas, à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada, a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4°C e o sobrenadante transferido para novo microtubo, ao qual foram adicionados 200 µL de HCl concentrado. A suspensão obtida foi mantida em câmara fria (4°C) por 4 horas, para permitir a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico.

A seguir, a mistura foi centrifugada a 12.000 rpm, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante descartado e o precipitado ressuspense em 2 mL de NaOH 0,5M.

A absorbância desta solução foi determinada em espectrofotômetro a 280 nm e os valores calculados com base na curva de lignina, sendo expresso em µg de lignina solúvel por miligrama de massa seca (Doster & Bostock, 1988).

Determinação de fenóis solúveis totais

Alíquotas de 150 µL do extrato metanólico foram misturadas a 150 µL do reagente de Folin-Ciocalteu 0,25N, por 5 minutos, homogeneizadas com 150 µL de Na₂CO₃ 1M, por 10 minutos e diluídas com 1 mL de água destilada à temperatura ambiente, por uma hora.

Os valores de absorbância desta reação foram determinados a 725 nm em espectrofotômetro e calculados com base em curva de catecol. Os compostos fenólicos totais foram expressos em equivalente µg de catecol por miligrama de massa seca (Spanos & Wrolstad, 1990).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Formulações à base de extrato vegetal (NEFID), combinadas ou não com Agro-Mos®, no controle da mancha-angular do algodoeiro em casa de vegetação

Todos os tratamentos proporcionaram controle da mancha-angular do algodoeiro, diferindo significativamente da testemunha inoculada (Tabela 2). No entanto, o melhor resultado foi conferido por Bion®, com 41,26% de controle da doença em relação à testemunha inoculada.

Tabela 2. Formulações à base de extrato vegetal (NEFID), combinadas ou não com Agro-Mos®, na área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPD) da mancha-angular do algodoeiro em casa de vegetação. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	AACPD		Porcentagem de controle
Bion®	791,94	A ¹	41,26
Agro-Mos®	901,49	A	33,13
NEFID + Agro-Mos®	935,33	A	30,63
NEFID	1040,82	A	22,85
Testemunha	1348,21	B	-
CV	14,55		

¹Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste Scott Knott, a 5% de probabilidade.

Ishida et al. (No prelo) verificaram que a aplicação do Bion® proporcionou 83% de redução da severidade da mancha-angular do algodoeiro em relação à testemunha inoculada. Na cultura do tomateiro, Silva et al. (2003) obtiveram, com ASM, até 70% de redução da severidade da mancha bacteriana (*X. vesicatoria*) em relação à testemunha inoculada. Araújo et al. (2005) observaram que os sintomas de murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) evoluíram mais vagarosamente nas cultivares Santa Clara, Diana e AF-2573,

quando as plantas foram pulverizadas com ASM e Silva et al. (2007) observaram 53,68% de redução na severidade da doença em relação à testemunha em casa de vegetação. Sales Júnior et al. (2007) obtiveram com o ASM na dose 25g/ha, 65,6% de controle da mancha aquosa (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) em campos de melão na região de Mossoró, RN. Benelli et al. (2004) verificaram que o tratamento de tubérculos de batata ‘Asterix’ com ASM proporcionou redução da severidade da canela-preta (*Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*).

Em plantas tratadas com NEFID, houve 22,85% de redução na severidade da mancha-angular do algodoeiro em relação à testemunha inoculada (Tabela 2). Entretanto, em ensaios anteriores (dados não publicados) também em casa de vegetação, obteve-se 41,50% de redução na severidade da doença proporcionado por NEFID, o que sugere que, neste experimento, fatores externos, como condições ambientais, influenciaram as respostas das plantas ao tratamento. Plantas tratadas com Agro-Mos® e NEFID + Agro-Mos® apresentaram 33,13% e 30,63% de controle em relação à testemunha. Em ensaios anteriores (dados não publicados), os controles da mancha-angular foram de 60,32% e 66,37%, respectivamente.

Efeito de formulações à base de extrato vegetal (NEFID), combinadas ou não com Agro-Mos®, sobre o crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*

Agro-Mos® inibiu o crescimento *in vitro* de Xam em todas as concentrações testadas (Figura 1B, Tabela 3). Quando em mistura com NEFID 20% inibiu o crescimento de Xam a partir de 1,0 mL p.c./L. Bion® e NEFID não inibiram o crescimento *in vitro* de Xam em nenhuma das concentrações testadas (Figura 1A, 1C;Tabela 3).

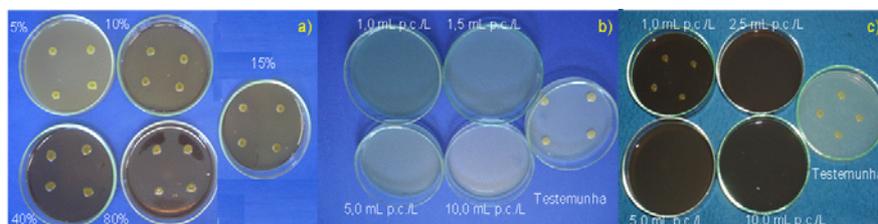


Figura 1. Crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* em diferentes concentrações de: a) extrato vegetal NEFID; b) fertilizante Agro-Mos®; c) NEFID 20% + Agro-Mos®. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tabela 3. Crescimento de *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* exposta a diferentes concentrações de: extrato vegetal NEFID, fertilizante Agro-Mos® e NEFID 20% + Agro-Mos®. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	0 mL p.c./L	1 mL p.c./L	2,5 mL p.c./L	5 mL p.c./L	10 mL p.c./L
Bion®	+	+	+	+	+
Agro-Mos®	+	-	-	-	-
NEFID + Agro-Mos®	+	+	-	-	-
NEFID	+	+	+	+	+

+ crescimento abundante, - nenhum crescimento

Kobayasti et al. (2001) e Silva (2002) verificaram também que o ASM não inibiu o crescimento *in vitro* das bactérias fitopatogênicas *Xanthomonas vesicatoria*, *Ralstonia solanacearum* e *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, até a concentração de 1000 ppm.

A inibição do crescimento *in vitro* de Xam pelo fertilizante Agro-Mos® se deve, provavelmente, à presença de cobre em sua composição. A mistura do Agro-Mos® com NEFID 20% na dose 1,0 mL/L não inibiu o crescimento *in vitro* de Xam, provavelmente, devido à diluição de sua concentração de cobre até um nível insuficiente para causar inibição.

Mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa

Peroxidase de guaicol (POX; EC 1.11.1.7)

A atividade da enzima peroxidase em plantas de algodoeiro tratadas com NEFID aumentou a partir do terceiro dia após o tratamento apresentando máxima atividade aos 7 dias após aplicação dos mesmos. Já NEFID + Xam teve um incremento na atividade 1 dia após a inoculação, diminuindo, em seguida, incrementando novamente aos 7 dias após inoculação (Figura 2A).

Plantas tratadas com Agro-Mos® apresentaram tendência de aumento na atividade de peroxidase aos 0,5 e 3 dias após o tratamento, diminuindo a partir do oitavo dia. Agro-Mos® + Xam aumentou a atividade da enzima a partir da inoculação, atingindo o pico aos 3 dias após a inoculação (Figura 2B).

Plantas tratadas com NEFID + Agro-Mos® aumentaram a atividade da enzima a partir do tratamento com um pico no oitavo, coincidindo com a atividade máxima de NEFID + Agro-Mos® + Xam (Figura 2C).

Plantas tratadas com Bion® apresentaram atividade de peroxidase semelhantes à testemunha, entretanto, Bion® + Xam apresentaram acréscimo na atividade a partir da inoculação, decrescendo em seguida e diferindo dos demais tratamentos. De forma semelhante, às plantas tratadas com NEFID + Xam apresentou tendência de aumento na atividade da enzima aos 7 dias após inoculação de Xam (Figura 2D).

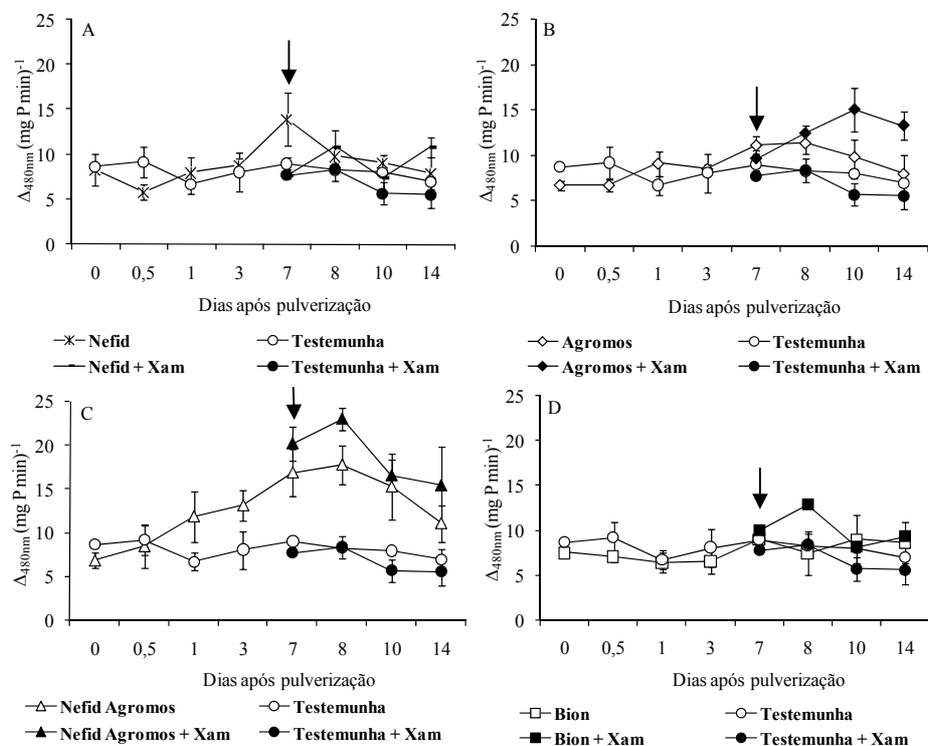


Figura 2. Atividade de peroxidase de guaiacol em plantas de algodoeiro submetidas aos tratamentos: A) NEFID, B) Agro-Mos®, C) NEFID + Agro-Mos®, D) Bion® e testemunha. Setas indicam inoculação com *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* 7 dias após pulverização. Barras indicam erro padrão da média.

Nos tratamentos testemunhas, as plantas inoculadas apresentaram atividade menor do que plantas não inoculadas, o que não ocorreu em plantas tratadas com NEFID, Agro-Mos®, NEFID + Agro-Mos® e Bion® inoculados (Figura 2). Para Bausal et al. (2003), os tratamentos inoculados com o patógeno apresentam atividade de peroxidase superior aos tratamentos não inoculados.

Em plantas de tomate tratadas com ASM, Ribeiro Júnior et al. (2004) observaram o pico de produção de peroxidases, tanto nas plantas inoculadas quanto não inoculadas com *X. vesicatoria*, aos nove dias após a pulverização e

Soylu et al. (2003), no patossistema tomate X *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, aos 14 dias. Em mudas de café tratadas com extrato de casca de café (150 g.L⁻¹), com ou sem a inoculação de *C. coffeicola*, Pereira (2006) observou o pico de peroxidases aos 11 dias.

As peroxidases de plantas participam de diversos processos fisiológicos, dentre eles a formação de lignina. A atividade desta enzima é frequentemente aumentada em resposta aos estresses, ao ataque de patógenos e aos tratamentos com indutores. A proteção celular contra reações oxidativas também é uma das principais funções dessas enzimas (Anterola & Lewis, 2002).

Quitinase (CHI; EC 3.2.1.14)

Com relação à atividade de quitinase, verificou-se que, até três dias após a aplicação dos tratamentos, a atividade dessa enzima permaneceu constante para todos os tratamentos. Aos sete dias após os tratamentos, verificou-se um aumento da atividade para todos os tratamentos, exceto NEFID + Agro-Mos® (Figura 3A-D). Aos 8 dias após os tratamentos, um dia após a inoculação de Xam, todos os tratamentos apresentaram incremento na atividade de quitinase. Aos 10 dias após os tratamentos, três após a inoculação, plantas tratadas com NEFID + Xam, NEFID + Agro-Mos® + Xam, NEFID + Agro-Mos® e Agro-Mos® tiveram máxima atividade da enzima. Aos 14 dias após os tratamentos, sete após a inoculação de Xam, todos os tratamentos apresentaram decréscimo na atividade de quitinase, exceto plantas tratadas com Bion® + Xam, que apresentaram tendência de aumento na atividade.

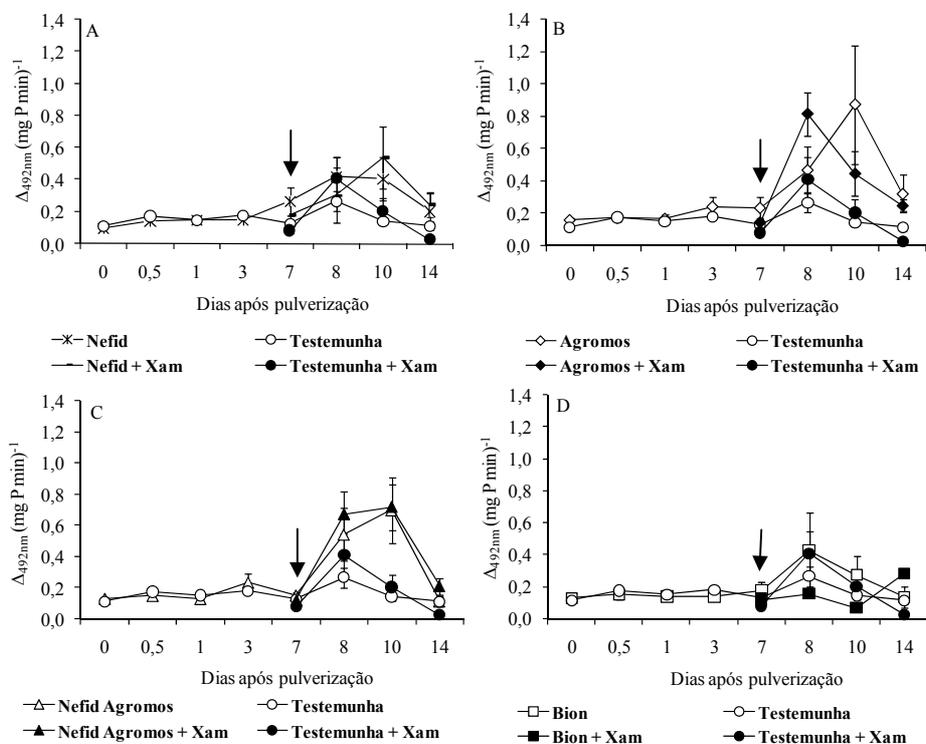


Figura 3. Atividade de quitinase, em plantas de algodoeiro submetidas aos tratamentos: A) NEFID, B) Agro-Mos®, C) NEFID + Agro-Mos®, D) Bion® e testemunha. Setas indicam inoculação com *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* 7 dias após pulverização. Barras indicam erro padrão da média.

Em trabalho realizado com o ASM em plantas de algodão, verificou-se que a maior atividade dessa enzima foi observada aos sete dias após a aplicação dos tratamentos, ocorrendo uma queda na atividade aos 10 e 14 dias (dados não publicados). Em plantas de tomate pulverizadas com ASM e suspensão de quitosana e inoculadas com *X. vesicatoria*, a atividade de quitinase não diferiu significativamente das testemunhas inoculada e absoluta aos 3 e aos 12 dias após a aplicação dos tratamentos (Cavalcanti et al., 2006).

Amaral (2008) não observou diferenças significativas na atividade de quitinase em plantas de café pulverizadas com NEFID e EFID até 14 dias após a pulverização e 8 dias da inoculação de *Cercospora coffeicola*. A partir deste dia, houve aumento tanto nos tratamentos inoculados quanto nos sem inoculação, culminando com a maior atividade em relação às testemunhas 21 dias após o tratamento.

Para plantas pulverizadas com ASM, observou-se que a atividade desta enzima se sobressaiu em relação às testemunhas, em todas as coletas, fato semelhante ao observado para plantas pulverizadas com ASM e inoculadas com *C. coffeicola* (Amaral, 2008).

A participação dessa enzima relacionada à resistência foi evidenciada por Baysal et al. (2003), em plantas de tomate tratadas com ASM e inoculadas com *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, as quais exibiram maior atividade de quitinase aos 2, 3, 5 e 7 dias após a inoculação. Esse aumento foi correlacionado com a resistência induzida nas plantas de tomate tratadas com ASM.

β -1,3-glucanase (GLU; EC 3.2.1.6)

Aos três dias após a aplicação dos tratamentos, a atividade de glucanase foi maior em plantas tratadas com Agro-Mos®. Aos 8 dias após a aplicação dos tratamentos, um dia após a inoculação, todos os tratamentos apresentaram aumento na atividade de glucanase, ocorrendo a máxima atividade em plantas tratadas com Agro-Mos®, NEFID + Agro-Mos®, Bion® e Agro-Mos® + Xam. Já aos 10 dias após a aplicação dos tratamentos (quatro dias após a inoculação com Xam), plantas inoculadas e não inoculadas, tratadas com NEFID, NEFID + Xam e NEFID + Agro-Mos® + Xam apresentaram pico de atividade desta enzima. Aos 14 dias após os tratamentos, 7 após inoculação de Xam, houve um decréscimo na atividade de glucanase para todos os tratamentos exceto para o

tratamento Bion® + Xam, que apresentou um leve acréscimo na atividade desta enzima (Figura 4).

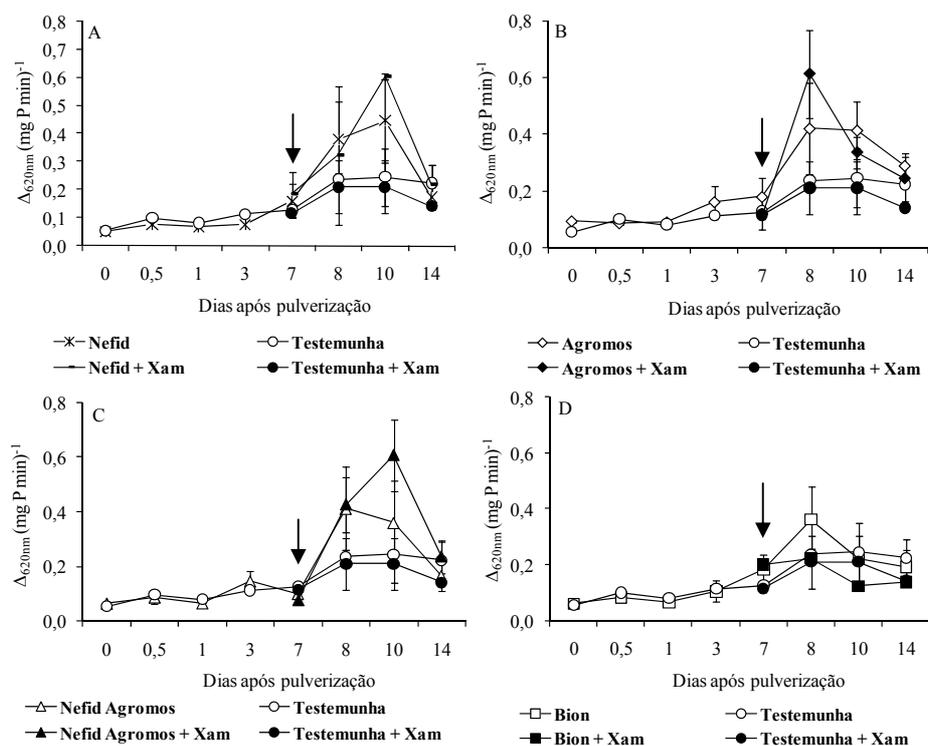


Figura 4. Atividade de β -1,3 glucanase, em plantas de algodoeiro submetidas aos tratamentos: A) NEFID, B) Agro-Mos®, C) NEFID + Agro-Mos®, D) Bion® e testemunha. Setas indicam inoculação com *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* 7 dias após pulverização. Barras indicam erro padrão da média.

Colson-Hanks & Deverall (2000) verificaram alta atividade de β -1,3-glucanase cinco dias após a aplicação de ASM em algodão.

Plantas de caféiro pulverizadas com NEFID, sem inoculação de *C. coffeicola*, apresentaram aumento significativo na atividade de β -1,3-glucanase em folhas, seis horas após a pulverização, em relação à testemunha absoluta,

permanecendo relativamente constante até 21 dias após a pulverização (Amaral, 2008).

Fenóis solúveis totais e lignina

Os tratamentos avaliados não proporcionaram diferença significativa para o teor de fenóis solúveis totais em nenhuma das coletas, entretanto, houve uma tendência de aumento no decorrer das coletas exceto para Agro-Mos® + Xam e testemunha inoculada (Tabela 4). Amaral (2008) observou que mudas de cafeeiro tratadas com NEFID inoculadas e não inoculadas com *Cercospora coffeicola* apresentaram conteúdo maior de fenóis solúveis que as testemunhas inoculada e absoluta e que os tratamentos com Bion® não diferiram significativamente das testemunhas.

Cavalcanti et al. (2007) e Resende et al. (2007), utilizando filtrado aquoso de micélio de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer e de ramos de lobeira (*Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.) infectados por *C. pernicioso*, observaram a eficácia destes produtos na proteção de tomateiro e de cacaueteiro infectados, respectivamente, por *Xanthomonas vesicatoria* e *Verticillium dahliae*.

Tabela 4. Teores de fenóis solúveis totais (μg de catecol $\text{mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$) em plantas de algodoeiro submetidas aos tratamentos: NEFID, Agro-Mos[®], NEFID + Agro-Mos[®], Bion[®] e testemunha, inoculados ou não com *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	Dias após tratamentos											
	3			7			8			14		
Nefid	2,00	± 0,43	a	2,34	± 0,25	a	2,26	± 0,28	a	2,57	± 0,12	a
Nefid + Xam							2,35	± 0,23	a	2,65	± 0,22	a
Agro-Mos [®]	2,14	± 0,11	a	2,55	± 0,31	a	2,27	± 0,20	a	2,39	± 0,13	a
Agro-Mos [®] + Xam							2,53	± 0,11	a	2,51	± 0,08	a
Nefid + Agro-Mos [®]	1,93	± 0,07	a	2,09	± 0,22	a	2,28	± 0,20	a	2,44	± 0,07	a
Nefid + Agro-Mos [®] + Xam							2,53	± 0,26	a	2,74	± 0,25	a
Bion [®]	2,02	± 0,22	a	2,44	± 0,22	a	2,62	± 0,24	a	2,71	± 0,07	a
Bion [®] + Xam							2,48	± 0,29	a	2,83	± 0,19	a
Testemunha	1,95	± 0,02	a	2,28	± 0,20	a	2,46	± 0,26	a	2,5	± 0,04	a
Testemunha + Xam							2,89	± 0,08	a	2,77	± 0,01	a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Scott Knott (P=0,05).

+Teores de fenóis solúveis ou lignina ± erro padrão da média.

Quanto ao conteúdo de lignina nas plantas de algodoeiro, não houve diferença significativa entre os tratamentos aos 3 e 7 dias após a aplicação (Tabela 5).

Tabela 5. Teores de lignina solúvel em ácido tioglicólico ($\mu\text{g mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$) em plantas de algodoeiro submetidas aos tratamentos: NEFID, Agro-Mos®, NEFID + Agro-Mos®, Bion® e testemunhas inoculadas ou não com *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Tratamentos	Dias após tratamentos							
	3		7		8		14	
Nefid	10,92	± 2,36 a	10,86	± 2,12 a	12,07	± 0,21 a	15,13	± 0,19 a
Nefid + Xam					8,42	± 0,46 b	17,47	± 0,89 a
Agro-Mos®	11,66	± 0,59 a	10,77	± 0,40 a	12,03	± 0,55 a	15,70	± 1,16 a
Agro-Mos® + Xam					10,06	± 0,10 b	19,34	± 1,03 a
Nefid + Agro-Mos®	10,53	± 0,41 a	11,18	± 1,03 a	14,66	± 1,60 a	11,21	± 0,67 b
Nefid + Agro-Mos® + Xam					13,06	± 1,51 a	17,72	± 2,30 a
Bion®	11,00	± 1,22 a	7,96	± 1,70 a	11,90	± 0,63 a	11,65	± 0,70 b
Bion® + Xam					12,94	± 1,01 a	17,77	± 2,56 a
Testemunha	10,62	± 0,09 a	7,44	± 1,07 a	8,46	± 0,56 b	11,28	± 1,15 a
Testemunha + Xam					12,33	± 0,51 a	11,36	± 1,31 a

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem pelo teste de Scott Knott (P=0,05).

+Teores lignina ± erro padrão da média.

Aos 8 dias após os tratamentos e um dia após inoculação de Xam, plantas tratadas com NEFID + Xam, Agro-Mos® + Xam e plantas testemunhas absolutas apresentaram os menores teores de lignina em relação aos demais tratamentos. Já aos 14 dias após tratamentos, sete após inoculação, NEFID + Agro-Mos® e Bion® apresentaram os menores teores de lignina e Agro-Mos® + Xam os maiores. Estes resultados contrastam com os obtidos por Kuhn (2007) em que a aplicação de ASM em feijoeiro aumentou a síntese de lignina, o que pode estar associado à redução da severidade de *X. axonopodis* pv *phaseoli*, em casa de vegetação e *Sclerotinia sclerotiorum* no campo. Ishida et al. (No prelo) verificaram que plantas de algodão pulverizadas com ASM, inoculadas e não inoculadas com *X. axonopodis* pv. *malvacearum*, apresentaram os maiores teores de lignina, diferindo significativamente da testemunha absoluta.

Amaral (2008), avaliando o acúmulo de lignina em folhas de mudas de cafeeiro tratadas com NEFID e inoculadas com *Cercospora coffeicola*, verificou que não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos. Entretanto, observou discreta tendência no aumento da macromolécula, cerca de 10% superior à testemunha absoluta e 15% em relação à testemunha inoculada, para os tratamentos com ASM e NEFID.

A lignina é uma macromolécula fenólica, altamente complexa, sendo o segundo composto mais abundante nos tecidos vegetais. Sua estrutura ainda não é totalmente conhecida, em função das dificuldades no processo de extração, mas, acredita-se que ela seja originada da polimerização enzimática de monômeros de coniferil, sinapil e β -cumaril álcoois (Dence & Lin, 1992; Taiz & Zeiger, 1998).

A lignina é acumulativa, por isso, quanto maior o estágio de desenvolvimento das plantas, maiores são os teores de lignina, principalmente em plantas lenhosas e perenes, como o algodão. Este composto, geralmente, é encontrado nos tecidos vegetais entre a parede celular e as células adjacentes.

Estruturas lignificadas podem interromper o desenvolvimento fúngico em tecidos vegetais e atuar como barreira com resistência à penetração ou ao desenvolvimento destes organismos (Nicholson & Wood, 2001; Agrios, 2005; Pascholati & Leite, 1995; Misaghi, 1982; Hammerschmidt & Kuc, 1982; Ride, 1975).

A partir desses resultados, pode-se inferir que a formulação à base de extrato vegetal (NEFID) possui características de indutor de resistência, podendo ser utilizado como alternativa no manejo da mancha-angular do algodoeiro.

6 CONCLUSÕES

Todos os tratamentos reduziram a severidade da mancha-angular do algodoeiro em casa de vegetação, sendo o maior controle em relação à testemunha, 41,26%, proporcionado pelo Bion®.

NEFID não possui atividade antibacteriana contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*, podendo assim ser considerado um indutor de resistência.

A aplicação de todos os tratamentos aumentou a atividade das enzimas peroxidase, quitinase e glucanase; apresentou ligeira variação na deposição de lignina 8 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos e não aumentou a atividade dos fenóis solúveis totais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5.ed. San Diego: Academic, 2005. 922 p.
- AKELLO, B.; HILLOCKS, R.J.; Distribution and races of *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* on cotton (*Gossypium hirsutum*) in Uganda. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 150, n. 2, p. 65-69, 2002.
- AMARAL, D.R. **Formulações de extratos aquosos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. 2008. 92 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- ANTEROLA, A.M.; LEWIS, N.G. Trends in lignin modification: a comprehensive analysis of the effects of genetic manipulations/ mutations on lignification and vascular integrity. **Phytochemistry**, Oxford, v. 61, n. 3, p. 221-294, 2002.
- ARAÚJO, J.S.P.; GONÇALVES, K.S.; OLIVEIRA, B.C.; RIBEIRO, R.L.D.; POLIDORO, J.C. Efeito do acibenzolar-S-methyl sobre murcha-bacteriana do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 5-8, 2005.
- BAUSAL, O.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 52, n. 6, p. 747-753, 2003.
- BAYSAL, O.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis*. **Plant Pathology**, St. Paul, v. 52, n. 6, p. 747-753, 2003.
- BAYSAL, O.; ZELLER, W. Extract of *Hedera helix* induces resistance on apple rootstock M26 similar to Acibenzolar-S-methyl against Fire Blight (*Erwinia amylovora*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, United Kingdom, v. 65, p. 305-315, 2004.
- BENELLI, A.I.H.; DENARDIN, N.D.; FORCELINI, C.A. Ação do acibenzolar-S-metil aplicado em tubérculos e plantas de batata contra canela preta, incitada por *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum* atípica. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 29, n. 3, p. 263-267, 2004.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Washington, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, 1976.

BUONAURIO, R.; SCARPONI, L.; FERRARA, M.; SIDOTI, P.; BERTONA, A. Induction of systemic acquired resistance in pepper plants by acibenzolar-S-methyl against bacterial spot disease. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 108, p. 41-49, 2002.

CASSETARI NETO, D.; MACHADO, A.Q. Diagnose e controle de doenças do algodoeiro no Centro-Oeste e Nordeste. **Revista Agricultura Tropical**, Cuiabá, v. 5, n. 1, p. 7-34, 2001.

CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V.; OLIVEIRA, J.T.; SILVEIRA, J.A.; CARVALHO, C.P. An aqueous suspension of *Crinipellis pernicioso* mycelium activates tomato defence response against *Xanthomonas vesicatoria*. **Crop Protection**, Oxford, v. 26, n. 5, p. 729-738, 2007.

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

CIA, E.; FUZATTO, M.G.; KONDO, J.I.; GRIDI-PAPP, I.L.; CHIAVEGATO, E.J.; PIZZINATTO, M.A. Desenvolvimento de resistência múltipla a doenças em linhagens avançadas de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, p. 420-423, 2003.

COLSON-HANKS, E.S.; DEVERALL, B.J. Effect of 2,6-dichloroisonicotinic acid, its formulation materials and benzothiazole on systemic resistance to alternaria leaf spot in cotton. **Plant Pathology**, Oxford, v. 49, n. 3, p. 171-178, 2000.

DENCE, C.W.; LIN, S.Y. Introduction. In: LIN, S.Y.; DENCE, C.W. (Ed.). **Methods in lignin chemistry**, Berlin: Springer-Verlag, 1992. p. 1-19.

DOSTER, M. A.; BOSTOCK, R.M. Quantification of lignin formation in almond bark in response to wounding and infection by *Phytophthora* species. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n. 4, p. 473-477, Apr. 1988.

GENT, D.H.; SCHWARTZ, H.F. Management of *Xanthomonas* leaf blight of onion with a plant activator, biological control agents, and copper bactericides. **Plant Disease**, St. Paul, v. 89, p. 631-639, 2005.

HAMMERSCHMIDT, D.; KUC, J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 20, n. 1, p. 61-71, 1982.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; OLIVEIRA, D.L.; POZZA, E.A.; ZACARONI, A.B. Ação de acibenzolar-S-metil no controle da mancha angular do algodoeiro em condições de casa-de-vegetação. **Summa Phytopathologica**. No prelo.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; ZACARONI, A.B.; VILAS BOAS, C.H.; SOUZA, J.T. Rizobactérias no controle da mancha angular do algodoeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 1, p. 149-156, jan./fev. 2008.

KADO, C.I.; HESKETT, M.G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 60, n. 6, p. 969-976, 1970.

KESSMAN, H.T.; STAUB, T.; HOFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Saint Paul, v. 32, p. 439-459, 1994.

KILIC-EKICI, O.; YUEN, G.Y. Comparison of strains of *Lysobacter enzymogenes* and PGPR for induction of resistance against *Bipolaris sorokiniana* in tall fescue. **Biological Control**, San Diego, v. 30, n. 2, p. 446-455, 2004.

KOBAYASTI, L.; SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; CASTRO, R.M. Efeito *in vitro* do indutor de resistência acibenzolar-s-metil sobre bactérias patogênicas ao tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 293, 2001. Suplemento.

KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 2007. 140 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

KUHN, O.J.; PORTZ, R.L.; STANGARLIN, J.R.; ÁGUILA, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 13-20, 2006.

LOON, L.C. van; BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria **Annual Review Phytopathology**, Saint Paul, v. 36, p. 453-483, 1998.

LOON, L.C. van. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 103, n. 9, p. 753-765, 1997.

MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. **Annals of Botany**, London, v. 82, n. 5, p. 535-540, 1998.

MISAGHI, I.J. **Physiology and biochemistry of plant-pathogen interactions**. New York: Plenum, 1982. 304 p.

MOTOYAMA, M.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; FIORI, A.C.G.; SCAPIN, C.A. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 509-512, 2003.

NICHOLSON, R.L.; WOOD, K.V. Phytoalexins and secondary products, where are they and how can we measure them? **Physiological and Molecular Plant Pathology**, United Kingdom, v. 59, n. 2, p. 63-69, 2001.

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: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, cap. 22, p. 417-454.

PEREIRA, R.B. **Extrato de casca de café e óleo de tomilho no controle de *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke em cafeeiro**. 2006. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras MG.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; PEREIRA, R.B.; ZACARONI, A.B.; CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V. Lignificação induzida por extratos aquosos naturais e produtos comerciais em tomateiro infectado por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 261, 2004.

RIDE, J.P. Lignification in wounded wheat leaves in response to fungi and its possible role in resistance. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 5, n. 2, p. 125-128, 1975.

RODRIGUES, A.A.C.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R.S.B. Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 5, p. 492-499, 2006.

SALES JÚNIOR, R.; PONTES FILHO, F.S.T.; NUNES, G.H.S.; TORRES, G.R.C. Eficiência de acibenzolar-S-methyl e oxiclureto de cobre no controle de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, agente causal da “Mancha-Aquosa” no meloeiro. **Revista de Biologia e Ciência da Terra**, Paraíba, v. 7, n. 1, p. 66-71, 2007.

SHANER, G.; FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox Wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, 1977.

SIDHU, G.S.; WEBSTER, J.M. The use of aminoacid fungal auxotrophs to study the predisposition phenomena in the root-knot: wilt fungus disease complex. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 11, n. 2, p. 117-127, 1977.

SILVA, L.H.C.P.; RESENDE, M.L.V.; SOUZA, R.M.; CAMPOS, J.R.; CASTRO, A.M.S. Indução de resistência contra *Xanthomonas vesicatoria* em tomateiro por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 29, n. 2, p. 177-181, 2003.

SILVA, L.H.C.P. **Resistência sistêmica ativada pelo acibenzolar-S-metil contra doenças no tomateiro**. 2002. 89 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, R.F.; PASCHOLATI, S.F.; BEDENDO, I.P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 189-196, 2007.

SOYLU, S.; BAYSAL, O.; SOYLU, E.M. Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings. **Plant Science**, Amsterdam, v. 165, n. 5, p. 1069-1075, 2003.

SPANOS, G.A.; WROLSTAD, R.E. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, Washington, v. 38, n. 7, p. 1565-1571, July 1990.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. California: The Benjamin/Cummings, 1998. 559 p.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, H. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 13, n. 1, p. 43-50, 1991.

VAUTERIN, L.; HOSTE, B.; KERSTERS, K.; SWINGS, J. Reclassification of *Xanthomonas*. **International Journal Systematic Bacteriology**, v. 45, n. 3, p. 472-489, 1995.

WIRTH, S.J.; WOLF, G.A. Dye-labelled substrates for the assay and detection of chitinase and lysozyme activity. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 12, n. 3/4, p. 197-205, 1990.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adoção de métodos alternativos de controle de doenças com produtos menos tóxicos ao meio ambiente pode reduzir parte dos custos na lavoura além de ser, ao mesmo tempo, eficientes e menos agressivos à saúde dos consumidores e ao ambiente. Encontrar uma forma, o mais inócua possível, de ativar os mecanismos de defesa da planta promovendo sua própria proteção contra patógenos, em vez de saturá-la e intoxicá-la com defensivos, é uma estratégia politicamente correta.

Dentre as opções de manejo, incluindo tecnologias limpas, cita-se o uso de extratos vegetais possuidores de substâncias bioativas, capazes de atuar como indutores de resistência às doenças em plantas.

O grupo de pesquisa liderado pelo Prof. Mário Lúcio Vilela de Resende do departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, busca alternativas baseadas em diversas formulações à base de extratos aquosos, em diferentes patossistemas, com o objetivo de potencializar os efeitos de extratos com efeito comprovado, como o caso da formulação EFID. Esta mesma formulação obteve uma mudança avaliada, granulometria reduzida, em que partículas extremamente finas deram origem ao NEFID ou a novo EFID, para obter melhores resultados, menores custos e torná-la comercial. Outra ação desenvolvida foi promover a mistura de formulações à base de extratos com produtos comerciais, como o ASM, fertilizantes foliares e espalhantes adesivos, com vistas a obter produtos mais eficientes e ampliar seus efeitos em diferentes culturas.

Com a realização deste trabalho, demonstra-se que a nova formulação de EFID, NEFID, potencializou o efeito de quase todos os produtos testados, além de demonstrar efeito protetor contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*

do algodoeiro baseado no aumento das atividades de proteínas PR (peroxidase, quitinase e β -1,3-glucanases), além de aumento no teor de lignina.

Apesar dos resultados promissores, torna-se necessária a realização de novos experimentos, variando misturas, época de aplicação e doses, além de avaliar a produção em campo.