

MARINELVA CURTI

**SÍNTESE DE FITOALEXINAS EM SORGO E SOJA, CONTROLE DE
OÍDIO E PRODUÇÃO DE PEPINO, CV. HOKUSHIN, POR LEITE
FERMENTADO, MANANOLIGOSSACARÍDEO FOSFORILADO E KEFIR**

**MARINGÁ
ESTADO DO PARANÁ - BRASIL
FEVEREIRO – 2010**

MARINELVA CURTI

**SÍNTESE DE FITOALEXINAS EM SORGO E SOJA, CONTROLE DE
OÍDIO E PRODUÇÃO DE PEPINO, CV. HOKUSHIN, POR LEITE
FERMENTADO, MANANOLIGOSSACARÍDEO FOSFORILADO E KEFIR**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia, área de concentração em Proteção de Plantas, para obtenção do título de Doutor.

**MARINGÁ
ESTADO DO PARANÁ - BRASIL
FEVEREIRO – 2010**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

C978i Curti, Marinelva
Síntese de fitoalexinas em sorgo e soja, controle de oídio produção de pepino Cv. Hokushin por leite fermentado, mananoligossacarídeo fosforilado e Kefir / Marinelva Curti. -- Maringá, 2010.
78 f. : il. color.

Orientador : Prof^a. Dr^a. Kátia Regina Freitas Schwan.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração: Proteção de Plantas, 2010.

1. Pepino - Controle alternativo - Doenças. 2. Pepino - Grão de Kefir - Avaliação. 3. Pepino - Yakult - Avaliação. I. Schwan, Kátia Regina Freitas, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Área de concentração: Proteção de Plantas. III. Título.

CDD 21.ed. 635.63

MARINELVA CURTI

**SÍNTESE DE FITOALEXINAS EM SORGO E SOJA, CONTROLE DE
OÍDIO E PRODUÇÃO DE PEPINO, CV. HOKUSHIN, POR LEITE
FERMENTADO, MANANOLIGOSSACARÍDEO FOSFORILADO E KEFIR**

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia, área de concentração em Proteção de Plantas, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em: 2 de Fevereiro de 2010

Prof. Dr. Sergio P. Severo de Souza Diniz

Prof. Dr. Humberto Silva Santos

Prof. Dr. José Renato Stangarlin

Prof^a. Dr^a. Vivian Carré Missio

Prof^a. Dr^a. Kátia Regina Freitas Schwan

Estrada

(Orientadora)

A minha Mãe Aparecida C. Culti e aos meus irmãos Sula, Sara, Dida e Robinho,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus pelo dom da vida, pela coragem, força e disposição em realizar este trabalho;

As pessoas aqui citadas são aquelas que eu levarei comigo na memória, seja pela amizade, por atitudes em momentos decisivos, ou mesmo pelo abraço e mão amiga estendida em algum momento ao longo desses três anos que permaneci nesta instituição.

Aos meus irmãos Sula, Sara, Dida e Robinho Curti por estarem sempre presentes, mesmo quando distantes.

A Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Centro de Ciências Agrárias) pelo apoio recebido e afastamento total durante a pesquisa.

A Prof^a Dr^a Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada pela orientação e convivência em minha trajetória acadêmica na Universidade Estadual de Maringá e, principalmente, pela liberdade na relação de construção do conhecimento.

Ao Prof. Doutor José Renato Stangarlin pela interlocução e ajuda no desenvolvimento do tema de estudo desta tese.

Ao Programa de Pós-Graduação da Universidade Estadual de Maringá em particular a Sr^a Érika Cristina Takamizawa Sato pelo apoio recebido e clareza nas orientações técnico-administrativas.

Aos servidores Milton, Luiz e Bertoldo, agradeço por permitirem conhecer um pouco do seu cotidiano de trabalho dentro dos cultivos protegido e expectativas de futuro por meio da pesquisa que subsidiou esta tese.

Aos meus colegas do laboratório de Biotecnologia Claudia Fiori, Maria Balbi, Adriana Terumi, Tatiana e os estagiários Joaquim, Marcio e em especial a minha sobrinha Amanda, por terem me suportado no dia-a-dia no laboratório.

A servidora do laboratório de plantas medicinais pela contribuição e ajuda concedida na montagem do experimento de pós-colheita. Também aos demais membros da área de Fitopatologia (J57), Mauro, José Junior, Marilda pelo apoio recebido na obtenção dos dados secundários e amizade.

A acadêmica Renata Mesquini pelo apoio dado nas horas difíceis do trabalho, sobretudo no apoio dos testes estatísticos e pela sua grande amizade.

Ao Prof Dr. João Batista Vida, pelo coleguismo e compartilhamento das experiências em cultivo protegido e na cultura do pepino.

Aos amigos: Cleverson, Helder, Professor Wagner Nanni, Geovani, Ronaldo, Professor Davi, Edgar, Fernando, Professora Ângela, pela paciência em me ouvir falar sobre o meu trabalho durante nossos encontros.

Aos meus alunos e ex-alunos das disciplinas que ministro e ministrei na UNIOESTE, agradeço pelo apoio que me foi dado em sair para esta nova etapa de minha vida.

Ao Prof. Dr. Leonardo Mulinari e a sua equipe, pelo excelente trabalho feito na cirurgia, dando-me condições em terminar esta etapa e começar novas em minha vida!

A Sra. Neuza e seus funcionários, por me ajudar na logística do meu trabalho sempre pronta em meu traslado com seu taxi.

Ao meu amigo Zeca pelas valiosas conversas sempre nas horas certas, firmes e colocadas.

Ao meu colega “gordinho” que responde pelo nome de Julio Cesar, pela preciosa parceria, amizade, torcida, paciência, coleguismo e, sobretudo a grande e especial ajuda quando envolvia informática deste trabalho.

Ao meu pai Olivério Culti *in memoriam* que mesmo não estando mais presente entre nós, com certeza esteve e esta sempre ao meu lado e da minha família torcendo por nós.

A minha mãe Aparecida C. Culti, que não existem palavras para agradecer o que fez durante esta empreitada de minha vida, por ajudar, até mesmo no plantio das mudas de pepino até sua colheita, sempre vestida elegantemente e bem humorada.

A minha irmã Maria Nezilda (meu Guru), pelo incansável apoio e fiel torcida.

BIOGRAFIA

MARINELVA CURTI, filho de Olivério Culti, e Aparecida Colaute Culti, nascida em Apucarana, Estado do Paraná, aos 20 dias do mês de abril de 1959. Possui graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá (1992) e mestrado em Ciências Biológicas (Botânica aplicada) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho UNESP, Botucatu SP. (1998). Atualmente é professora assistente “D”, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Em agosto de 1999, ingressou como professora colaboradora, no departamento de Agronomia, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná UNIOESTE, PR. Em 2001, após concurso público, foi contratada como professora não titular, desta Instituição de Ensino, onde permanece executando as atividades pertinentes a carreira docente. Em março de 2006, afastou-se integralmente das atividades docentes do Departamento de Agronomia UNIOESTE, para cursar pós-graduação, em nível de doutorado na área de concentração Proteção de Plantas, na Universidade Estadual de Maringá.

ÍNDICE

RESUMO.....	VIII
ABSTRACT	X
CAPÍTULO 1	11
REVISÃO DE LITERATURA	11
1 A CULTURA DO PEPINO - DESCRIÇÃO BOTÂNICA.....	13
2 PRINCIPAIS DOENÇAS DA CULTURA DO PEPINO.....	13
3 MANEJO DE DOENÇAS.....	15
4 CONTROLE ALTERNATIVO DE DOENÇAS EM PLANTAS.....	16
4.1 Indução de resistência em plantas	18
4.2 Probióticos.....	19
4.2.1 Grãos de Kefir	20
4.2.2 Produto lácteo fermentado (Yakult®)	21
4.3 Indutores de resistência	22
4.3.1 Mananoligossacarídeo fosforilado (Agro-mos®)	23
4.3.2 Acibenzolar – S – Metil (Bion®)	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
CAPÍTULO 2	37
PRODUÇÃO DE GLICEOLINAS E DE DEOXIANTOCIANIDINAS PELA ATIVIDADE ELICITORA DE GRÃOS DE KEFIR E PRODUTO LÁCTEO FERMENTADO	37
RESUMO.....	37
ABSTRACT	38
1 INTRODUÇÃO	39
2 MATERIAL E MÉTODOS	41
2.1 Preparo do extrato bruto aquoso de grãos de Kefir.....	41
2.2 Preparo do extrato bruto aquoso a partir de produto lácteo fermentado	41
2.3 Curva de autoclavagem.....	41
2.4 Quantificação de proteínas totais	42
2.5 Bioensaios com mesocótilos de sorgo e cotilédones de soja.....	42
2.5.1 Produção de deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo	42
2.5.2 Produção de gliceolinas em cotilédones de soja.....	43
2.6 Dosagem de proteínas totais solúveis em plântulas de pepino	44
2.7 Análise estatística dos resultados	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
3.1 Curva de autoclavagem.....	47
3.2 Fitoalexinas gliceolina e deoxiantocianidina.....	48
3.3 Proteínas totais solúveis em folhas de pepino	50
4 CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
CAPÍTULO 3	57
USO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS (KEFIR, PRODUTO LÁCTEO FERMENTADO) E CONVENCIONAIS (MANANOLIGOSSACARÍDEO FOSFORILADO, ACIBENZOLAR-S-METIL) NO CONTROLE DE OÍDIO E PRODUÇÃO DE PEPINO EM CASA DE VEGETAÇÃO	57

RESUMO.....	57
ABSTRACT	58
1 INTRODUÇÃO	59
2 MATERIAL E MÉTODOS	61
2.1 Produção de plantas de pepino.....	61
2.2 Instalação de experimento em cultivo protegido	61
2.3 Avaliação da severidade e área abaixo da curva de progresso da doença ...	62
2.4 Colheita de frutos de pepino.....	62
2.5 Avaliações pós-colheita em frutos de pepino	63
2.6 Análise estatística dos resultados	63
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
3.1 Severidade e área abaixo da curva do progresso de <i>Sphaeroteca fuliginea</i> em plantas de pepino	64
3.2 Avaliações do comprimento, diâmetro e peso na colheita de frutos de pepino	65
3.2.1 Produção de frutos comerciais	67
3.2.2 Produção total frutos	69
3.2.3 Avaliações pós-colheita.....	70
CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
CONSIDERAÇÕES FINAIS	76

RESUMO

CURTI, Marinélva; D.Sc.; Universidade Estadual de Maringá – UEM; fevereiro de 2010. **SÍNTESE DE FITOALEXINAS EM SORGO E SOJA, CONTROLE DE OÍDIO E PRODUÇÃO DE PEPINO, CV. HOKUSHIN, POR LEITE FERMENTADO, MANANOLIGOSSACARÍDEO FOSFORILADO E KEFIR;** orientadora Prof^aDr^a Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada.

A demanda mundial por alimentos isentos de agrotóxicos tem impulsionado a pesquisa em busca de métodos alternativos de controle, quer seja de pragas e/ou doenças. Em muitos casos, o uso de produtos alternativos tem demonstrado capacidade de induzir mecanismos de defesa das plantas. O presente trabalho teve por objetivos avaliar a influência de dois produtos, denominados alternativos (grãos de Kefir e produto lácteo fermentado, submetidos à tratamento térmico) na indução de fitoalexinas, gliceolinas e deoxiantocianidinas, em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo, bem como, do potencial de suas aplicações e do uso de produtos convencionais (Mananoligossacarídeo fosforilado e Acibenzolar-S-Metil), em plantas de pepino, no controle de oídio e produção da cultura em condições de casa de vegetação e na manutenção de frutos em pós-colheita. Resultados indicam que ambos os produtos alternativos testados apresentaram capacidade elicitora, demonstrada pela produção de gliceolinas em cotilédones de soja e pela produção de deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo, semelhante ao encontrado para os produtos convencionais. De igual forma, dados apontam para uma maior síntese de proteínas solúveis totais, em folhas de primeiro e segundo estágio de plantas de pepino conduzidas em vasos submetidas ao tratamento com produtos alternativos, tendo um máximo de produção 48 horas após a aplicação. Resultados quanto à severidade de oídio, em pepino tratado com produtos alternativos e convencionais indicam para maior suscetibilidade à doença no tratamento com produto lácteo fermentado não diferindo da testemunha. Quanto à produção dos frutos pode-se inferir que os tratamentos com produtos alternativos não diferiram dos produtos convencionais, considerando o peso do fruto. Houveram, no entanto, diferenças em relação à qualidade dos frutos produzidos.

Resultados de pós-colheita indicam que não houve efeito significativo dos tratamentos em relação à perda de água pelos frutos. No entanto, o tratamento produto lácteo fermentado, aparentemente, proporcionou aos frutos melhor aspecto de conservação em pós-colheita.

Palavras-chave: gliceolinas, deoxiantocianidinas, grãos de Kefir, produto lácteo fermentado, Acibenzolar-S-metil.

ABSTRACT

CURTI, Marinelva; D.Sc.; Universidade Estadual de Maringá – UEM; February 2010; SYNTHESIS OF PHYTOALEXINS IN SORGHUM AND SOYBEAN, CONTROL OF POWDERY MILDEW AND IN YIELD OF CUCUMBER, cv. HOKUSHIN, BY FERMENTED MILK, KEFIR GRAINS AND MANNANOLIGOSACCHARIDE; advisor: Prof. Dr. Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada.

Demands of food free of pesticides have been improved the last years, in this context, alternative methods of pests and diseases control, are stimulated by many studies. The use of alternative products has demonstrated its ability to induce defense mechanisms of plants. Aim of this work were evaluate the influence of alternative products (Kefir grains and product of milk fermentation, both submitted to heat treatment) in the induction of phytoalexins, glyceollins and deoxyanthocyanidins, in soybean cotyledons and sorghum mesocotyls, as well as, verify the potential of its applications and use of conventional products (phosphorylated mannanoligosaccharide and acibenzolar-S-methyl) to control powdery mildew in cucumber plants and evaluate effects on crop yields. Results suggested that, both alternative products had ability to induce the production of phytoalexins, on soybean cotyledons and sorghum mesocotyl, like levels observed for conventional products. In the same way, soluble proteins levels in leaves of cucumber plants treated with alternative products indicated higher synthesis of proteins at 48 hours after application. Results for severity of powdery mildew on cucumber plants, treated with alternative and conventional products, suggesting, no control effects by product of milk fermentation. The ability of both alternative and conventional products, to increase cucumber fruit production, was not demonstrated in this work, perhaps differences in fruit quality. Post-harvest results suggest no significance between treatments, in relation to water loss. However, treatment with product of milk fermentation apparently provided the best aspect of fruits in post-harvest.

Key-words: glyceollins, deoxyanthocyanidins, Kefir grains, product of milk fermentation, acibenzolar-S-methyl.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

A agroecologia na atualidade sistematiza os esforços em produzir uma proposta de agricultura abrangente, que seja socialmente justa, economicamente viável e ecologicamente sustentável. Na visão agroecológica, a agricultura é vista como um sistema vivo e complexo, inserida na natureza rica em diversidade. Atualmente, a política agrícola requer produtos mais saudáveis e livres de agrotóxicos, pois, o uso indiscriminado dos mesmos tem ocasionado danos ao meio ambiente e à saúde humana, criando, assim, uma tendência à utilização de métodos alternativos de controle. Um dos enfoques da agricultura agroecológica é o controle alternativo de doenças, o qual inclui o controle biológico e a indução de resistência em plantas com o uso de produtos naturais que apresentem atividade antimicrobiana e/ou indutora de resistência (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003).

Toda planta na natureza se desenvolve sob constante ameaça de seus inimigos, sejam eles herbívoros ou patógenos. Todavia, as plantas não aceitam passivamente essa agressão, mas apresentam barreiras já existentes antes do ataque, que visam conter esta agressão. Estas barreiras são denominadas de defesas constitutivas e são representadas por estruturas, como ceras, cutícula, espessamento de parede celular, tricomas, adaptações em estômatos e fibras vasculares, bem como por substâncias químicas pré-formadas como fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas (PASCHOLATI; LEITE, 1995; AGRIOS, 2005). Por outro lado, há mecanismos de defesa que se manifestam somente quando a planta é desafiada por um agressor. Estes mecanismos envolvem a formação de papila, halos, lignificação, camada de cortiça, formação de tiloses e deposição de goma, além de compostos como fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP) e espécies reativas de oxigênio (PASCHOLATI; LEITE, 1995; CAVALCANTI et al., 2005).

No cultivo em ambiente protegido, adota-se, basicamente, o sistema convencional, com aplicação de defensivos agrícolas no controle de doenças.

Entretanto, o uso indiscriminado desses produtos acarreta o surgimento de isolados fitopatógenos, resistentes às substâncias químicas utilizadas, além do que, os resultados para a sociedade como um todo e para o meio ambiente podem se tornar negativos devido à poluição causada pelos resíduos. Em função disso, tem-se observado crescente procura por produtos alternativos que possam substituir e/ou reduzir o uso desses defensivos químicos para os cultivos orgânicos.

No Brasil, o cultivo de hortaliças em ambiente protegido passou a ser mais difundido e utilizado a partir de 1980 (LOPES et al., 2003). Dentre as plantas cultivadas, destaca-se o tomate (primeiro lugar em importância) e o pepino, como a segunda olerícola mais cultivada. No Paraná, parte da produção dessa olerícola concentra-se na região Norte do Estado, sendo o híbrido Hokushin um dos mais cultivados (VIDA et al., 2004).

Muitas são as doenças que ocorrem na cultura do pepino, dentre elas destaca-se a ocorrência de oídio (*Oidium* spp), doença encontrada com frequência em condição de cultivo protegido. Nestas condições de cultivo, o controle da doença é realizado principalmente através do uso de variedades resistentes e pela aplicação de fungicidas. A aplicação de fungicidas, no entanto, não é permitido no sistema agroecológico; assim, a aplicação de produtos naturais com propriedades antimicrobianas e indutoras de resistência como extratos vegetais, óleos essenciais, extratos de cogumelos, algas, entre outros, tem sido foco de estudo para avaliar a eficiência dos mesmos no controle de fitopatógenos.

O presente trabalho teve por objetivos: a) avaliar a influência dos produtos alternativos (grãos de Kefir e produto lácteo fermentado), em induzir a produção fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo; b) verificar o potencial de suas aplicações e do uso de produtos convencionais (mananoligossacarídeo fosforilado e acibenzolar-S-metil), em plantas de pepino, no controle de oídio e produção da cultura, em condições de casa de vegetação e na manutenção de frutos em pós-colheita.

1 A CULTURA DO PEPINO - DESCRIÇÃO BOTÂNICA

O pepino (*Cucumis sativus* L.) pertence à família Cucurbitaceae, sendo uma planta herbácea, anual, com sistema radicular aprumado e denso. Os caules podem ter crescimento prostrante ou trepador, devido à presença de gavinhas não ramificadas. Tem consistência herbácea, com cor verde claro a verde médio e tem forma angulosa (VIDAL, 2000).

As folhas de pepino são simples, pentagonais, ou mais raramente, trilobadas de nervação palminérvia e de inserção alternada. A maioria das cultivares é monóica ou ginóica. As flores masculinas se formam em grupos de três a cinco flores no mesmo nó, enquanto as flores femininas encontram-se solitárias no nó. A floração inicia-se sem depender do fotoperíodo. Dependendo da cultivar e dos fatores edafoclimáticos, a época da floração pode iniciar aos 25 dias após a germinação, e durar entre 90 e 180 dias (SONNENBERG, 1985). A corola é constituída por cinco pétalas de cor amarela soldadas na base. As sépalas encontram-se parcialmente soldadas (JOLY, 1991).

O fruto é carnoso, tipo peponídio, contendo 95% de água; é rico em β -caroteno, folacina, cálcio, magnésio, potássio, fósforo e selênio carnosos. É longo, com casca verde escura, com estrias e manchas escuras, polpa de cor clara e sabor suave, com sementes achatadas. A temperatura ideal para a germinação das sementes de pepino é de 25 a 30°C. A planta é sensível ao transplante o qual deve ser realizado com a raiz protegida, quando a planta apresenta de três a quatro folhas verdadeiras (JOLY, 1991).

O pepineiro é uma olerícola de grande importância em todo o mundo, sendo boa fonte de fibras e vitamina C. Apresenta diversas variações, entre as inúmeras cultivares, quanto a tamanho, formato, coloração dos frutos, sabor e características vegetativas. Seu cultivo é indicado em regiões de clima que variam de ameno a quente e em solos profundos, férteis e bem drenados (FILGUEIRA, 200).

2 PRINCIPAIS DOENÇAS DA CULTURA DO PEPINO

A pressão de seleção dos patógenos pode afetar a cultura do pepino e, com os anos, limitar o plantio. As pragas e as doenças reduzem a produção e a qualidade do produto ou causam perdas durante a comercialização. Sob

condições favoráveis de ambiente e, dependendo do agente etiológico envolvido, pode ocorrer destruição total da cultura (BETTIOL et al., 1999).

Das principais doenças que afetam a cultura do pepino, pode-se citar o oídio (*Sphaeroteca fuliginea*) e as antracnoses (*Colletotrichum gloesporioides* f. sp *cucurbitae*, *Colletotrichum orbiculare*, *Colletotrichum lagenarium*).

O oídio do pepino como também o da abóbora, causado pelo fungo *Oidium spp.* é uma das principais doenças dessas culturas e de outras cucurbitáceas, principalmente em cultivo protegido. A doença ocorre em toda a parte aérea da planta, sendo mais abundante na superfície foliar (Figura 1). Os sintomas iniciam-se com um crescimento branco pulverulento, formado por micélio, conidióforos e conídios do fungo, ocupando pequenas áreas do tecido. A área afetada aumenta de tamanho e pode tomar toda a extensão do tecido devido à coalescência das manchas. Plantas atacadas perdem o vigor, e a produção é prejudicada (KUROZAWA; PAVAN, 1997; BETTIOL et al., 1999).



Figura 1. Folha de pepino apresentando crescimento de micélio (*Oidium spp.*) em estágio inicial da doença (Fonte: COLELLA, 2007).

Outras doenças que também podem ocorrer são o míldio (*Pseudoperonospora cubensis*) cujos sintomas se iniciam como áreas de tecido encharcado que se tornam necróticas e limitadas pelas nervuras, formando manchas angulares e a mancha zonada (*Leandria momordicae*). A mancha zonada é considerada, em algumas regiões, umas das doenças mais frequentes na cultura do pepino em ambientes protegidos. No início, os pontos são

pequenos, posteriormente, as lesões crescem e coalescem tornando-se esbranquiçadas e quebradiças (KUROZAWA; PAVAN, 1997)

3 MANEJO DE DOENÇAS

O manejo de doenças refere-se a um conjunto de regras (idealmente baseadas em considerações econômicas, sociais e ambientais) que orientam a tomada de decisão, com o objetivo de manter a população do patógeno em questão, abaixo de um limiar predeterminado (BERGAMIN FILHO; KIMATI; AMORIN, 1995).

O aparecimento e desenvolvimento de uma doença são resultantes da presença de uma planta suscetível, da existência de um agente patogênico a esta planta e da ocorrência de fatores ambientais favoráveis à doença. O ambiente, portanto, é um componente relevante nesta interação, podendo determinar a ausência de doença mesmo no caso de hospedeiro e patógeno compartilharem as mesmas condições de meio. Fatores associados ao clima (umidade, temperatura, luz e vento), solo (nutrientes e pH) e cultivo (transplante, poda e pesticidas), podem ser responsáveis pela pré-disposição de plantas ao ataque de patógenos; como consequência, o desenvolvimento vegetativo e produtivo destas plantas é prejudicado, mesmo que o potencial genético para estes caracteres seja elevado (BERGAMIN FILHO; KIMATI; AMORIN, 1995).

O cultivo em ambiente protegido vem se constituindo, cada vez mais, como importante técnica agrícola permitindo através da mesma, aumentos de produção das culturas, uma vez que se esgotaram as tentativas convencionais de se obter incrementos face ao elevado emprego de técnicas modernas de cultivo (ARAÚJO; CASTELLANE, 2005). Neste contexto, o cultivo protegido exerce importante papel na produção de pepino partenocárpico, garantindo condições que favorecem o seu cultivo (SERRANO, 1977).

Além do controle do ambiente em que é produzida determinada cultura, a colheita exerce grande importância na manutenção quantitativa e qualitativa do produto final (CHITARRA, 1990; GOMES, 1996).

Sabe-se que perdas pós-colheita são advindas inicialmente do processo de colheita e etapas subsequentes que vão desde o transporte até

armazenamento e consumo do produto (HONÓRIO; MORETTI, 2002). Sendo para tanto, indispensável o gerenciamento da cadeia produtiva, enfatizando aspectos que interferem na qualidade do produto (CENCI, 2006). Outro fator que pode influenciar a redução nas perdas é o uso de cultivares melhoradas, com bom comportamento em pós-colheita (CABRERA et al., 1992).

As perdas pós-colheita, provocadas por microrganismos, decorrem em função da contaminação do produto no momento da colheita (frutos doentes, ferimentos), no processo de amadurecimento, manutenção inadequada ou ataque de insetos (LANA, 1998).

A restrição ao uso de fungicidas em pós-colheita tem crescido nos últimos anos, fato este que leva à procura de métodos alternativos de controle de doenças. Porém, a área de patologia pós-colheita no Brasil, precisa se expandir, buscando informações e novas tecnologias que venham contribuir para minimizar perdas e agregar valores aos produtos, aumentando a competitividade (BENATO, 1999). Neste contexto, a indução de resistência sistêmica para o tratamento de frutas pode representar um método eficaz no controle de doenças pós-colheita (DANTAS et al., 2004), possibilitando a restrição do crescimento do fitopatógeno e a supressão ou redução dos sintomas da doença (GUZZO et al., 2004).

4 CONTROLE ALTERNATIVO DE DOENÇAS EM PLANTAS

O controle de doenças de plantas é o mais importante objetivo prático da Fitopatologia. Sem controle, doenças de plantas podem causar enormes prejuízos, de conseqüências sociais, muitas vezes, catastróficas. Inserido no contexto da agricultura moderna, o controle de doenças em hortaliças não pode ser abordado isoladamente, mas integrado aos outros fatores que compõem a equação da produção como o clima, a espécie, a variedade e/ou cultivar e os tratos culturais, incluindo principalmente os de importância fitossanitária.

O controle químico é o método mais empregado na redução dos danos provocados por doenças em plantas cultivadas. Apesar de seu uso racional ter benefícios em curto prazo, apresenta problemas como seleção de patógenos resistentes e efeitos negativos ao meio ambiente (BRIGNANI NETO, 1993; GHINI, 1993; AGRIOS, 2005).

O controle alternativo de pragas e doenças é aquele que inclui o controle biológico, a indução de resistência em plantas (MORAES, 1992) e o uso de

extratos naturais com propriedades antimicrobianas e/ou indutores de resistência (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003).

O controle alternativo de doenças de plantas tem sido estudado visando atender, principalmente, a produtores que utilizam o sistema agroecológico (sistema orgânico) de cultivo. Neste sentido, o uso de produtos alimentares e aditivos como lecitina de soja, glutamatos, leite fermentado por espécies *Lactobacillus*, bicarbonato de sódio, ácido tartárico, ácido fumárico, polifosfato de sódio e éster de açúcar vem sendo estudados como alternativa viável para o controle de doenças de plantas, em condições de campo (BETTIOL; ASTIARRAGA, 1998; BETTIOL et al., 1999; BETTIOL, 2004).

De igual forma, a ativação das defesas das plantas por outros compostos vem demonstrando bons resultados no controle de fitopatógenos, como é o caso de:

- a) extratos de plantas (DAAYF et al., 1995; SINGH; PRITHIVIRAJ, 1997; KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS; SCHMITT, 1998; STANGARLIN, et al., 1999; BETTIOL; STADNIK, 2001; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN, 2005);
- b) preparações de cogumelos (DI PIERO et al., 2005; BALDO et al., 2006; DI PIERO et al., 2006), leveduras (STANGARLIN; PASCHOLATI, 1994; PASCHOLATI, 1998; STADNIK; BETTIOL, 2000) e fungos promotores de crescimento (MADI; KATAN, 1998),
- c) exopolissacarídeos bacterianos (BACH et al., 2003; CASTRO; BACH, 2004) e rizobactérias promotoras de crescimento (KEHLENBECK; SCHÖNBECK, 1995; ONGENA et al., 1999; MURPHY et al., 2000; NANDAKUMAR et al., 2001; VIDHYASEKARAN et al., 2001; VISWANATHAN; SAMIYAPPAN, 2002);
- d) raças não virulentas do patógeno (SMEDEGAARD-PETERSEN; STØLEN, 1981; SHIRAISHI et al., 1995; MONOT et al., 2002), além do próprio patógeno inativado pelo calor (BACH et al., 2003); e
- e) elicitores químicos ou físicos, como silício (Si) (CHÉRIF et al., 1994), ácido salicílico (AS) (HWANG et al., 1997; MANANDHAR et al., 1998; BESSER et al., 2000; CIPOLLINI, 2002), ácido D-L-aminobutírico (BABA) (HWANG et al., 1997; COHEN et al., 1991; ZIMMERLI et al., 2000), quitosana (SATHIYABAMA; BALASUBRAMANIAN, 1998), cloreto férrico, fosfato de potássio dibásico (MANANDHAR et al., 1998; BÉCOT et al., 2000), acibenzolar-S-metil (ASM) (DANN et al., 1998; KATZ et al., 1998; COLE, 1999; GODARD et al., 1999;

BESSER et al., 2000; HEIL et al., 2000; LATUNDE-DADA ; LUCAS, 2001; LOUWS et al., 2001; COOLS ; ISHII, 2002; GEETHA ; SHETTY, 2002; SOARES ; MARINGONI, 2002; BOKSHI ET AL., 2003; IRITI ; FAORO, 2003; DIETRICH et al., 2004; DIETRICH et al., 2005), ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA) (DANN et al., 1998; BESSER et al., 2000), fosfato de potássio monobásico (REUVENI et al., 2000), ácido jasmônico (AJ) (BALDWIN, 1998; REDMAN et al., 2001; CIPOLLINI, 2002), metil jasmonato (MeJa)(HEIJARI et al 2005, VAN DAM; BALDWIN, 2001), sacarina (BOYLE; WALTRERS, 2005a, b), ácidos graxos (COHEN et al., 1991; COQUOZ et al., 1995) ou luz em comprimentos de onda específicos (KHANAM et al., 2005).

4.1 Indução de resistência em plantas

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existente nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (HAMMERSCHMIDT; DANN, 1997), sem que haja qualquer alteração no genoma da planta (STADNIK, 2000). Os mecanismos de resistência induzidos são classificados em estruturais (papila, lignificação e tilose) e bioquímicos (fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese - PRP) (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Os agentes indutores capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de resistência nas plantas são chamados de eliciadores ou elicitores (SMITH, 1996), podendo apresentar natureza química variada, demonstrando a não existência de característica estrutural única na determinação da atividade elicitora (STANGARLIN et al., 1999).

A resistência induzida consiste na ativação não específica, de genes envolvidos em diversas respostas de defesa, tais como explosões oxidativas (LAMB; DIXON, 1997), respostas de hipersensibilidade (ZIMMERLI et al., 2000), acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese - PRP como peroxidases, quitinases e β -1,3-glucanases (SCHNEIDER; ULLRICH, 1994; DANN et al., 1996; STADNIK; BUCHENAUER, 2000; BACH et al., 2003), síntese de inibidores de proteinases (ZAVALA et al., 2004), enzimas envolvidas na rota dos fenilpropanóides (SCHNEIDER; ULLRICH, 1994; STADNIK; BUCHENAUER, 2000; KOHLER et al., 2002; CAMPOS et al., 2003; WEN et al., 2005), e enzimas

envolvidas na peroxidação de lipídios (BUZI et al., 2004), síntese de fitoalexinas (SALES et al., 2002; LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001), acúmulo de compostos fenólicos (STADNIK; BUCHENAUER, 2000; HAMMERSCHMIDT, 2005 a, b), aumentos na atividade de β -1,3-glucana sintase e conseqüente aumento na formação de calose (SCHMELE; KAUSS, 1990; ZIMMERLI et al., 2000), formação de papila (STADNIK; BUCHENAUER, 2000), bem como o acúmulo de lignina em tecidos próximos ao local de penetração do microrganismo (HAMMERSCHMIDT; KUC, 1982; COHEN et al., 1991; BONALDO et al., 2005).

A resistência induzida é também dependente do intervalo de tempo entre o tratamento com o elicitor e a subseqüente inoculação do patógeno (PASCHOLATI; LEITE, 1995). A indução de resistência é capaz de proteger a planta contra infecções subseqüentes por diferentes patógenos (KUC, 1995), mostrando-se uma estratégia potencial para o controle de doenças em plantas (LYON et al., 1995; SCHNEIDER et al., 1996).

4.2 Probióticos

Desde o início do século passado é conhecido o efeito benéfico de determinados microrganismos sobre a integridade da mucosa do tubo digestivo, principalmente em animais de sangue quente (ITO et al., 2004). Metchnikoff (1907) descreveu o uso de produtos lácteos fermentados que melhoravam a longevidade dos camponeses búlgaros que os consumiam, mais tarde, constatou-se que esse efeito benéfico era devido à presença de *Lactobacillus bulgaricus*. Neste sentido o uso de probióticos na alimentação animal, tem demonstrado seus efeitos benéficos a mais de 50 anos sobre a saúde intestinal de animais, o que também levou a uma identificação e caracterização dos microrganismos envolvidos (ITO et al., 2004).

Os benefícios do uso de probióticos na alimentação animal envolvem principalmente mecanismos que reduzem ou excluem o crescimento de um agente patogênico qualquer. Rolfe (1991) descreve quatro mecanismos básicos envolvidos no desenvolvimento de um microambiente favorecido por microrganismos: a) criação de uma microecologia que seja hostil aos organismos patogênicos; b) eliminação de receptores específicos de patógenos; b) produção

e secreção de metabólitos antimicrobianos (bacteriocinas) e d) competição por nutrientes essenciais.

De semelhante forma ao que probióticos representam, quanto ao equilíbrio e ativação de defesas em animais, assim também, os mesmos podem evitar e/ou favorecer a redução no desenvolvimento de doenças de plantas. Carecem, no entanto, estudos detalhados sobre os reais mecanismos que probióticos podem exercer em plantas, mesmo antes do ataque de um determinado fitopatógeno, até o pleno desenvolvimento da doença.

4.2.1 Grãos de Kefir

O Kefir, palavra que deriva do turco, podendo ser traduzida como “bom sentimento” ou “sentir-se bem”, é um complemento alimentar e probiótico com valores e empregos terapêuticos, de relevante abrangência que vão além de mero uso na alimentação básica. De acordo com Athanasiades et al. (2002), os grãos de Kefir são constituídos de uma microbiota variada, tendo como principais constituintes bactérias do gênero *Lactobacillus* e leveduras (*Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Candida* e *Pichia*). Estes microrganismos, em meio líquido (água ou leite), formam aglomerados com aparência de “grãos” que variam de tamanho (3 a 7 mm), de textura plástica, opaca, ligeiramente transparente, apresentando coloração branca ou amarelada (Figura 2).

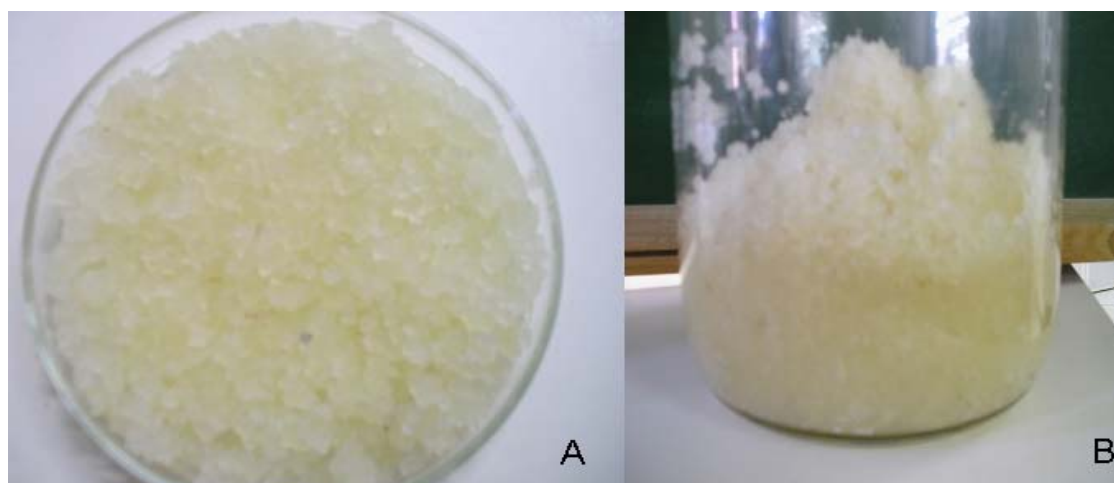


Figura 2. Grãos de Kefir (A): Grãos (3 a 7 mm) em placa de Petri; (B): Grãos mostrando uma textura plástica, opaca, ligeiramente transparente, que pode ser de coloração esbranquiçada (Fonte: autora).

Os grãos de Kefir podem ser cultivados em água, tendo como fonte de energia o açúcar mascavo. Saraiva (2006) estudando o processo fermentativo usando grãos de Kefir e caldo de cana-de-açúcar como substrato, obteve resultados que indicam a viabilidade do uso dos mesmos, na produção de etanol.

No que diz respeito ao controle de doenças de plantas, Mesquini et al. (2007) constataram o potencial de grãos de Kefir autoclavados sequencialmente, em induzir a produção de fitoalexinas em soja e de inibir a germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. De igual forma, Campos (2008) demonstrou o efeito positivo do tratamento de frutos de morango com grãos de Kefir na manutenção de características físico-químicas e microbiológicas na conservação em pós-colheita dos frutos.

4.2.2 Produto lácteo fermentado (Yakult®)

Bactérias acidificantes do leite pertencem à família *Lactobacillaceae*. Dentre os representantes estão espécies do gênero *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* e *Streptococcus* (SCHLEIFER, 1987). Bactérias desta família são gram negativas, não tem a habilidade de usar a catalase, sendo a maioria imóvel e poucas apresentam a formação de esporos (ROOS et al., 1999). Estas bactérias sobrevivem em temperaturas entre 30 até 45 °C, tendo melhor desenvolvimento entre 20 e 30 °C e valores ótimos de pH entre 3,5 e 5,4 (SCHRÖDER; BAUMANN, 1991). Possuem, além disso, a capacidade de se multiplicar em locais onde são encontradas altas concentração de carboidratos, de produtos da hidrólise de proteínas e vitaminas, bem como, em condições de baixa pressão de O₂ (SHARPE; PETTIPHER, 1983).

Espécies de *Lactobacillus* possuem a habilidade de se multiplicar sobre a superfície de plantas e são encontradas nestes locais com frequência (MUNDT, 1970). O número de células bacterianas encontradas na planta é relativamente baixo variando entre 10 a 1000 células por grama de tecido, este número, no entanto, se eleva com o grau de maturidade da planta. Na superfície de folhas, de modo geral, o número de bactérias acidificantes do leite são em menor número, assim como em flores e frutos (DAESCHEL et al., 1987). Em locais onde exudatos da planta são liberados, principalmente em fermentos que resultam da

colheita, estas bactérias encontram condições ideais para o desenvolvimento e multiplicação (MUNDT; HAMMER, 1968).

A capacidade de produzir lactato em grandes quantidades, bem como, a tolerância a situações de acidez, permitem que bactérias acidificantes do leite tenham uma capacidade de, em situações ideais, se desenvolver rapidamente, sendo por este motivo, também facilmente isoladas e multiplicadas em meios seletivos. Isolados deste tipo de bactérias são encontrados naturalmente em leite ácido e produtos derivados, bem como, em massas, conservas, silagens ou em locais que apresentam características semelhantes (HAMMES, 1990; EHRMANN, 1994).

Bactérias do gênero *Lactobacillus* de acordo com a espécie, podem ser divididas em dois grupos (homofermentativas e heterofermentativas), tendo por base sua capacidade de transformar a glicose em lactato ou em outros produtos resultantes da fermentação e CO₂ (SCHLEGEL, 1992). Uma primeira divisão taxonômica para estes grupos foi adotada por ORLA JENSEN (1919).

Na agricultura, Bettioli e Astiarraga (1998) utilizando produto lácteo fermentado (produto lácteo obtido da fermentação do leite por *Lactobacillus* - Yakult[®], Yakult[®] S. A. Ind. E Com.) e resíduo proveniente da fermentação glutâmica de melaço de cana-de-açúcar no controle de *Oidium spp* em abobrinha, demonstraram a eficácia destes produtos no controle da doença. Da mesma forma Bettioli et al. (2004) observaram que aplicações de leite em diferentes concentrações, em plantas que apresentavam a ocorrência de *Oidium spp*, surtiam efeito de controle na doença.

4.3 Indutores de resistência

Embora a maioria dos trabalhos enfoque a ativação de resistência por agentes bióticos – microrganismos benéficos à planta, utilizados experimentalmente e para fins práticos, culminando com o controle biológico de enfermidades – essa indução de resistência pode e tem sido conseguida pela exposição de plantas a certos produtos químicos sintéticos. Esses ativadores químicos de defesa de plantas, entendidos e visualizados como indutores de Resistência Sistêmica Adquirida (SAR) e Resistência Sistêmica Induzida (ISR), começam, inclusive, a se constituírem uma nova classe de pesticidas (MORAES,

1992). Estes, tem sido chamados de “fungicidas de quarta geração”, por terem um modo de atuação completamente diferente dos pesticidas até agora desenvolvidos, posto que não atuam diretamente sobre patógenos, mas ativam mecanismos de defesa das plantas tornando-as mais resistentes (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Atualmente existem no mercado poucos produtos que atuam como indutores de resistência, sendo exemplos destes o Mananoligossacarídeo fosforilado (Agro-mos[®]) composto derivado da parede celular de leveduras e, o Acibenzolar – S – Metil (Bion[®]), molécula análoga do ácido salicílico.

4.3.1 Mananoligossacarídeo fosforilado (Agro-mos[®])

O Agro-Mos[®] é produto comercial à base de mananoligossacarídeo fosforilado, derivado da parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (Hansen) (Improcrop (Subsidiária da Alltech) Brasil, Curitiba-PR) (DANTAS et al., 2004).

É um produto composto de sólidos solúveis de fermentação que confere efeito fitotônico às plantas. Segundo o fabricante, o Agro-Mos[®] ativa os mecanismos latentes de resistência natural; apresenta caráter sistêmico, com diferentes mecanismos de ação; é persistente por longo período de tempo; melhora a qualidade e aumenta a produtividade das colheitas, e é recomendado nas culturas de: alho, batata, cebola, citros, mamão, manga, melão, melancia, tomate, pimentão, uva, pêssigo, pepino (DANTAS et al., 2004).

Estudos atuais demonstram o emprego de indutores provenientes de *S. cerevisiae* em condições de campo. Dantas et al. (2004) observaram que o uso de mananoligossacarídeo fosforilado, mostrou-se eficiente no controle da antracnose em mamão, quando o tratamento indutor foi realizado em pré-colheita e pós-colheita. Di Piero et al. (2005) demonstraram eficiência desse produto no controle de doenças de videira, batata e tomate. Labanca (2002), trabalhando com células de *S. cerevisiae*, cita como provável que a resistência induzida em plantas tratadas com este fungo, esteja ligada à presença de determinados carboidratos e glicoproteínas em sua parede celular. Roveratti (1989), trabalhando com células vivas ou autoclavadas de *S. cerevisiae*, demonstrou a ocorrência da proteção de plantas de café com um ano de idade somente quando as preparações de *S.*

cerevisiae eram aplicadas, antes ou simultaneamente, com *Hemileia vastatrix*. Segundo a autora, a proteção, aparentemente, era devida a dois mecanismos distintos; um mecanismo que promovia a diminuição do número de uredinósporos na superfície da folha e outro que inibia a germinação dos mesmos, provavelmente, por antibiose. Bonaldo (2005) verificou que *S. cerevisiae* apresenta potencial na proteção de plântulas de pepino a *Colletotrichum lagenarium* e na proteção de plantas de sorgo contra *C. sublineolum* pelo acúmulo de fitoalexinas em folhas e em mesocótilos de sorgo.

4.3.2 Acibenzolar-S-metil (Bion®)

O benzotriazol acibenzolar-S-metil (ASM) é um composto sintético considerado um ativador químico da resistência de plantas a doenças. Apesar de ser considerado um produto tipicamente indutor de resistência, alguns trabalhos têm indicado a atividade antimicrobiana de ASM. Osswald et al. (2004) verificaram atividade antifúngica de ASM contra *Colletotrichum sublineolum*. Em estudo com *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* em trigo, o ASM mostrou efeito significativo na inibição da taxa de penetração do fungo e na formação de haustórios primário e secundário, entretanto, a taxa de germinação e formação de apressórios não foi alterada (GÖRLACH et al., 1996).

Na planta, o ASM após a aplicação é prontamente absorvido e translocado, gerando um sinal sistêmico que desencadeia a expressão de genes de defesa da planta. A ação elicitora de ASM tem sido observada em diversas interações patógeno-hospedeiro como oídio em trigo (GÖRLACH et al., 1996); míldio em fumo (FRIEDRICH et al., 1996); míldio em *Arabidopsis* (LAWTON et al., 1996); ferrugem do feijão-vagem (SIGRIEST et al., 1997); ferrugem do cafeeiro (GUZZO et al., 2001); oídio, mancha de septória e mancha bacteriana em tomateiro (SILVA et al., 2003); cancro do caule em melão rendilhado (RIZZO et al., 2003); requeima em batata (TÖFOLI et al., 2005) entre outras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G. N. Plant pathology. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922 p.
- ARAÚJO, J.A.C.; CASTELLANE, P.D. **Recentes avanços da pesquisa agrônômica na plasticultura brasileira.** In: ARAUJO, J.A.C.; CASTELLANE, P.D. (Eds.) Dez anos de Plasticultura na F.C.A.V. Jaboticabal. FUNEP. p.67-68, 2005.
- ATHANASIADES, I.; BOSKOU, D.; KANELAKI, M.; KIOSSEOGLOU, V. E KOUTINAS, A. A. Whey liquid waste of dairy industry as raw material for potable alcohol production by Kefir granules. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 50, p.7231-7234. 2002.
- BACH, E.E.; BARROS, B.C.; KIMATI, H. Induced resistance against *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* in wheat leaves by xantham gum and heat-inactivated conidial suspension. **Journal of Phytopathology**. v. 151, p. 411-418. 2003.
- BAILEY J.A. Biological perspectives of host-pathogen interactions. In: BAILEY, J.A.; DEVERALL, B.J. (Eds.) **The Dynamics of Host Defence**. Sydney: Academic Press, p.1-32, 1983.
- BALDO, M.; STANGARLIN, J.R.; ASSI, L.; IURKIV, L.; ECKSTEIN, B.; FRANZENER, G.; RÖDER, C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de *Colletotrichum lindemuthianum* no feijoeiro pelo extrato do cogumelo *Pycnoporus sanguineus*. **Fitopatologia Brasileira**. v.31, n.(supl.), p.311. 2006.
- BALDWIN, I.T. Jasmonate-induced responses are costly but benefit plant under attack in native population. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. v. 95, p. 8113-8118. 1998.
- BÉCOT, S.; PAJOT, E.; LE CORRRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Fitogard® (K₂HPO₃) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**. v. 19, p. 417-425. 2000.
- BENATO, A.R. Controle de doenças pós-colheita em frutas tropicais. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.25, p.90-93. 1999.
- BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. Manual de fitopatologia: Princípios e conceitos. 3rd ed., vol. 1, Agrônômica Ceres, São Paulo, 919p.
- BESSER, K.; JAROSH, B.; LANGEN, G.; KOGEL, K.H. Analysis of gene induced in barley after chemical activation reveals distinct disease resistance pathways. **Molecular Plant Pathology**. v. 1, p. 277-286. 2000.

BETTIOL, W. **Leite de vaca cru para o controle de oídio**. Jaguariúna: (ISSN. **Comunicado técnico**. 14) abril, p. 03, 2004.

BETTIOL, W., ASTIARRAGA, B. D. Controle de *Sphaerotheca fuliginia* em abobrinha com resíduo da fermentação glutâmica do melão e produto lácteo fermentado. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.23, n. 4, p.431-435. 1998.

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B.D.; LUIZ, A.J.B. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Oidium* spp.) in greenhouse conditions. **Crop Protection**, v. 18, n. 8, p. 489-492. 1999.

BETTIOL, W.; STADNIK, M.J. Controle alternativo. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. (Ed.) **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 165-192, 2001.

BOKSHI, A.I.; MORRIS, S.C.; DEVERALL, B.J. Effects of benzotriazole and acetylsalicylic acid on β -1,3-glucanase activity and disease resistance in potato. **Plant Pathology**. v. 52, p. 22-27. 2003.

BONALDO, S. M., PASCHOLATI, S. F., ROMEIRO, R. S. Indução de Resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTE, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p.11-28, 2005.

BOYLE, C.; WALTERS, D. Induction of systemic protection against powdery mildew in barley: Effect on plant growth and development. **New Phytologist**. v. 167, p. 607-612. 2005a.

BOYLE, C.; WALTERS, D.R. Sacharin-induced protection against powdery mildew in barley: Effect on plant growth and phenylpropanoid metabolism. **Plant Pathology**. v. 54, p. 1-10. 2005b.

BRIGNANI NETO, F. Manejo integrado visando o controle de patógenos da parte aérea. **Fitopatologia Brasileira**, v. 18, supl. p. 262-263. 1993.

BUZI, A.; CHILOSI, G.; DE SILLO, D.; MAGRO, P. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatment with salicylic acid. **Journal of Phytopathology**. v. 152, p. 34-42. 2004.

CAMPOS, A.D.; FERREIRA, A.G.; HAMPE, M.M.V.; ANTUNES, I.F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E.P.; SILVA, J.B.; OSÓRIO, V.A. Induction of chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase by salicylic acid and *Colletotrichum lindemuthianum* in common bean. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 15, p. 129-134. 2003.

CAMPOS, R. P., **Revestimentos biodegradáveis na conservação de morango orgânico "camarosa" armazenado sob refrigeração**. Maringá, p. 90. 2008.

CASTRO, O.L.; BACH, E.E. Increased production of β -1,3-glucanase and protein in *Bipolaris sorokiniana* pathosystem treated using commercial xanthan gum. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 42, p. 165-169. 2004.

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

CENCI, S. A. **Boas Práticas de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças na Agricultura Familiar**. In: Fenelon do Nascimento Neto. (Org.). **Recomendações Básicas para a Aplicação das Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação na Agricultura Familiar**. 1a ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p. 67-80, 2006.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* sp. **Phytopathology**. v.84, n.3, p.236-242. 1994.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: ESAL/FAEPE, p.320, 1990.

CIPOLLINI, D.F. Does competition magnify the fitness costs of induced responses in *Arabidopsis thaliana*? A manipulative approach. **Oecologia**. v. 131, p. 514-520. 2002.

COHEN, Y.; GISI, U.; MÖSINGER, E. Systemic resistance of potato plants against *Phytophthora infestans* induced by unsaturated fatty acids. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 38, p. 255-263. 1991.

COLE, D.L. The efficacy of acibenzolar-S-methyl, an inducer of systemic acquired resistance, against bacterial and fungal diseases of tobacco. **Crop Protection**. v.18, p.267-273. 1999.

COLELLA, J.C.T.; VIDA, J.B.; TESSMANN, D.J. **Doenças das cucurbitáceas: Um guia para a diagnose**. Maringá, 2009, p.34. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Maringá.

COOLS, H.J.; ISHII, H. Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes a phenylalanine ammonia lyase gene (PAL1) for enhanced expression upon attack with a pathogenic fungus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 61, p. 273-282. 2002.

COQUOZ, J.L.; BUCHALA, A.J.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J.-P. Arachidonic acid treatment of potato plants induces local synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*. **Phytopathology**. v. 85, p. 1219-1224. 1995.

DAAYF, F.; SCHMITT, A.; BÉLANGER, R.R. The effect of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. **Plant Disease**. v. 79, p. 577-580. 1995.

DAESCHEL, M. A.; ANDERSON, R. E.; FLEMING, H. P. Microbial ecology of fermenting plant materials. **FEMS Microbiol.** v. 46, p. 357-367. 1987.

DANN, E.; DIERS, B.; BYRUM, J.; HAMMERSCHMIDT, R. Effect of treating soybean with 2,6-dicloroisonicotinic acid (INA) and benzothiadiazole (BTH) on seed yields and the level of disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in field and greenhouse studies. **European Journal of Plant Pathology**. v. 104, p. 271-278. 1998.

DANN, E.K.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J.-P.; DEVERALL, B.J. The effect of pathogen inoculation or chemical treatment on activities of chitinase and β -1,3-glucanase and accumulation of salicylic acid in leaves of green bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 49, p. 307-319. 1996.

DANTAS, S.A.F.; TAVARES, S.C.C. de H.; OLIVEIRA, S.M.A.; COELHO, R.S.B.; CAVALCANTI, V.A.L B.; SILVA, R.L.X. Indutores de resistência a patógenos Pós-colheita de manga. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, p. 314-319, 2004.

DI PIERO, R.M.; GARCIA Jr.,D.; TONUCCI, N.M. Indutores bióticos. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p.29-50, 2005.

DI PIERO, R.M.; WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Partial purification of elicitors from *Lentinula edodes* basidiocarps protecting cucumber seedlings against *Colletotrichum lagenarium*. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.37, p.175-180. 2006.

DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Constitutive and induced resistance to pathogens in *Arabidopsis thaliana* depends on nitrogen supply. **Plant Cell and Environment**. v. 27, p. 896-906. 2004.

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

EHRMANN, M. Klassifizierung und Identifizierung von Milchsäurebakterien mit Hilfe molekularbiologischer Methoden. **Dissertation Technische Universität München**. 1994.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura**: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV, 402p, 2000.

FRIEDRICH, L.; LAWTON, K.; RUESS, W.; MASNER, P.; SPECKER, N.; RELLA, M.; GUT, M.; MEIER, B.; INCHER, S.; STAUB, T.; UKNES, S.; METRAUX, J.P.; KESSMANN, H.; RYALS, J.A. Benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Journal**. v.10, n.1, p.61-70. 1996.

GEETHA, H.M.; SHETTY, H.S. Induction of resistance in pearl millet against downy mildew disease caused by *Sclerospora graminicola* using benzothiadiazole, calcium chloride and hydrogen peroxide – a comparative evaluation. **Crop Protection**. v. 21, p. 601-610. 2002.

GHINI, R. Solarização associada à matéria orgânica proporciona o controle de fitopatógenos. **INFOBIBOS, Informações Tecnológicas**. p. 899-905. 1993.

GODARD, J-F.; ZIADI, S.; MONOT, C.; LE CORRE, D.; SILUÉ, D. Benzothiadiazole (BTH) induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var *botrytis*) to downy mildew of crucifers caused by *Peronospora parasitica*. **Crop Protection**. v. 18, p. 397-405. 1999.

GOMES, M.S.O. **Conservação pós-colheita: frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa, 130p, 1996.

GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.G.; OOTENDORP, M.; STAUB, T.; WARDE, E.; KESSMANN, J.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease in wheat. **Plant Cell**. v. 8, n.3, p. 629-643. 1996.

GUZZO, S.D.; CASTRO, R.M.; KIDA, K.; MARTINS, E.M.F. Ação protetora de acibenzolar_S-methyl em plantas de cafeeiro contra ferrugem. **Arquivos do Instituto Biológico**. v. 68, n.1, p. 89-94. 2001.

GUZZO, S.D.; HAKAKAVA, R.; LUNCON, C.M.M.; TSAI, S.M. Resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e indução local e sistêmica de quitinase e β -1-3-glucanase por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**. v. 30, p. 376-381. 2004.

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

HAMMERSCHMIDT, R. Phenols and plant-pathogens interaction: the saga continues. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 66, p. 77-78. 2005a.

HAMMERSCHMIDT, R. Silicon and plant defense: the evidence continue to mount. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 66, p. 117-118. 2005b.

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

HAMMES, W.; BANTLEON, A.; MIN, S. Lactic acid bacteria in meat fermentation. **FEMS Microbiol. Rev.** v. 87, p. 165-174. 1990

HEIJARI, J.; NERG, A.M.; KAINULAINEN, P.; VIIRI, H.; VOURINEN, M.; HOLOPAINEN, J.K. Application of methyl jasmonate reduces growth but increases chemical defence and resistance against *Hylobius arietis* in Scots pine seedlings. **Entomologia experimentalis et Applicata.** v. 115, p. 117-124. 2005.

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

HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C.L. Fisiologia pós-colheita de frutos e hortaliças. In: CORTEZ, L.A.B.; HONÓRIO, S. L.; MORETTI, C. L. (ED), **Resfriamento de frutos e hortaliças.** Brasília. EMBRAPA, p.59-81, 2002 (informações tecnológicas).

HWANG, B.K.; SUNWOO, J.Y.; KIM, Y.J; KIM, B.S. Accumulation of β -1,3-glucanase and chitinase isoforms, and salicylic acid in the DL- β -amino-n-butyric acid-induced resistance of pepper stems to *Phytophthora capsici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology.** v.51, p.305-322. 1997.

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

ITO, N.M.K.; MIAJI, C.I.; LIMA, A.E.; OKABAHASHI, S. Saúde gastrointestinal, manejo e medidas para controlar as enfermidades gastrointestinais. In: Produção de frangos de corte, 2004, Campinas. Anais...Campinas: FACTA, p.206-260. 2004.

JOLY, A.B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. 10 ed. São Paulo: Editora Nacional, 1991. v.4, 777p.

KATZ, V.A.; THULKE, O.U.; CONRATH, U. A benzothiadiazole primes parsley cells for augmented elicitation of defense responses. **Plant Physiology.** v. 117, p. 1333-1339. 1998.

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

KHANANM, N.N.; KIHARA, J.; HONDA, Y.; TSUKAMOTO, T.; ARASE, S. Studies on red light-induced resistance of broad bean to *Botrytis cinerea*: I. Possible production of suppressor and elicitor by germinating spores of pathogen. **Journal of General Plant Pathogen.** v. 71, p. 285-288. 2005.

KOHLER, A.; SCHWINDLING, S.; CONRATH, U. Benzothiadiazole-induced priming for potentiated responses to pathogen infection, wounding, and infiltration of water into leaves requires the NPR1/NIM1 gene in *Arabidopsis*. **Plant Pathology**. v. 128, p. 1046-1056. 2002.

KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS, S.; SCHMITT, A. Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* Nakai on intensity of powdery mildew severity and yield in cucumber under high disease pressure. **Crop Protection**. v.17, n.8, p.649-656. 1998.

KUC, J. Systemic induced resistance. In WALTERS, D. R., SHOLES, J. D.; BRYSON, R. J.; PAUL, N. D. E McROBERTS, N. (Ed). **Aspects of Applied Biology 42: Physiological Responses of Plants to Pathogens**. Dundee: Association of Applied Biologists. p. 235-242, 1995.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças das cucurbitáceas. (abóbora, abobrinha, chuchu, melancia, melão, moranga, pepino). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, O.A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1997. v.2, p.325-337.

LABANCA, E.R.G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*)**. Piracicaba, 2002. 118 p. Dissertação (Mestrado) – Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

LAMB, C.; DIXON, R.A. The oxidative burst in plant disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 4, p. 251-275. 1997.

LANA, M.M. **Manipulação e comercialização de hortaliças**. Brasília: Embrapa, 42 p., 1998.

LATUNDE-DADA, A.O.; LUCAS, J.A. The plant defense activator acibenzolar-S-methyl primes cowpea (*Vigna unguiculata* (L.)Walp) seedlings for rapid induction of resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 58, p. 199-208. 2001.

LAWTON, K.A.; FRIEDRICH, L.; HUNT, M.; WEYMAN, K.; DELANEY, T.; KESSMANN, H.; STAUB, T.; RYALS, J. Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. **Plant Journal**. v. 10, n.1, p. 71-82. 1996.

LOPES, M.C.; MATIAS F.; JALMIR D. M.; GÄRTNER M.; NOGAROLLI A.; Acúmulo de nutrientes por cultivares de alface em cultivo hidropônico no inverno. **Hortic. Bras**. V. 21, n. 2. 2003.

LOUWS, F.J.; WILSON, M.; CAMPBELL, H.L.; CUPPELS, D.A.; JONES, J.B.; SHOEMACKER, P.B.; SAHIN, F.; MILLER, S.A. Field control of bacterial spot and

bacterial speck of tomato using a plant activator. **Plant Disease**. v. 85, p. 481-488. 2001.

LYON, G. D.; REGLINSKI, T.; NEWTON, A.C. Novel disease control compounds: the potential to "immunize" plants against infectio.**Plant Pathology**. v. 44, p. 407-427. 1995.

MADI, L.; KATAN, J. *Penicillium janczewskii* and its metabolites, applied to leaves, elicit systemic acquired resistance to stem rot caused by *Rhizoctonia solani*. **Physiology and Molecular Plant Pathology**. v. 53, p. 163-175. 1998.

MANANDHAR, H.K.; JØRGENSEN, H.J.L.; MATHUR, S.B.; SEDEGAARD-PETERSEN, V. Resistance to rice blast induced by ferric chloride, di-potassium hydrogen phosphate and salicylic acid. **Crop Protection**. v. 17, p. 323-329. 1998.

MESQUINI, R. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; NASCIMENTO, J.F.; BALBI-PEÑA, M. I.; BONALDO, S. M., Efeitos de produtos naturais na indução de fitoalexinas em cotilédones de soja e na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Rev. Brasileira de Agroecologia**. v. 2, n. 2, p. 1091-1094. 2007.

METCHNIKOFF, I. The prolongation of life. London: Heinemann. 1907. 158p.
MONOT, C.; PAJOT, E.; LE CORRE, D. SILUÉ, D. Induction of systemic resistance in broccoli (*Brassica oleracea* var *botrytis*) against downy mildew (*Peronospora parasitica*) by avirulent isolates. **Biological Control**. v. 24, p. 75-81, 2002.

MORAES, W. B. **O. Controle alternativo de fitopatógenos**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.27, 1992, p.175-190.

MUNDT, J. O. und HAMMER, J. L. Lactobacilli on plants. **Applied Microbiology**. v. 16, p. 1326-1330. 1968.

MUNDT, J. O. Lactic acid bacteria associated with raw plant food material, Presented at a seminar on spoilage bacteria, indicator organisms, and pathogens in raw plant foods at the 70th Annual Meeting of the American Society for Microbiology, Boston, Massachusetts, April 26 - May 1, p. 550-553. 1970.

MURPHY J.F.; ZEHNDER, G.W.; SCHUSTER, D.J.; SIKORA, E.J.; POLSTON, J.E.; KLOPPER, J.W. Plant growth-promoting rhizobacterial mediated protection in tomato against *Tomato mottle virus*. **Plant Disease**. v. 84, n. 7, p. 779-784. 2000.

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

ONGENA, M.; DAAYF, F.; JACQUES, P.; THONART, P.; BENHAMOU, N.; PAULITZ, T.C.; CORNÉLIS, P.; KOEDAM, N.; BÉLANGER, R.R. Protection of

cucumber against *Pythium* root rot by fluorescent pseudomonads: predominant role of induce resistance over siderophores and antibiosis. **Plant Pathology**. v. 48, p. 66-76. 1999.

ORLA-JENSEN, S. **The Lactic Acid Bacteria**. Copenhagen, Host & Son. 1919.

OSSWALD, W.F.; STANGARLIN, J.R.; NICHOLSON, R.L.; BRUMMER, M.; WULFF, N.A.; DI PIERO, R.M.; PICCININ, E.; DI CIERO, L.; HOTO, F.V.; PASCHOLATI, S.F. The effect of Acibenzolar-S-methyl on phytoalexins and PR-protein induction on sorghum mesocotyls and on *Colletotrichum sublineolum*. **Summa Phytopathologica**. v. 30, n.4, p. 415-420. 2004.

PASCHOLATI, S.F. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos**. Piracicaba, 1998. 123 p. Tese (Livre-Docência) Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, v. 1, p. 193-217, 1995.

REDMAN, A.M.; CIPOLLINI JÚNIOR, D.F.; SCHULTZ, J.C. Fitness costs of jasmonic acid-induced defense in tomato, *Lycopersicon esculentum*. **Oecologia**. v. 126, p.380-385. 2001.

REUVENI, R.; DOR, G.; RAVIN, M.; REUVENI, M.; TUZUN, S. Systemic resistance against *Sphaeroteca fuliginea* in cucumber plants exposed to phosphate in hydroponics system, and its control by foliar spray of monopotassium phosphate. **Crop Protection**. v. 19, p. 355-361. 2000.

RIZZO, A.A.N.; FERREIRA, M.R.; BRAZ, L.T. Ação de acybenzolar-S-methyl (ASM) isolado e em combinação com fungicidas no controle do cancro da caule em melão rendilhado. **Horticultura Brasileira**. v. 21, n. 2, p. 238-240. 2003.

ROLFE, R.D. Population dynamics of intestinal tract. In: BLANKENSHIP, L.C. (Ed.) **Colonization control of human bacterial enteropatogens in Poultry**. San Diego: Academic Press, p.59-75, 1991.

ROOS, S. und JONSSON, H. (1999): The adhesion of *Lactobacillus reuteri* to mucus is mediated by a very large, repetitive cell surface protein. Doktorsexamen, Department of Microbiology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.

ROVERATTI, D. S. **Proteção de plantas de café contra *Hemileia vastratix* Berk. Et Br. Por *Sacharomyces cerevisiae***. Piracicaba, 1989. 94 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo.

SALLES, I.I.; BLOUNT, J.W.; DIXON, R.A.; SCHUBERT, K. Phytoalexin induction and β -1,3-glucanase activities in *Colletotrichum trifolii* infected leaves of alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 61, p. 89-101. 2002.

SARAIVA, D. A.; RODRIGUES S. Fermentação alcoólica de caldo de cana utilizando grãos de Kefir. **Revista Ciência Agronômica**, v. 37, n.3, p. 386-390. 2006.

SATHIYABAMA, M.; BALASUBRAMANIAN, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**. v. 17, n. 4, p. 307-313. 1998.

SCHRÖDER, H und BAUMANN, G. **Mikrobiologie: Ein Studienbuch für Lehrer**. 1. Aufl. Berlin, Volk u. Wissen. 320p., 1991.

SCHLEGEL, H. G. **Allgemeine Mikrobiologie**. 7. Aufl., Thieme Verl., Stuttgart; New York 634 p., 1992.

SCHLEIFER, K. H.: Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. **FEMS Microbiol. Rev.** v. 46, p. 201-203. 1987.

SCHMELE, I.; KAUSS, H. Enhanced activity of the plasma membrane localized callose synthase in cucumber leaves with induced resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 37, p. 221-228. 1990.

SCHNEIDER, M; SCHWEIZER, P.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance in plants. **International Review of Cytology**. v.168, p.303-340. 1996.

SCHNEIDER, S.; ULLRICH, W.R. Differential induction of resistance and enhanced enzyme activity in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 45, p. 219-304. 1994.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ,. p.125-138, 2005.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**. v.28 (suplemento), p. 554-556. 2003.

SERRANO, Z. C. **Cultivo de plantas hortícolas em estufa**. Barcelona: Biblioteca agrícola Litexa, p. 368. 1977.

SHARPE, M. E. und PETTIPHER, G. L. Food spoilage by lactic acid bacteria. **Food Microbiol**. Academic Press, London, p. 199-223. 1983.

SMEDEGAARD-PETERSEN, V.; STØLEN, O. Effect of energy-requiring defense reactions on yield and grain quality in a powdery mildew-resistant barley cultivar. **Phytopathology**. v. 71, n. 4, p. 396-399. 1981.

SILVA, L.H.C.P.; RESENDE, M.L.V.; SOUZA, R.M.; CAMPOS, J.R. Efeito do indutor de resistência acibenzolar-S-methyl na proteção contra *Xanthomonas vesicatoria*, *Oidium lycopersici* e *Septoria lycopersici* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**. v. 29, n. 3, p. 244-248. 2003.

SIGRIEST, J.; GLENEWINCKEL, D.; KOLLE, C.; SCHMIDTKE, M. Chemically induced resistance in green bean against bacterial and fungal pathogens. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**. v. 104, n. 4, p. 599-610. 1997.

SING, U.P.; PRITHIVIRAJ, B. Nemazal, a product of neem (*Azadirachta indica*), induces resistance in pea (*Pisum sativum*) against *Erysiphe pisi*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 51, p. 181-194. 1997.

SHIRAISHI, T.; YAMADA, T.; NICHOLSON, R.L.; KUNOH, H. Phenylalanine ammonia-lyase in barley: activity enhancement in response to *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* (raça 1) a pathogen, and *Erysiphe pisi*, a nonpathogen. **Physiological and Molecular Plant pathology**. v. 46, p. 153-162. 1995.

SMITH, C.J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**. v. 132, p. 1-45. 1996.

SOARES, R.M.; MARINGONI, A.C. Efeito de acibenzolar-S-metil sobre a germinação e desempenho de sementes de feijoeiro e na indução de resistência à murcha-de-curtobacterium. **Summa Phytopathologica**. v. 28, p. 41-45. 2002.

SONNENBERG, P. E. **Olericultura especial**. 3. ed. Goiânia: UFG, 1985.

STADNIK, M.J. Indução de resistência a oídios. **Summa Phytopathologica**. v. 26, p. 175-177. 2000.

STADNIK, M.J.; BETTIOL, W. Controle biológico de oídios. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Controle Biológico**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, v.2, p.95-116, 2000.

STADNIK, M.J.; BUCHENAUER, H. Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v. 57, p. 25-34. 2000.

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

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E. S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência ; Desenvolvimento**. Brasília, v.2, n.11. p.16-21. 1999.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R. J.; FERREIRA, M.R.; GARCIA JUNIOR, O. Ação de acybenzolar-S-methyl isolado e em mistura com fungicidas no controle da queima da batata. **Horticultura Brasileira**. v. 23, n. 3, p. 749-753. 2005.

VAN DAM, N.M.; BALDWIN, I.T. Competition mediates costs of jasmonate-induced defences, nitrogen acquisition and transgenerational plasticity in *Nicotiana attenuata*. **Functional Ecology**. v. 15, p. 406-415. 2001.

VIDA JB; ZAMBOLIM L; TESSMANN DJ; BRANDÃO FILHO JUT; VERZIGNASSI JR; CAIXETA MP. 2004. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**. v. 29, p. 355-372. 2004.

VIDAL, W. N., **BOTÂNICA – organografia; quadros sinóticos ilustrados de fanerógamos** / Waldomiro Nunes Vidal, Maria Rosária Rodrigues Vidal. – 3 ed. 6. reimp. – Viçosa: UFV, 114 p. 2000.

VIDHYASEKARAN, P.; KAMALA, N.; RAMANATHAN, A.; RAJAPPAN, K.; PARANIDHARAN, V.; VELAZHAHAN, R. Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* Pf1 against *Xanthomonas oryzae* in rice leaves. **Phytoparasitica**. v. 29, n. 2, p. 155-167. 2001.

VISWANATHAN, R.; SAMIYAPPAN, R. Induced systemic resistance by fluorescent pseudomonads against red rot disease of sugarcane caused by *Colletotrichum falcatum*. **Crop Protection**. v. 21, n. 1-10. 2002.

WEN, P.F.; CHEN, J.Y.; KONG, W.F.; PAN, Q.H; WAN, S.B.; HUANG, W.D. Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. **Plant Science**. v. 169, p. 928-934. 2005.

ZAVALA, J.A.; PAANKAR, A.G.; GASE, K.; BALDWIN, I.T. Constitutive e inducible trypsin proteinase inhibitor production incurs large fitness costs in *Nicotiana attenuate*. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. v. 101, p. 1607-1612. 2004.

ZIMMERLI, L.; JAKAB, G.; MÉTRAUX, J.-P.; MAUCH-MANI, B. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in *Arabidopsis* by β -aminobutyric acid. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. v. 97, p. 12912-12925. 2000.

CAPÍTULO 2

PRODUÇÃO DE GLICEOLINAS E DE DEOXIANTOCIANIDINAS PELA ATIVIDADE ELICITORA DE GRÃOS DE KEFIR E PRODUTO LÁCTEO FERMENTADO

RESUMO

O uso de produtos alternativos tem demonstrado capacidade de induzir mecanismos de defesa das plantas, contra diferentes fitopatógenos. O presente trabalho teve por objetivos avaliar a influência de dois produtos denominados alternativos (grãos de Kefir e produto lácteo fermentado, submetidos à tratamento térmico), em induzir a produção fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo e, avaliar a produção de proteínas solúveis totais em folhas de plantas de pepino após a aplicação de produtos alternativos e produtos convencionais (Mananoligossacarídeo fosforilado e Acibenzolar-S-Metil). Resultados indicam que ambos os produtos alternativos testados apresentaram capacidade elicitora, demonstrada pela produção de gliceolinas em cotilédones de soja e, pela produção de deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo. Dados referentes à síntese de proteínas solúveis totais, em folhas de pepino, indicam para um máximo de síntese no período de 48 horas após a aplicação dos produtos alternativos, o que não foi observado quando da aplicação de acibenzolar-S-metil, o qual manteve a concentração proteica em níveis mais baixos. Neste contexto, apesar dos ensaios indicarem efeito dos produtos alternativos, na indução de fitoalexinas, bem como, da maior síntese proteica observada em folhas de pepino quando submetidas ao tratamento, maiores estudos devem ser conduzidos, no sentido de avaliar a viabilidade do uso destes produtos, no controle de doenças de plantas.

Palavras-chave: grãos de Kefir, Mananoligossacarídeo fosforilado, Acibenzolar-S- metil.

ABSTRACT

Glyceollins and deoxyanthocyanidins induction after treatment with Kefir grains and product of milk fermentation

The use of alternative products has demonstrated, in many studies, its potential to induce plant defense mechanisms against a range of pathogens. This study aimed to evaluate the influence of alternative products (Kefir grains and product of milk fermentation, both submitted to heat treatment) in the induction of phytoalexins, glyceollins and deoxyanthocyanidins, on soybean cotyledons and sorghum mesocotyls, as well as, evaluate the production of total soluble proteins in leaves of cucumber plants submitted to treatment with alternative products and conventional products (phosphorylated mannanoligosaccharide and acibenzolar-S-methyl). Results suggesting that both alternative products have ability to induce the production of phytoalexins, on soybean cotyledons and sorghum mesocotyl, like levels observed for conventional products. In the same way, soluble proteins levels in leaves of cucumber plants treated with alternative products indicate higher synthesis of proteins at 48 hours after application, which was not observed after treatment with acibenzolar-S-methyl. In this case, the treatment induced a maintenance of protein concentration at lower levels. In this context, although the essays indicated an effect of alternative products in the induction of phytoalexins, as well as, increase of protein synthesis, more studies should be conducted to assess the viability of the use these products in the control of plant diseases.

Key-words: Kefir grains, phosphorylated mannanoligosaccharide, acibenzolar-S-methyl.

1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos mais saudáveis, isentos de resíduos tóxicos, vem sendo enfatizada nos últimos anos e, com isso, vários trabalhos foram realizados com métodos de controle alternativos de fitopatógenos (JANISIEWICZ, 1996; FRANCO; BETTIOL, 2000; CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003).

A indução de resistência em plantas contra patógenos com a utilização de eliciadores ou elicitors é relatada em diferentes culturas (LOPEZ, 1991; PICCINI, 1995; SATHIYABAMA; BALASUBRAMANIAN, 1998; HEIL; BOSTOCK, 2002; TERRY; JOYCE, 2004) e pode ser conceituada como um mecanismo de defesa induzida por agentes bióticos ou abióticos que confere proteção à planta a um amplo espectro de microorganismos (DURRANT; DONG, 2004).

Além da ação fungitóxica, substâncias de origem biótica e abiótica podem estimular a indução de fitoalexinas (BONALDO et al., 2005). O termo fitoalexina surgiu na Alemanha em 1940 (phyton= planta alexin= composto que repele). São metabólitos secundários de baixo peso molecular, antimicrobianos, produzidos pela planta e que se acumulam nas células vegetais em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos (PAXTON, 1981). A primeira fitoalexina caracterizada quimicamente foi a pisatina, isolada de plantas de ervilha (*Pisum sativum*), sendo que desde sua descoberta, inúmeras outras fitoalexinas foram obtidas de plantas cultivadas como feijão, soja, ervilha, batata, tomate, alface, algodão, arroz, cevada, banana, entre outras (BRAGA, 2007).

O modo de ação das fitoalexinas sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas, refletindo na inibição da germinação e na alongação do tubo germinativo e na redução ou na inibição do crescimento micelial. As fitoalexinas possuem grande diversidade, sendo que mais de 300 tipos já foram caracterizados entre diferentes classes de compostos químicos, como cumarinas, diterpenos, flavonóides, luteolinidina, apigenidina e apigeninidina (CAVALCANTI et al., 2005).

Em soja, a fitoalexina gliceolina (pterocarpanóide) mostra-se importante na interação dessa leguminosa com fitopatógenos, sendo que a utilização de

cotilédones de soja mostrou-se como excelente ferramenta para estudos envolvendo ação elicitora de moléculas de origem biótica e abiótica em vários estudos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000; FRANZENER et al., 2007; MESQUINI et al., 2007).

Em sorgo, são conhecidas quatro deoxiantocianidinas (flavonóides), sendo elas, a apigenidina, a luteolinidina, a 5-metoxiluteolinidina e o éster do ácido cafeico com arabinosil 5-O-apigenidina, as quais, usadas como indicadores da ação elicitora de diferentes moléculas (NICHOLSON et al; 1987) e, com capacidade de interferir no desenvolvimento de determinados patógenos (SNYDER; NICHOLSON, 1990).

Apesar de mais de 300 fitoalexinas já terem sido isoladas, menos de 1% dos vegetais superiores foi analisado quanto à capacidade de produzir essas substâncias, sendo em sua maioria espécies cultivadas pelo homem. Assim, o estudo e a síntese de fitoalexinas, especialmente em espécies nativas, abrem enormes perspectivas para descoberta de novos produtos naturais com atividade antimicrobiana e cujas estruturas podem servir como modelo para a síntese química de defensivos agrícolas naturais (BRAGA, 2007).

Este trabalho teve por objetivos: a) avaliar a influência de dois produtos, denominados alternativos (grãos de Kefir e produto lácteo fermentado), em induzir a produção fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo; e b) avaliar a produção de proteínas solúveis totais em plantas de pepino após a aplicação de produtos alternativos e produtos convencionais (mananoligossacarídeo fosforilado e acibenzolar-S-metil).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparo do extrato bruto aquoso de grãos de Kefir

Os grãos de Kefir utilizados neste trabalho foram cedidos pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e mantidos no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade Estadual de Maringá.

Os grãos de Kefir foram mantidos em solução aquosa de açúcar mascavo e incubados em temperatura ambiente. O extrato aquoso a 20% consistiu em 200 g de grãos de Kefir em 800 mL de água destilada esterilizada e, posteriormente, liquidificada. A mistura foi autoclavada, conforme item 2.3.

2.2 Preparo do extrato bruto aquoso a partir de produto lácteo fermentado

O produto lácteo, obtido da fermentação do leite por *Lactobacillus* (produto comercial Yakult®), utilizado neste trabalho, foi doado pela Yakult® S.A. Ind. e Com.

O extrato bruto aquoso consistiu de 200 mL de leite fermentado, dissolvidos em 800 mL de água destilada esterilizada. A suspensão foi autoclavada por 10 minutos.

2.3 Curva de autoclavagem

O extrato bruto de grãos de Kefir obtido, conforme metodologia descrita no item 2.1, foi submetido à autoclavagem a 121°C a 1 atm, sequencialmente por 10, 20, 30, 40, 50, 60 minutos. O procedimento baseou-se em: autoclavar por 10 minutos e retirar para resfriamento; após esse período, levar novamente à autoclavagem, por mais 20 minutos. Esse procedimento foi repetido, submetendo a suspensão de Kefir a mais 30, 40, 50 e 60 minutos de autoclavagem.

O preparo do extrato do leite fermentado, obtido conforme metodologia descrita no item 2.2, foi autoclavado a 121°C a 1 atm, por 10 minutos.

Após a autoclavagem, em cada tempo, foi realizada a dosagem de proteínas totais pelo método de Bradford (item 2.4).

2.4 Quantificação de proteínas totais

A quantificação de proteínas totais presentes no extrato foi determinada utilizando-se o método de Bradford (1976). Em cada 0,8 mL de amostra, foram adicionados, sob agitação, 0,2 mL de reagente concentrado de Bradford. Após 5 min de incubação à temperatura ambiente, realizou-se a leitura de absorvância a 595 nm. Como referência, foram utilizados 0,8 mL de água destilada e 0,2 mL de reagente concentrado de Bradford. A concentração de proteínas de cada amostra foi expressa em microgramas de albumina de soro bovino (ASB) por mililitro da amostra ($\mu\text{g mL}^{-1}$), a qual foi determinada mediante curva padrão de concentrações de ASB, variando de 0 a 20 μg de proteína mL^{-1} .

2.5 Bioensaios com mesocótilos de sorgo e cotilédones de soja

2.5.1 Produção de deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo

Sementes de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] foram desinfetadas em hipoclorito de sódio 1% (15 minutos), lavadas em água destilada e embebidas em água sob temperatura ambiente por 12 horas. Após esse período, foram enroladas em folhas de papel de germinação, umedecidas e incubadas no escuro a 28 °C por quatro dias. As plântulas estioladas foram, inicialmente, expostas à luz por quatro horas para paralisar a alongação dos mesocótilos (NICHOLSON et al., 1987). Para o teste de produção de fitoalexinas, os mesocótilos foram excisados 0,5 cm acima do nó escutelar e colocados em pequenos tubos de ensaio (3 mesocótilos/tubo) como demonstrado na Figura 1, contendo uma alíquota de 1 mL dos tratamentos (STANGARLIN et al., 1999). Os tratamentos foram extrato bruto de grãos de Kefir (20% (m/v)) e extrato bruto do produto lácteo fermentado a 20% os quais autoclavados sequencialmente por 10, 20, 30, 40, 50, e 60 minutos, além do tratamento controle (água estéril).

Os tubos foram mantidos em câmara úmida, a 25 °C sob luz fluorescente, por um período de 60 horas (WULFF, 1999). Após esse período, os mesocótilos foram retirados dos tubos, secos e os 5 mm basais dos mesocótilos excisados e

descartados. A porção superior (2,5 cm) foi pesada, cortada em pequenos segmentos e colocada em tubo para microcentrífuga, contendo 1,4 mL de metanol 80% acidificado (0,1% HCL; v/v). Os mesocótilos foram mantidos a 4 °C em metanol por 96 horas para extração dos pigmentos. A absorbância foi determinada a 480 nm (NICHOLSON et al., 1987).

2.5.2 Produção de gliceolinas em cotilédones de soja

Sementes de soja (*Glycine max* L.) foram semeadas em areia esterelizada e mantidas em casa de vegetação. Após um período de 9 a 10 dias, os cotilédones foram destacados das plântulas, lavados em água destilada, e cortados em secção aproximada de 1 mm de espessura e 6 mm de diâmetro, a partir da superfície inferior (AYERS et al., 1976). Cinco cotilédones foram colocados em placa de Petri, contendo papel de filtro umedecido com água destilada estéril. Cada cotilédone recebeu 75 µL dos tratamentos com extrato bruto de grãos de Kefir e produto lácteo fermentado sem autoclavar e autoclavados sequencialmente por 10, 20, 30, 40, 50, e 60 minutos, além do tratamento controle (água estéril). As placas de petri foram mantidas no escuro a 25 °C. Após 20 horas, as gliceolinas foram extraídas utilizando-se 15 mL de água destilada esterelizada. A absorbância foi determinada a 285 nm.

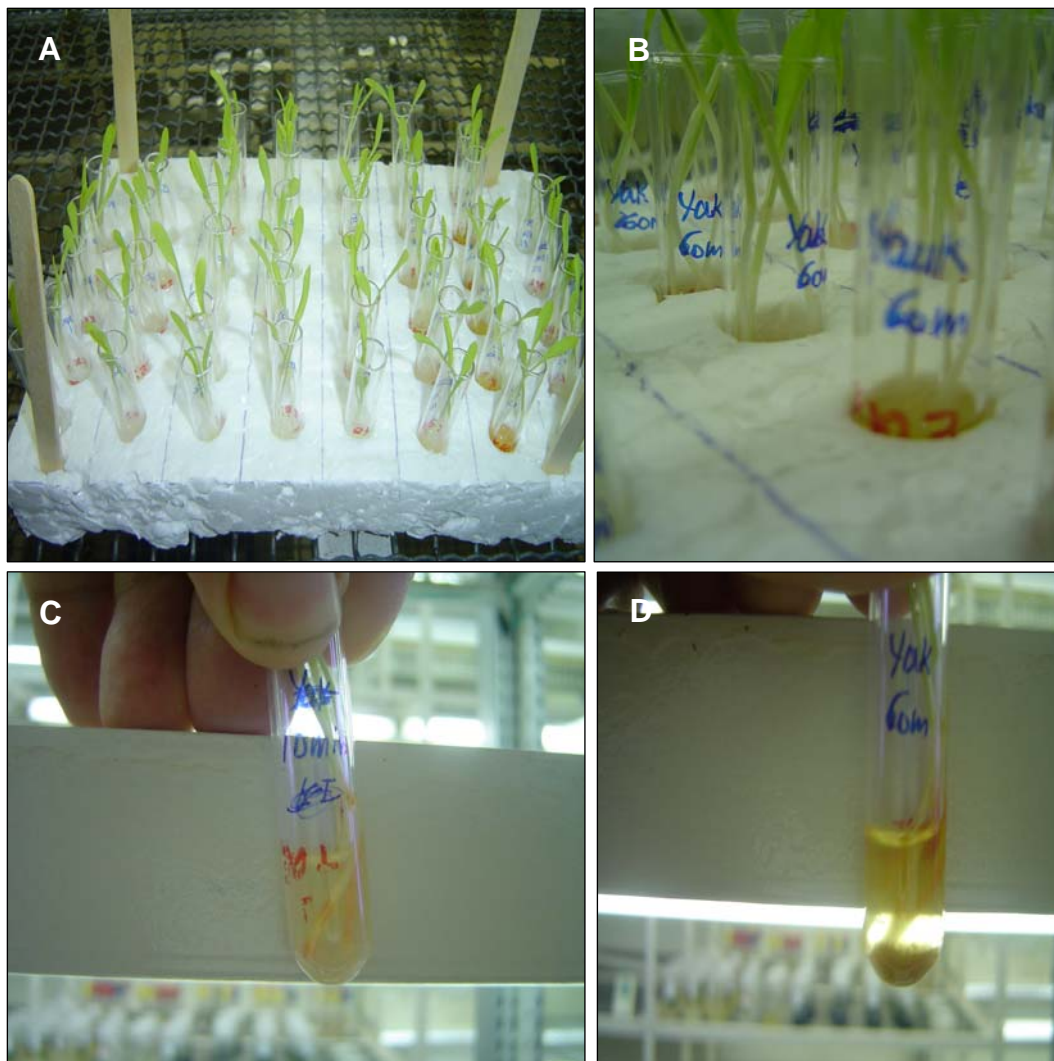


Figura 1. Produção de fitoalexinas em mesocótilo de sorgo. (A) mesocótilo de sorgo em meio de metanol; (B) mesocótilos de sorgo estiolado depois da germinação; (C) amostra das fitoalexinas extraídas de hipocótilos de sorgo tatadas com produto lácteo fermentado autoclavado por 10 minutos mostrando coloração clara; (D) amostra das fitoalexinas extraídas de hipocótilos de sorgo tatadas com produto lácteo fermentado autoclavado por 60 minutos, solução apresentando coloração mais escura (Fonte: autora).

2.6 Dosagem de proteínas totais solúveis em plântulas de pepino

Quatro sementes de pepino partenocárpico híbrido Hokushin foram semeadas em vasos, com capacidade de 3,5 L, com substrato agrícola Plantmax® e mantidas em casa de vegetação, sendo irrigadas diariamente. Com aproximadamente 16 dias, quando as plântulas apresentavam as primeiras folhas verdadeiras já expandidas, foram submetidas aos tratamentos com auxílio de aspersor manual, sendo a aplicação direcionada apenas às primeiras folhas de cada unidade experimental. Os tratamentos consistiram de produto lácteo

fermentado (Yakult®, 20% (m/v)), grãos de Kefir (20% (m/v)), mananoligossacarídeo fosforilado (Agro-Mos® 300 µL/L), ASM (acibenzolar-S-metil 200 µg/L) e água (testemunha). O delineamento empregado foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada parcela experimental constituída por quatro plantas (Figura 2). No tempo 0 (antes dos tratamentos) e após 24; 48 e 72 horas dos tratamentos, discos de folha, com aproximadamente 3,46 cm² de diâmetro, foram coletados na 1^a folha tratada bem como na 2^a folha não tratada. Durante o procedimento de amostragem, cada amostra coletada foi imediatamente acondicionada em envelopes de papel alumínio e congelada. Em seguida, as amostras de tecido vegetal foram maceradas com nitrogênio líquido, com o auxílio de almofariz. O macerado de folhas resultante foi homogeneizado em 4,0 mL de tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0) (tampão de extração) e centrifugado a 6.000 g por 10 minutos. O sobrenadante obtido foi armazenado em freezer até o momento da determinação da atividade proteica (LUSSO; PASCHOLATI, 1999) pelo método de Bradford (1976). Todo o processo de extração foi conduzido a 4 °C.



Figura 2. Plantas de pepino em vasos no estágio inicial com 1^a e 2^a folhas expandidas, conduzidas sob cultivo protegido (Fonte: autora).

2.7 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Havendo diferenças significativas, as médias dos tratamentos foram analisadas e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada utilizando o software Sisvar 4.6 (FERREIRA, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Curva de autoclavagem

A autoclavagem dos grãos de Kefir levou à obtenção de uma solução amarelada. Foi verificado que o tratamento térmico promoveu modificações nos extratos aquosos de grãos de Kefir e produto lácteo fermentado levando a alteração quanto à concentração de proteínas nos diferentes tempos de autoclavagem (Figura 3).

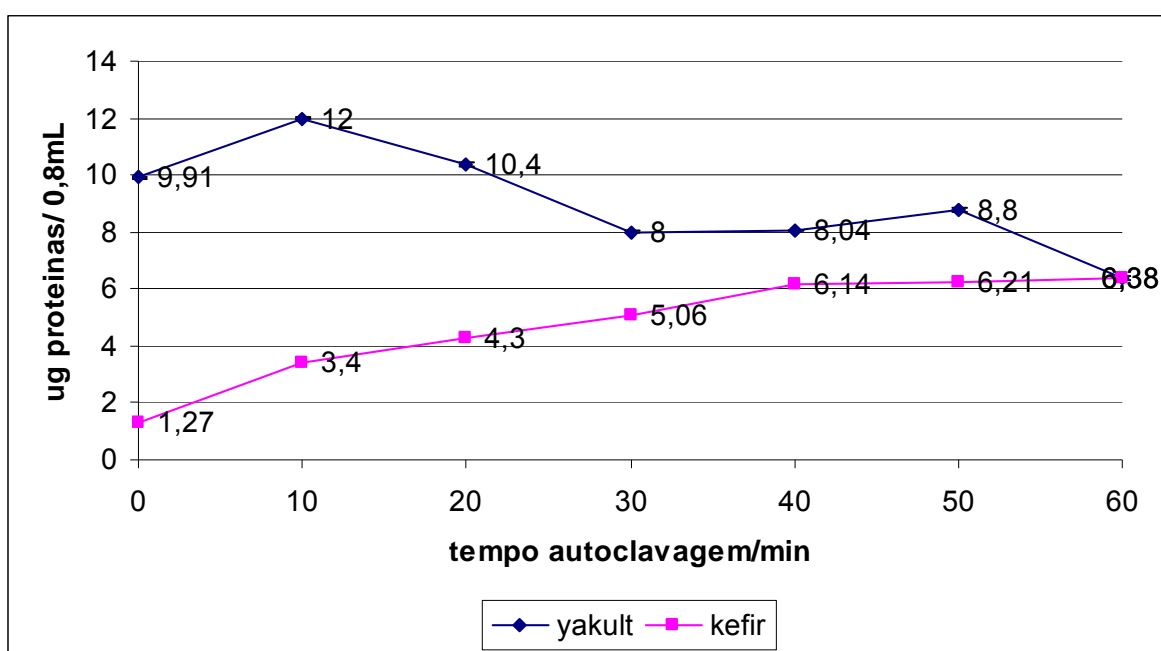


Figura 3. Curva de Autoclavagem, concentração de proteínas das preparações de produto lácteo fermentado (Yakult) e Grãos de Kefir autoclavadas sequencialmente. Tempo zero corresponde aos respectivos extratos brutos não autoclavados.

Para grãos de Kefir foi observado um aumento na concentração de proteínas em função do tempo de autoclavagem, sendo que, concentrações maiores foram observadas aos 40, 50 e 60 minutos de autoclavagem. A menor concentração foi observada em extrato bruto submetido a 10 minutos de autoclavagem, sendo, no entanto superior à concentração de proteínas do extrato bruto não autoclavado.

Resultados semelhantes foram observados quando o extrato de *Saccharomyces cerevisiae* foi submetido a diferentes tempos de tratamento térmico. Neste sentido, observou-se que a concentração de proteínas das preparações após autoclavagem foi maior do que a concentração de proteínas da preparação não autoclavada (BONALDO, 2005). Ainda com o mesmo microrganismo, Wulff e Pascholati (1999) demonstraram que a técnica de autoclavagem permitia a extração, com eficiência, de elicitores da parede de *S. cerevisiae*.

Para o produto lácteo fermentado foi observado um aumento na concentração de proteínas, em comparação com o extrato bruto não autoclavado, sendo a concentração máxima atingida após 10 minutos de autoclavagem. No entanto, ao contrário do observado para grãos de Kefir, um período maior de exposição ao calor reduziu a concentração de proteínas no produto lácteo fermentado, demonstrando uma menor estabilidade das proteínas ao calor neste produto.

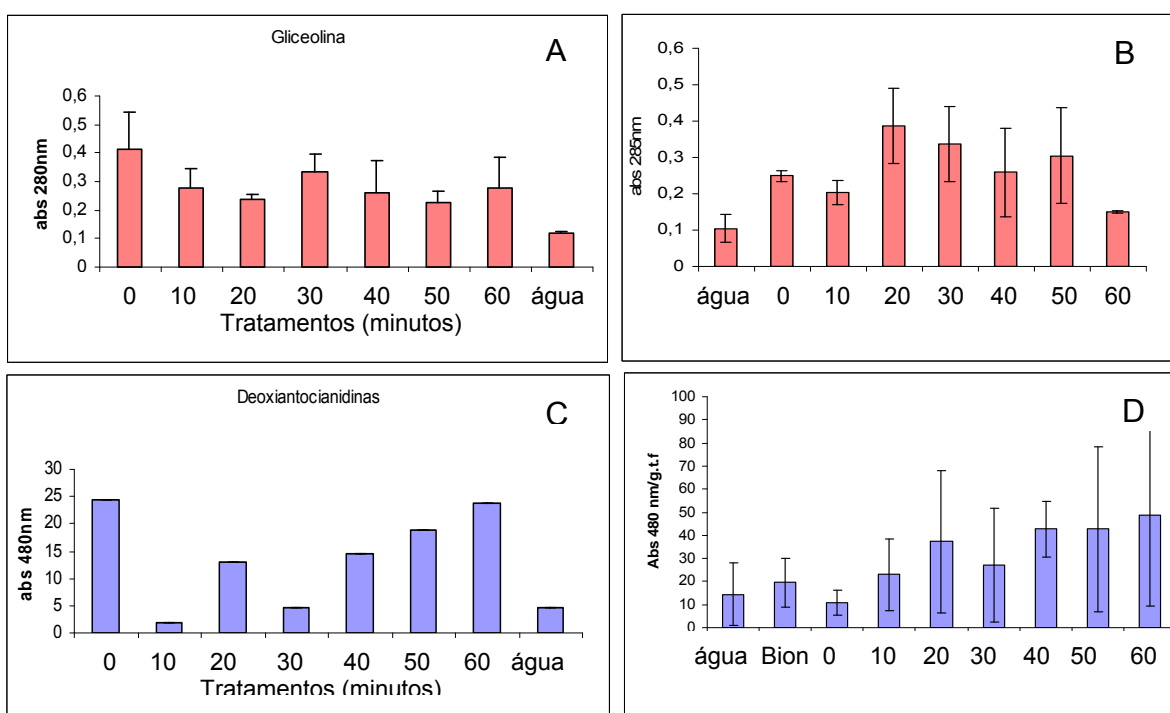
3.2 Fitoalexinas gliceolina e deoxiantocianidina

As avaliações quanto à produção de fitoalexinas em cotilédones de soja e hipocótilos de sorgo indicaram a capacidade de ambos os tratamentos alternativos (grãos de Kefir e produto lácteo fermentado) em induzir o acúmulo de gliceolinas e de deoxiantocianidinas (Figura 4).

Com relação à produção de gliceolina, observou-se que ambos os tratamentos alternativos foram capazes de induzir a produção desta fitoalexina, constatou-se da mesma forma que os extratos brutos de produto lácteo fermentado e de grãos de Kefir induziram o acúmulo de gliceolina independentemente do tratamento térmico adotado. Aparentemente, o maior acúmulo de gliceolina deu-se a partir do tratamento com extrato bruto do produto lácteo fermentado não autoclavado e o tratamento com o extrato bruto de grãos de Kefir submetidos ao tratamento térmico por 20 minutos. No tratamento com produto lácteo fermentado observa-se que o tratamento térmico reduziu a capacidade de indução desta fitoalexina, no entanto, apresentando valores superiores quando comparados ao tratamento com água (Figura 4A). Este resultado sugere para uma menor termoestabilidade dos possíveis indutores

presentes neste extrato, o que pode estar ligado à redução da concentração de proteínas observadas nos diferentes tempos de autoclavagem (Figura 3).

Figura 4. Indução de fitoalexinas gliceolina e deoxiantocianidinas por grãos de Kefir e produto lácteo fermentado. (A) gliceolina em cotilédones de soja tratados com produto lácteo fermentado autoclavado sequencialmente. (B) gliceolina em cotilédones de soja tratados com extrato bruto de grãos de Kefir autoclavados sequencialmente. (C) deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo tratados com produto lácteo fermentado autoclavado sequencialmente. (D) deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo tratados com extrato bruto de grãos de Kefir autoclavados sequencialmente. Valores 0, 10, 20, 30, 40, 50 e 60 representam o tempo de autoclavagem sequencial dos extratos brutos de grãos de Kefir e produto



lácteo fermentado, em minutos.

Para o extrato bruto de grãos de Kefir, ao contrário do observado no extrato bruto de produto lácteo fermentado, a autoclavagem favoreceu a solubilização de proteínas (Figura 3) aumentando a capacidade indutora deste extrato, principalmente, nos tempos de autoclavagem de 20 e 30 minutos. Tempos maiores de exposição ao tratamento térmico aparentemente não diferiram do extrato bruto não autoclavado, apresentando, no entanto, valores superiores quando comparados ao tratamento com água (Figura 4B).

Neste sentido, Mesquini et al. (2007) avaliando a produção de síntese de gliceolinas, utilizando extrato bruto de grãos de Kefir, submetido ao tratamento térmico, observaram um máximo de indução desta fitoalexina quando o extrato

bruto foi autoclavado por 20 minutos. De forma semelhante Stangarlin et al. (1999), trabalhando com extrato aquoso de plantas medicinais, observaram que os extratos a 20%, não autoclavados, de pitanga, cânfora, poejo, romã e cardo santo foram efetivos em induzir a síntese de gliceolina em cotilédones de soja. Resultados que corroboram com os resultados obtidos neste trabalho, quanto à indução de gliceolina em cotilédones de soja submetido ao tratamento com extratos brutos de produto lácteo fermentado e de grãos de Kefir.

Para a síntese de deoxiantocianidina em hipocótilos de sorgo foram observados resultados, quanto ao comportamento da indução desta fitoalexina quando submetidos ao tratamento com produtos alternativos, semelhantes aos encontrados para indução de gliceolina. Neste sentido, o extrato bruto do produto lácteo fermentado não autoclavado, aparentemente mostrou-se como o que proporcionou maior indução de deoxiantocianidina, sendo o menor valor encontrado para o extrato bruto submetido ao tratamento térmico por 10 minutos o qual não diferiu do tratamento com água (Figura 4C). Para o extrato bruto de grãos de Kefir observou-se, no entanto, uma maior capacidade de indução deste produto para esta fitoalexina quando submetido à autoclavagem, sendo o maior valor encontrado para o tempo de tratamento térmico entre 40 e 60 minutos (Figura 4D). Indicando um efeito sinérgico do tratamento térmico quanto à indução de fitoalexinas pelo extrato bruto quando submetido a um tratamento térmico mais prolongado.

3.3 Proteínas totais solúveis em folhas de pepino

Para este parâmetro observou-se aumento da concentração protéica nas folhas tratadas com os respectivos produtos, com um máximo de acúmulo de proteínas totais no período de 48 horas (Figura 5A, B e C). Não sendo observado tal comportamento para folhas tratadas com ASM, onde se observou uma manutenção das concentrações de proteínas totais nos tempos avaliados (Figura 5D).

No entanto, a reação quanto ao acúmulo de proteínas totais, de folhas testemunhas, tratadas somente com água indica de igual forma, para um acúmulo no período de 48 horas (Figura 5E). Sugerindo desta maneira um efeito maior provocado pelo fermento no ato da amostragem, culminando com uma maior

síntese protéica e, por conseguinte, demonstrando a necessidade de uma amostragem destrutiva para este tipo de ensaio e, com um número maior de repetições.

Para tanto, o único indício observado neste trabalho consiste da reação observada em folhas tratadas com ASM (Figura 5D) que mantiveram suas concentrações protéicas a níveis menores quando comparadas aos outros tratamentos. Levando a crer, que o decréscimo no conteúdo de proteínas, pode refletir retardamento na síntese proteica ou aceleração na sua degradação, levando ao aumento na quantidade de aminoácidos livres ou à inibição da incorporação desses aminoácidos nas proteínas.

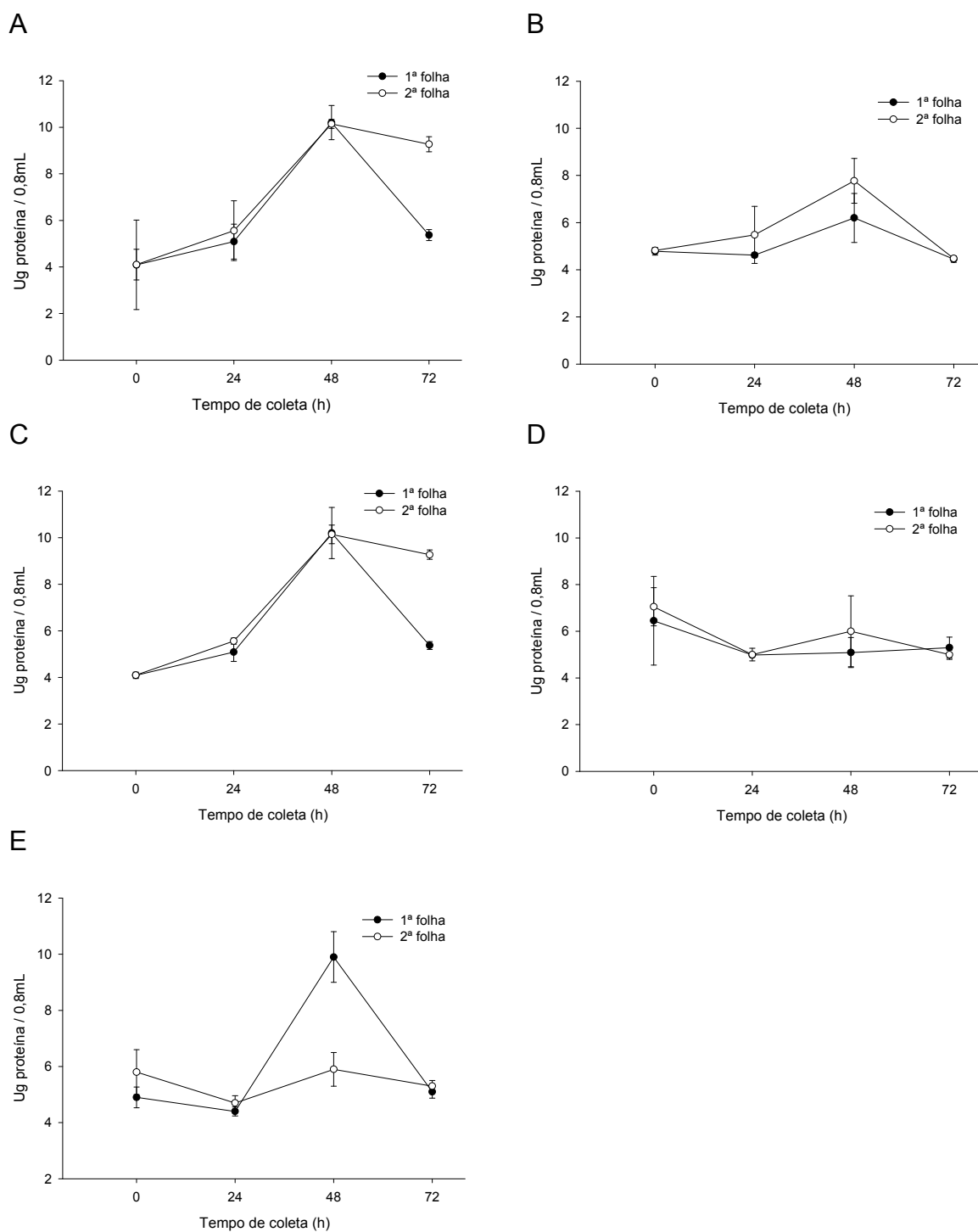


Figura 5. Dosagem de proteínas em diferentes tempos de coletas, na primeira (tratada) e segunda (não tratada) folhas após a aplicação de produtos convencionais e alternativos. (A) produto lácteo fermentado; (B) grãos de Kefir; (C) mananoligossacarídeo fosforilado (Agro-Mos® 300 μ L/L); (D) ASM (acibenzolar-S-metil 200 μ g/L); (E) água (testemunha).

4 CONCLUSÃO

Os extratos brutos de grãos de Kefir e produto lácteo fermentado possuem a capacidade de induzir a síntese de gliceolinas e antocianidinas, em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo, respectivamente. Aparentemente a autoclavagem dos extratos brutos, proporcionou um aumento na concentração de proteínas para o extrato bruto de grãos de Kefir e reduziu a concentração de proteínas no extrato bruto de produto lácteo fermentado, indicando uma menor estabilidade térmica das mesmas neste produto.

A síntese de fitoalexinas, igualmente, indicou uma maior indução para o extrato bruto de grãos de Kefir submetido ao tratamento térmico. A aplicação de extratos brutos de grãos de Kefir e produto lácteo fermentado, aparentemente influenciou no acúmulo de proteínas totais solúveis, em folhas de plantas de pepino.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYERS, A.R.; EBEL, J.; FINELLI, F.; BERGER, N.; ALBERSHEIM, P. Host-pathogen interactions. IX. Quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. **Plant Physiology**. v. 57, p. 751-759, 1976.

BONALDO, S. M., PASCHOLATI, S. F., ROMEIRO, R. S. Indução de Resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTE, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p.11-28, 2005.

BONALDO, S. M. **Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na síntese de fitoalexinas em sorgo, na germinação e formação de apressórios por fungos fitopatogênicos e na proteção de pepino a *Colletotrichum lagenarium* e sorgo a *Colletotrichum sublineolum***. 2005, 150 p. Tese (Doutorado), Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz Piracicaba.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v. 72. p. 248-54. 1976.

BRAGA, M.R. **Fitoalexinas e a defesa das plantas**. Acesso em 23/jul/2007. On line. Disponível na Internet: www.sbq.org.br/PN-NET/texto5/defesa.htm.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: EMBRAPA Meio ambiente, 279p. 2003.

CAVALCANTI, L.S. et al. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S. et al. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 81-124, 2005.

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

FERREIRA, D. F. **SISVAR versão 4.6**, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

FRANCO, D.A.S.; BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citros com produtos alternativos. **Fitopatologia Brasileira**. v. 25, p. 602-606. 2000.

FRANZENER, G.; MARTINEZ-FRANZENER, S.; A.; STANGARLIN, J. R.; CZEPAK, M. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina Ciências Agrárias**, v. 28, n.1. p. 29-38. 2007.

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

JANISIEWICZ, W.J. Ecological diversity, niche overlap, and coexistence of antagonist used in developing mixtures for biocontrol of postharvest diseases of apples. **Phytopathology**. v. 86, p. 473-479. 1996.

LOPEZ, A.M.Q. **Controle alternativo da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. Em sorgo (*Sorghum bicolor* L. (Moench)**. 1991. 203 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita”.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury of fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v. 25. p. 244-249. 1999.

MESQUINI, R. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; NASCIMENTO, J.F.; BALBIPEÑA, M. I.; BONALDO, S. M. Efeitos de produtos naturais na indução de fitoalexinas em cotilédones de soja e na germinação de urediniosporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1091-1094. 2007.

NICHOLSON, R. L.; KOLLIPARA, S.S.; VINCENT, J. R.; LYONS, P. C.; CADENA-GOMEZ, G. Phytoalexin synthesis by the sorghum mesocotyl in response to infection by pathogenic and nonpathogenic fungi. **Proceedings of the National Academy Science of the USA**, v. 84, p. 5520-5524, 1987.

PAXTON, D. J.; Phytoalexins – a working redefinition. **Phytopathologische Zeitschrift**. v. 101, p. 106-109. 1981.

PICCINI, E. **Uso de *Saccharomyces cerevisiae* na proteção de plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*), maracujá azedo amarelo (*Passiflora edulis*) e eucalipto (*Eucalyptus spp.*) contra fitopatógenos fúngicos e bacterianos**. 1995. 107p. Dissertação (mestrado) - Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

SATHIYABAMA M.; BALASUBRAMANIAN, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**. v.17, n.4, p.307-313. 1998.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**. v. 30, n. 1-2, p. 129-137. 2000.

SNYDER, B.; NICHOLSON, N. L. Synthesis of phytoalexins in sorghum as a site response to fungal ingress. **Science**. v. 248, p. 1637-1639. 1990.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E. da S; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais. Plantas medicinais e controle alternativo de

fitopatógenos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 2, n.11.1999.

TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technoly**. v. 32, p. 1-13. 2004.

WULFF, N. A.; PASCHOLATI, S. F. Partial characterization of sorghum phytoalexin elicitors isolated from *Saccharomyces cerevisiae*. **Fitopatologia Brasileira**. v. 24, n. 3, p. 428- 435. 1999.

CAPÍTULO 3

USO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS (KEFIR, PRODUTO LÁCTEO FERMENTADO) E CONVENCIONAIS (MANANOLIGOSSACARÍDEO FOSFORILADO, ACIBENZOLAR-S-METIL) NO CONTROLE DE OÍDIO E PRODUÇÃO DE PEPINO EM CASA DE VEGETAÇÃO

RESUMO

O controle alternativo de doenças de plantas tem sido estudado visando atender, principalmente, o sistema agroecológico de cultivo. O uso de produtos alternativos (leite, extratos e óleos vegetais, cogumelos, entre outros), tem demonstrado capacidade de induzir mecanismos de defesa das plantas. O presente trabalho teve por objetivos avaliar a influência da aplicação de grãos de Kefir e produto lácteo fermentado, submetidos a tratamento térmico, e do uso de produtos convencionais (mananoligossacarídeo fosforilado e acibenzolar-S-metil), em plantas de pepino no controle de oídio em de casa de vegetação, e de igual forma, avaliar a produção e a manutenção em pós-colheita de frutos de pepino. Resultados quanto à severidade de oídio, em pepino tratado com produtos alternativos e convencionais, respectivamente, indicam que o extrato bruto de grãos de Kefir apresentou-se eficaz na redução da severidade da doença, comparável ao observado para os produtos convencionais, sendo superior ao observado para o tratamento com produto lácteo fermentado. Quanto a produção de frutos, pode-se inferir que o tratamentos com produtos alternativos aparentemente não diferiram dos produtos convencionais, considerando o peso do fruto. Foram observadas, no entanto, diferenças em relação à qualidade dos frutos produzidos. Resultados de pós-colheita indicam que não houve efeito significativo dos tratamentos em relação à perda de água pelos frutos. No entanto, o tratamento com Mananoligossacarídeo fosforilado e produto lácteo fermentado, aparentemente, proporcionaram aos frutos melhor aspecto de conservação.

Palavras-chave: controle alternativo, pepino, oídio, grãos de Kefir, produto lácteo fermentado.

ABSTRACT

Use of alternative (Kefir grains and product of milk fermentation) and conventional products (phosphorylated mannanoligosaccharide and acibenzolar-S-methyl) for the control of powdery mildew on cucumber plants and the influence on plant yields.

Demands of food free of pesticides have been improved the last years, in this context, alternative methods of pests and diseases control are stimulated by many studies. The use of alternative products has demonstrated its ability to induce defense mechanisms of plants. This work aimed to evaluate the influence of alternative products (Kefir grains and product of milk fermentation, both submitted to heat treatment) in the induction of phytoalexins glyceollins on soybean cotyledons and deoxyanthocyanidins in sorghum mesocotyls, and verify the potential of its applications, as well as, the use of conventional products (phosphorylated mannanoligosaccharide and acibenzolar-S-methyl) to control powdery mildew in cucumber plants. Results suggesting that both alternative products have ability to induce the production of phytoalexins, on soybean cotyledons and sorghum mesocotyl, like levels observed for conventional products. In the same way, soluble proteins levels in leaves of cucumber plants treated with alternative products, indicate higher synthesis of proteins at 48 hours after application. Results for severity of powdery mildew on cucumber plants, treated with alternative and conventional products, suggesting no control effects by product of milk fermentation. The ability of both alternative and conventional products to increase cucumber fruit production was not demonstrated in this work, perhaps differences in fruit quality. Post-harvest results suggest no significance among treatments, in relation to water loss. However, treatment with product of milk fermentation apparently provided the best aspect of fruits in post-harvest.

Key-words: alternative control, cucumber, powdery mildew, Kefir grains, product of milk fermentation, phosphorylated mannanoligosaccharide, acibenzolar-S-methyl.

1 INTRODUÇÃO

Foi no início dos anos 70, paralelamente ao desenvolvimento do conceito de manejo integrado de pragas, que surgiu um movimento de oposição em relação ao padrão produtivo agrícola convencional. Como se concentrava em torno de um amplo conjunto de propostas alternativas, esse movimento, ficou conhecido como “Agricultura Alternativa” (PAULA JÚNIOR et al., 2005).

Um dos enfoques da agricultura alternativa é o controle alternativo de doenças de plantas, o qual inclui o controle biológico e a indução de resistência em plantas (não são incluídos nesse conceito o controle químico clássico e o melhoramento genético) (BETTIOL, 1991).

O controle alternativo preconiza a utilização de diferentes estratégias de controle. Geralmente, as medidas recomendadas atuam reduzindo tanto a taxa da doença no início da estação de cultivo (x_0) como causando o decréscimo da taxa de desenvolvimento da doença (r), durante o período de crescimento da cultura (PAULA JÚNIOR et al., 2005).

Segundo Romeiro (2005) é necessário investigar, com seriedade e persistência, métodos alternativos para o controle de enfermidades de plantas que sejam, ao mesmo tempo, eficientes e menos agressivos à saúde e ao ambiente. Encontrar uma forma, o mais inócua possível, de ativar os mecanismos de defesa da planta, promovendo sua própria proteção contra patógenos, ao invés de saturá-la e intoxicá-la com agrotóxico, por certo será a estratégia politicamente correta do futuro.

Segundo Bettiol et al., (2005), a considerável responsabilidade para a fraca adoção de técnicas alternativas para o controle de problemas fitossanitários está associada às instituições de pesquisas e aos órgãos de fomento. Há necessidade de aumentar o número de profissionais e dar recursos, para que a Fitopatologia possa dar maior contribuição a sustentabilidade ambiental e social da Agricultura brasileira. Há também necessidade de estabelecer formas eficientes para que o conhecimento sobre as técnicas alternativas seja socializado e passe a ser utilizado pelos agricultores.

Nesse contexto, a indução de resistência em plantas contra patógenos com a utilização de elicitores é relatada em diferentes culturas (LOPEZ, 1991; PICCINI, 1995; SATHIYABAMA; BALASUBRAMANIAN, 1998; HEIL; BOSTOCK, 2002; TERRY; JOYCE, 2004), sendo conceituada como um mecanismo de defesa, induzido por agentes bióticos ou abióticos, que confere proteção à planta a um amplo espectro de microorganismos (DURRANT; DONG, 2004).

Segundo Bettiol e Ghini (2003), o uso de leite *in natura*, considerando a incidência de oídio na cultura do pepino, pode ter efeito direto contra *Sphaerotheca fuliginea*, devido às suas propriedades germicidas; por conter diversos sais e aminoácidos, podendo induzir a resistência das plantas e/ou controlar diretamente o patógeno; podendo ainda estimular o controle biológico natural, ao formar um filme microbiano na superfície da folha ou alterar as características físicas, químicas e biológicas da superfície foliar.

Segundo o mesmo autor a aplicação em pulverização, de leite *in natura* uma vez por semana, nas concentrações de 5% e 10%, dependendo da severidade da doença, controlam com eficiência o oídio da abobrinha e do pepino, comparados aos resultados observados para fungicidas recomendados para a cultura (BETTIOL, 1999).

O presente trabalho teve por objetivos avaliar a influência da aplicação de grãos de Kefir, produto lácteo fermentado, mananoligossacarídeo fosforilado e acibenzolar-S-metil, em plantas de pepino para controle de oídio, e, de igual forma, avaliar a produção e a manutenção pós-colheita de frutos de pepino.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção de plantas de pepino

Sementes de pepino partenocárpico híbrido Hokushin foram semeadas em bandejas de isopor de 128 células, contendo substrato Plantmax® e irrigadas diariamente. Aproximadamente três semanas após a semeadura, as plântulas de pepino foram transplantadas em canteiros sob cultivo protegido (item 2.2).

2.2 Instalação de experimento em cultivo protegido

Plântulas de pepino com duas a três folhas definitivas, foram transplantadas para canteiros em estufa (5 x 28 x 4m) modelo "túnel alto", construída em ferro galvanizado e coberta com filme de polietileno transparente de baixa densidade e espessura de 0,1mm.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso (DIC), com cinco tratamentos e quatro repetições, totalizando 20 parcelas experimentais instaladas em cinco linhas de 28 metros ao longo da estufa. Os tratamentos consistiram em aplicações de extrato bruto de produto lácteo obtido da fermentação do leite por *Lactobacillus* (Yakult®) a 20% (v/v), liquidificado e autoclavado por 10 minutos; extrato bruto de grãos de Kefir a 20% (m/v), liquidificados e autoclavados por 20 minutos; Mananligossacarídeo fosforilado (Agro-Mos®) 60 µL L⁻¹; Acibenzolar-S-metil (agente abiótico - químico) 50 mg L⁻¹ e água como testemunha. As aplicações foram feitas semanalmente. De cada tratamento, foram preparados 5L e pulverizados sempre no período da manhã, utilizando-se pulverizador costal de acionamento manual, com capacidade de 20 L.

O solo para cultivo das plantas de pepino, foi preparado com uma enxada rotativa por meio de um microtrator e formação manual de canteiros; em cada parcela foram colocadas oito plantas, com espaçamento de 0,30 m entre plantas e 0,50 m entre linhas, sendo as duas primeiras plantas de cada extremidade das parcelas, consideradas como bordadura, tutoradas e podadas, quando necessário. Para o tutoramento de plantas de pepino, foram adotadas as técnicas de condução e poda, segundo recomendações para o cultivo protegido, onde

inicialmente brotos laterais e frutos até o terceiro, quarto, ou quinto internódios foram removidos; brotos laterais foram podados com um ou dois internódios. A quebra da dominância apical consistiu da retirada da gema apical entre o 18º e 22º internódios, impedindo o crescimento indeterminado da planta.

A manutenção da umidade do solo foi realizada mediante irrigação por gotejamento, sendo a quantidade de água disponibilizada, gradativamente, ao longo do experimento, conforme necessidade da cultura. As capinas foram manuais, quando necessário. A adubação constituiu-se de 2 L de húmus de minhoca por metro linear de canteiro.

2.3 Avaliação da severidade e área abaixo da curva de progresso da doença

Aproximadamente entre 45 e 60 dias após o plantio, no período de colheita, foi detectada a incidência de oídio (*Sphaeroteca fuliginea*) nas folhas da cultura do pepino, nas quais anteriormente à incidência da doença, foram realizadas 5 aplicações com os tratamentos (item 2.2) e água como testemunha. As aplicações foram realizadas com pulverizadores manuais, em toda a planta, até o ponto de escoamento.

Foram feitas três avaliações, com intervalo de sete dias, após o aparecimento dos primeiros sintomas. Para a avaliação da severidade, foi utilizada a escala diagramática, conforme Azevedo (1998). A doença foi quantificada no terço médio, em quatro plantas de cada parcela. Com os dados da severidade, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), conforme a equação proposta por Campbell e Madden (1990).

2.4 Colheita de frutos de pepino

A colheita de frutos de pepino foi iniciada na segunda quinzena de setembro, no ano de 2009, nas seis plantas centrais de cada parcela. Os frutos foram colhidos ao atingirem 2,5 a 3,5 cm de diâmetro e/ou 20 a 23 cm de comprimento, tendo-se como base o valor de interesse comercial.

2.5 Avaliações pós-colheita em frutos de pepino

Avaliações de pós-colheita em frutos de pepino foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Departamento de Agronomia na Universidade Estadual de Maringá - UEM. De cada tratamento do experimento (item 2.2), foram selecionados frutos com características ideais de colheita, sendo levados ao laboratório. Os mesmos foram selecionados uniformemente pela cor e tamanho (comercial) e separados segundo os tratamentos que as plantas de pepino aos quais em que foram submetidos pelos cinco tratamentos com quatro repetições, somando um total de 20 parcelas com três frutos para a montagem das parcelas. Cada fruto foi identificado e, posteriormente, aferido o comprimento (cm), diâmetro (mm) e peso (kg). Os frutos foram colocados em bandejas de isopor, embalados com isofilme de PVC e armazenados à temperatura ambiente (± 23 °C).

A cada 5 dias, foram realizadas as pesagens e as medidas de diâmetro e comprimento dos frutos nas parcelas e observadas as características visuais de depreciação da qualidade, como amarelecimento dos frutos, murchamentos ou ocorrência de doenças. Os frutos, ao longo do tempo de armazenagem, que apresentaram características de depreciação foram excluídos. As avaliações foram feitas aos 0, 5, 10 e 15 dias.

2.6 Análise estatística dos resultados

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA). Havendo diferenças significativas, as médias dos tratamentos foram analisadas e comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada utilizando o software Sisvar 4.6 (FERREIRA, 2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Severidade e área abaixo da curva do progresso de *Sphaeroteca fuliginea* em plantas de pepino

A área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), sob tratamentos alternativos, expressa alta severidade de oídio, durante o período das avaliações. A instalação do patógeno pode ter sido favorecida pela suscetibilidade da cultivar e pela ocorrência de condições ambientais favoráveis à doença em ambiente de cultivo protegido. A Figura 1 indica as diferenças entre os tratamentos, plantas testemunhas tratadas somente com água e plantas tratadas com produto lácteo fermentado apresentaram uma severidade superior aos tratamentos com grãos de Kefir, mananoligossacarídeo fosforilado e acibenzolar-S-metil. Indicando, neste caso, a possibilidade do uso do extrato bruto de grãos de Kefir como alternativa viável no controle do oídio, mesmo após o início da infecção, reforçando a possibilidade do uso de tratamentos alternativos no controle de fitopatógenos.

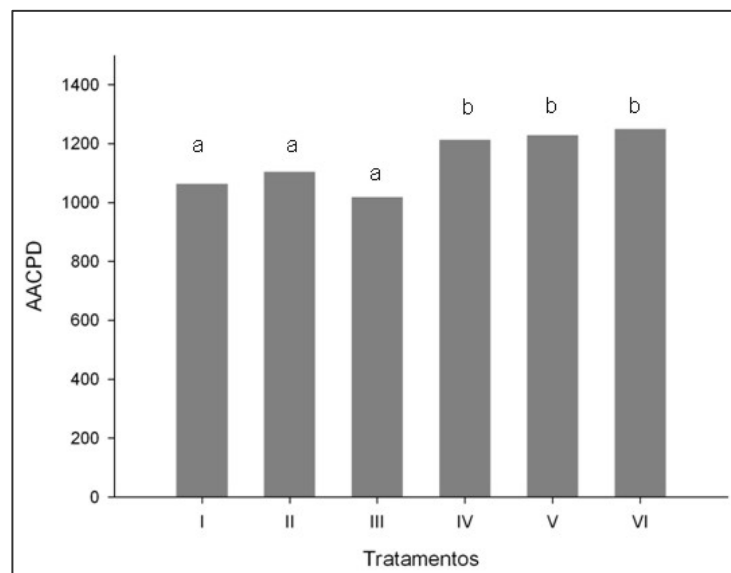


Figura 1. Área abaixo da curva do progresso do oídio sob tratamentos alternativos e convencionais. (I) extrato bruto de grãos de Kefir e (II) Mananoligossacarídeo fosforilado; (III) Acibenzolar-S-Metil; (IV) extrato bruto de produto lácteo fermentado; (V e VI) água (testemunha). Valores na coluna, seguidos pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

3.2 Avaliações do comprimento, diâmetro e peso na colheita de frutos de pepino

Segundo Cañizares (1998), as informações sobre colheitas de pepinos são variadas, pois isso depende de cultivares ou híbridos utilizados. Segundo a mesma autora, em relação aos tamanhos dos frutos, consideram-se frutos grandes aqueles maiores de 23 cm (> 23 cm); médios aqueles que ficam entre 20 e 23 cm ($\pm 20-23$ cm) e pequenos os menores que 20 cm (< 20 cm). Para o diâmetro, considera-se diâmetro grande os frutos que são maiores que 3,0 mm ($> 3,0$ mm); pequenos os menores de 2,5 mm ($< 2,5$ mm) e médios os que ficam entre 2,5 e 3,0 mm. ($\pm 2,5-3,0$ mm).

Para as medidas de comprimento dos frutos, na primeira colheita, no período de 45 dias após plantio, a análise estatística apresentou diferença significativa entre os tratamentos e, por meio do teste de Scott-Knott a 5%, verificou-se que as médias do comprimento dos frutos, que receberam o tratamento com grãos de Kefir, foram superiores aos demais tratamentos (Tabela 1). Na segunda colheita, 50 dias após o plantio, não foram observadas diferença estatística entre os tratamentos. Na terceira colheita, 56 dias após plantio, os valores médios dos tratamentos, com produto lácteo fermentado leite fermentado e mananoligossacarídeo fosforilado foram superiores ao tratamento com o extrato bruto de grãos de Kefir, para a variável comprimento, ao contrário do observado na colheita anterior.

O tratamento com mananoligossacarídeo fosforilado apresentou a maior média (41,5 cm). Nessa colheita, as plantas nas parcelas apresentaram severidade de 50% de oídio (*Sphaceloteca fuliginea*) em plantas tratadas com água.

O ataque severo do oídio ocorre normalmente em condições de desnutrição ou no final do ciclo da cultura. Levando-se em consideração que as plantas estavam se defendendo da severidade da doença e, ainda, produzindo sua quarta e penúltima colheita, esse efeito talvez possa ser explicado pelo estresse da planta, não apresentando crescimento ideal para os frutos. Segundo Larcher (2000), o estresse é um desvio significativo das condições ótimas para a vida; em outras palavras, é tudo que desvia a planta das condições ideais de

crescimento e desenvolvimento, tanto para mais como para menos. Finalmente, a última e quinta colheita aos 65 dias após o plantio, já com as plantas apresentando um estresse bastante avançado e várias flores sendo abortadas, a análise de variância indicou que houve interação significativa para o comprimento entre os tratamentos; entretanto, o tratamento com acibenzolar-S-metil apareceu com maior média quando comparado aos demais tratamentos.

Para as avaliações de diâmetro de frutos, na primeira colheita (Tabela 01), os frutos provenientes de plantas tratadas com grãos de Kefir e produto lácteo fermentado apresentaram maiores médias de diâmetro, enquanto a testemunha apareceu com a menor média. Na segunda colheita, observou-se diferença estatística nesse parâmetro, entre os tratamentos. Deve-se levar em consideração que, no início da colheita, a incidência/severidade de oídio era baixa e, com isso, a planta teve chance de investir mais na floração, não ocorrendo queda de flores e, conseqüentemente, da produção de frutos. Foi possível observar nessa colheita, em algumas plantas de determinadas parcelas, a ocorrência de oídio. Na terceira colheita, todos os tratamentos tiveram valor muito aproximado, verificando que a menor média ficou com grãos de Kefir.

Para o componente peso, não houve diferença estatística entre os tratamentos, entretanto, verificou-se na primeira colheita (Tabela 1) que o rendimento dos frutos coletados das plantas, que receberam o tratamento com grãos de Kefir, (1,781 kg), foi superior aos demais tratamentos, fato ocorrido na primeira colheita em relação às médias de diâmetro e comprimento. Houve um aumento da porcentagem de frutos em todos os tratamentos devido a não incidência de doenças e, com isso, não houve redução de área foliar fotossinteticamente ativa.

Na segunda colheita, os melhores rendimentos foram os observados nos tratamentos com mananoligossacarídeo fosforilado e acibenzolar-S-metil superando a produção com o tratamento com grãos de Kefir. Na terceira colheita, os tratamentos com acibenzolar-S-metil e produto lácteo fermentado não diferiram entre si, porém, apresentaram médias superiores aos demais tratamentos. Na quarta coleta, os pesos médios dos frutos do tratamento com água apresentaram o menor peso. Entre os demais tratamentos, não houve diferença estatística sendo, porém, superiores à testemunha.

Assim, em relação à última colheita, ao contrário das anteriores, a testemunha foi superior aos demais tratamentos. Possivelmente, isso possa ser explicado frente ao ataque severo de oídio, que aparecia com alta severidade, quase 100% da superfície foliar nos indivíduos, no interior da casa de vegetação, em todos os tratamentos.

Um cuidado a ser tomado se refere ao grau de fitotoxicidez em relação aos tratamentos a serem pulverizados, assim como à susceptibilidade da família *Cucurbitaceae* (CANIZARES, 1998). Na quarta e quinta colheitas, as plantas já começavam a apresentar sinais de estresse grande, pois, aproximavam-se do final do ciclo de produção. Os resultados mostraram que houve diferença estatística entre os tratamentos para as medidas médias de diâmetro para a quarta e a quinta colheitas, haja vista que frutos com diâmetro médio tem maior valor comercial (CANIZARES, 1998); assim, tanto para a quarta como para a quinta colheita, o tratamento com grãos de Kefir, aparentemente, aproximou-se mais dessa exigência (Tabela 01).

Na quarta colheita 60 dias após o plantio, não houve diferença estatística entre os tratamentos.

3.2.1 Produção de frutos comerciais

Neste ensaio foram observadas diferenças entre os tamanhos dos frutos em relação aos tratamentos efetuados (Tabela 02). Considerando que frutos médios, em relação ao comprimento, apresentam maior valor comercial, o melhor nesse aspecto foi o tratamento com grãos de Kefir, pois, apresentou maior valor percentual na produção de frutos médios (67,15%), seguido pelo tratamento com acibenzolar-S-metil (56%), sendo o menor valor percentual apresentado em plantas tratadas com produto lácteo fermentado (46,64%). Segundo Canizares (1998), os fatores edafo-climáticos podem limitar a produção, ou seja, as temperaturas extremas dentro do ambiente protegido interferem na absorção de nutrientes, entretanto, nas condições deste experimento, todas as plantas encontravam-se nas mesmas condições.

Tabela 1. Diâmetro, comprimento e peso de frutos de pepineiro obtidos em cinco colheitas sob tratamentos alternativos.

Tratamento	Diâmetro (mm)	Comprimento (cm)	Peso (kg)
1ª Colheita			
Acibenzolar-S-metil	16,7 a	24,7 a	0,912 a
Mananoligossacarídeo	18,1 a	24,0 a	0,786 a
Grãos de Kefir	25,6 a	38,6 b	1,781 a
Leite fermentado	25,9 a	23,3 a	1,007 a
Testemunha (água)	16,7 a	21,2 a	0,716 a
CV %	35,9	29,0	38,2
2ª Colheita			
Acibenzolar-S-metil	33,7 a	21,8 a	0,853 a
Mananoligossacarídeo	40,6 a	21,3 a	1,055 a
Grãos de Kefir	34,6 a	19,9 a	0,513 a
Leite fermentado	25,0 a	17,7 a	0,560 a
Testemunha (água)	31,4 a	19,4 a	0,585 a
CV %	28,0	29,3	39,1
3ª Colheita			
Acibenzolar-S-metil	37,9 b	21,1 b	1,124 a
Mananoligossacarídeo	43,6 b	25,3 c	0,827 a
Grãos de Kefir	24,7 a	17,4 a	0,720 a
Leite fermentado	42,7 b	24,6 c	0,720 a
Testemunha (água)	40,7 b	22,4 c	0,993 a
CV %	11,2	9,9	24,8
4ª Colheita			
Acibenzolar-S-metil	36,4 a	29,2 a	0,778 a
Mananoligossacarídeo	33,9 a	41,4 a	1,104 a
Grãos de Kefir	38,6 a	30,2 a	0,880 a
Leite fermentado	60,2 a	29,3 a	0,918 a
Testemunha (água)	35,5 a	29,7 a	0,830 a
CV %	38,0	40,1	25,8
5ª Colheita			
Acibenzolar-S-metil	76,7 c	56,0 b	0,840 a
Mananoligossacarídeo	53,3 b	26,8 a	0,617 a
Grãos de Kefir	33,3 a	23,9 a	0,618 a
Leite fermentado	34,3 a	23,0 a	0,670 a
Testemunha (água)	53,7 b	39,7 b	1,280 a
CV %	31,6	36,4	25,9

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Quanto à porcentagem de frutos com diâmetro médio e de maior valor comercial (Tabela 2), o tratamento com mananoligossacarídeos fosforilado foi o menos efetivo, diferindo dos demais tratamentos, entretanto, ainda apresentou 8,57% de frutos com diâmetro médio. Observou-se também que plantas tratadas com grãos de Kefir e produto lácteo fermentado, apresentaram maiores valores

percentuais (27,27% e 23,40%) respectivamente, seguido pelo tratamento com acibenzolar-S-metil (24,00%).

Entretanto, essa produção vem seguida de perto pelo tratamento com grãos de Kefir, com apenas 0,59% de diferença em relação à maior produção e todos os tratamentos superaram a testemunha água com o menor valor de produção (0,168 kg). Os demais tratamentos apresentaram diferenças percentuais pequenas. No início das primeiras colheitas, a incidência e a severidade de oídio eram baixas, aproximadamente 20% e, com isso, a qualidade e a quantidade de frutos foi satisfatória.

Tabela 2. Produção de frutos comerciais (kg.planta⁻¹) (frutos pequenos (P), médios (M), grandes (G), por planta em função do comprimento (cm) e diâmetro (mm).

Tratamento	Comprimento			Diâmetro		
	P (%)	M(%)	G(%)	P (%)	M (%)	G (%)
Grãos de Kefir	21,27 a	67,15 d	11,91 a	20,27 a	28,76c	52,63c
Produto lácteo fermentado	32,26 c	46,64 a	22,09 b	24,46 b	24,46b	28,06a
Mananoligossacarídeo Fosforilado	27,04 b	51,95 b	21,33 b	32,09 c	10,19a	57,38c
Acibenzolar-S-Metil	31,66 c	56,00 c	13,66 a	39,66 d	23,33b	40,33b
Água	23,69 a	54,90 c	22,07 b	32,82 c	29,59c	41,58b

Médias seguidas pelas mesmas letras nas colunas não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

3.2.2 Produção total frutos

Apesar de não ter havido diferença significativa entre os tratamentos, para o peso dos frutos em relação às colheitas realizadas (Tabela 01), observou-se que as plantas tratadas com grãos de Kefir e acibenzolar-S-metil, apresentaram maior produção e, conseqüentemente, maiores pesos, superando médias da testemunha tratada com água. Assim, pode-se inferir que, numa área útil total de 24,0 m², trabalhada em cultivo protegido, na qual foram testados cinco tratamentos que correspondiam a uma área útil de 3,6 m² para cada parcela, a produção alcançou um total de 26,631 Kg. A produção total de frutos para cada

tratamento foi de 4,512 Kg para plantas tratadas com grãos de Kefir; 4,280 Kg para plantas tratadas com produto lácteo fermentado; 4,507 Kg para plantas tratadas com Acibenzolar-S-metil; 4,389 Kg para plantas tratadas com mananoligossacarídeo fosforilado; e 4,033 Kg para plantas tratadas com água.

3.2.3 Avaliações pós-colheita

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), a qualidade final do produto, na época da colheita e na pós-colheita, está relacionada a numerosos fatores, principalmente, ao manejo da cultura.

Pelos resultados da Figura 2 pode-se observar que os tratamentos mantiveram a qualidade dos frutos de pepineiros na pós-colheita. Durante 15 dias da instalação do experimento, período no qual foram realizadas avaliações a cada 5 dias, esses resultados com tratamentos alternativos conferem com os citados por Abreu (2005), trabalhando com tomateiro cultivado a campo com uso de óleos essenciais para controle de *Alternaria solani*, pode-se observar que os óleos essenciais aumentaram a vida útil pós-colheita dos frutos de tomateiro. No presente trabalho, foi verificado que ocorreu uma perda mínima de frutos por maturação excessiva e/ou perda de água causando murchamentos tornando os frutos inadequados para o consumo. Paralelamente, foi constatada a perda de peso gradual e contínua nos frutos de todas as parcelas experimentais, observando-se que os tratamentos com mananoligossacarídeo fosforilado, seguidos pelo produto lácteo fermentado nas primeiras avaliações (5 e 10 dias), a perda de peso foi bastante estabilizada, quase linear (Figura 2). Entretanto, os frutos de pepino, ao final do armazenamento (15 dias), tiveram grande perda de água. Porém, para o tratamento com mananoligossacarídeo fosforilado e grãos de Kefir, houve considerável perda de peso.

Segundo Kader (2002), a perda de massa se relaciona com a perda de água, causa principal da deterioração, resultando não somente em perdas quantitativas, mas também qualitativas nos aspectos texturais e na qualidade nutricional. Alguma perda de água pode ser tolerada, mas aquela responsável pelo murchamento ou enrugamento deve ser evitada (BARROS et al., 1994).

Houve diferença a 5% de significância, segundo o teste de Tuckey para as medidas de diâmetro (Figura 2) entre os tratamentos. Todos os tratamentos superaram os valores médios da testemunha (30,79). Pode-se verificar que os

tratamentos, em que ocorreram as maiores médias de diâmetro, foram para os frutos das parcelas onde receberam os tratamentos com mananoligossacarídeo fosforilado (35,76), produto lácteo fermentado (33,74) e grãos de Kefir (33,55), portanto, valores menores e, que, comercialmente, têm maior valor.

Quanto às diferenças entre os tratamentos, para as medidas de comprimento, observou-se que, ao final dos quinze (15) dias de armazenamento, os tratamentos com grãos de Kefir e mananoligossacarídeo fosforilado mostraram maiores valores (24,57 e 23,65, respectivamente), enquanto os demais tratamentos mostraram resultados muito similares (Figura 2).

Outro fator considerável na pós-colheita dos frutos foi o fato da não constatação de incidência de doenças nos mesmos, ou seja, os tratamentos evitaram as doenças comuns em pepinos nessa etapa do experimento.

Quanto às perdas pós-colheita, motivadas por avaliações visuais, observou-se que não ocorreram diferenças entre os tratamentos. Até os dez (10) dias de armazenagem, não foram descartados frutos, as primeiras perdas ocorreram somente após os quinze (15) dias de armazenamento, causados, provavelmente, pela degradação de clorofila, pois, essa longevidade pós-colheita está diretamente relacionada à taxa respiratória decrescente, uma vez que o pepino é um fruto não climatérico e, assim, está relacionado ao estado de desenvolvimento no momento da colheita.

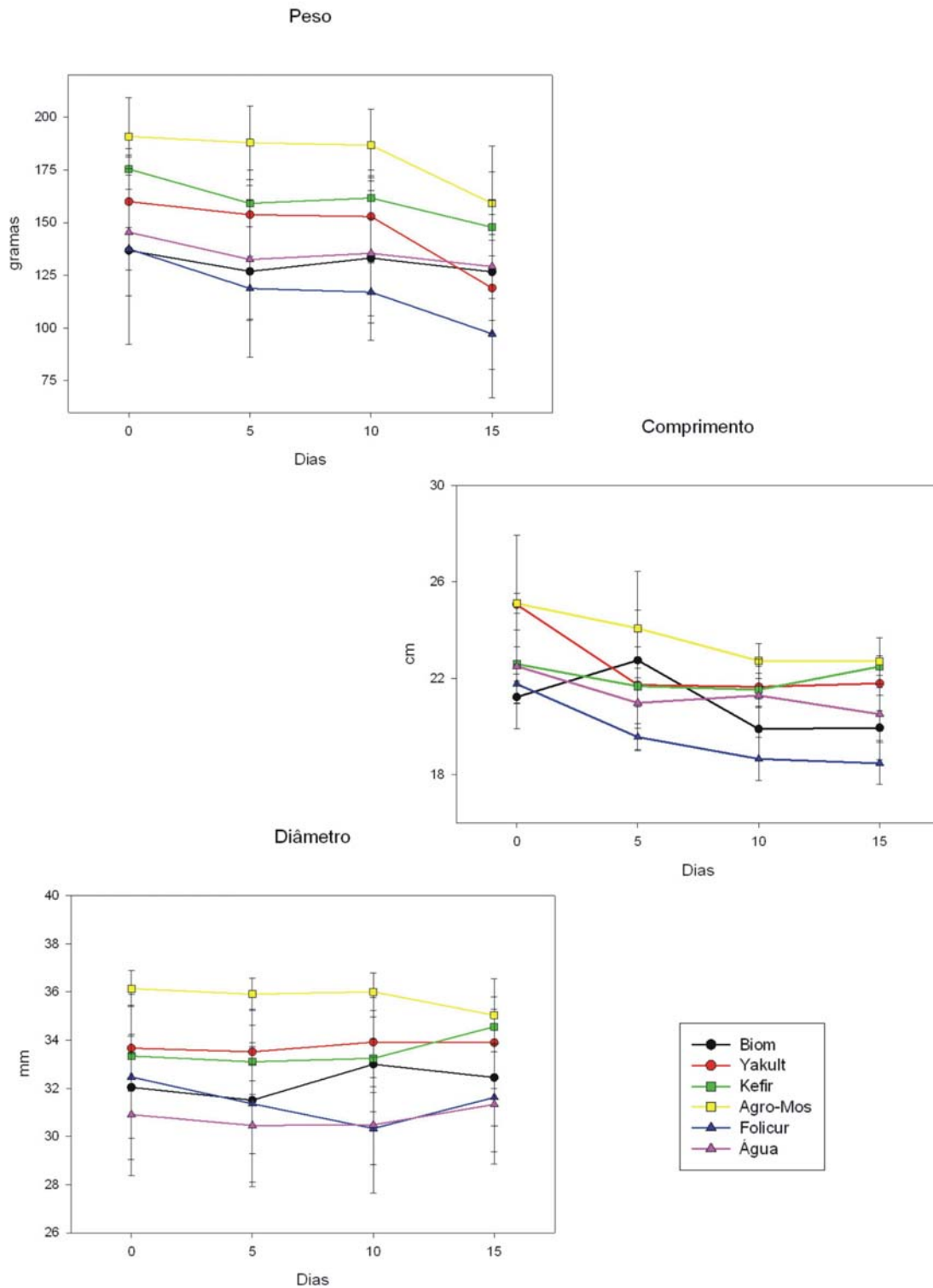


Figura 2. Variação do peso, comprimento e diâmetro dos frutos de pepino partenocárpico híbrido Hokushin na conservação pós-colheita em relação aos tratamentos: grãos de Kefir, produto lácteo fermentado (Yakult), acibenzolar-S-metil (Bion); mananoligossacarídeo fosforilado (Agro-Mos), tebuconazole (Folicur) e água.

4 CONCLUSÃO

Os tratamentos alternativos promoveram diferenças no desenvolvimento das plantas, na produção e na pós-colheita de frutos de pepino partenocárpico híbrido Hokushin. A avaliação em pós-colheita dos frutos tratados com os produtos alternativos, aparentemente, demonstrou um maior tempo de conservação para os mesmos, quando comparados com a testemunha.

Aparentemente, dentre os produtos alternativos, o extrato bruto de grãos de Kefir apresentou melhores indícios, quanto à viabilidade do uso do mesmo, no controle de oídio na cultura do pepino em cultivo protegido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo, Novartis Biociências - Setor Agro, 1998.

BARROS, J.C.S.M.; GOES, A.; MINAMI, K. Condições de conservação pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Scientia Agrícola**, v. 51, n. 2, p. 363-8. 1994.

BETTIOL, W. (Ed.). **Controle Biológico de doenças de Plantas**. Jaguariúna: Embrapa – CNPDA, 1991. 388p. (Embrapa-CNPDA. Documentos, 15).

BETTIOL, W. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. **Crop Protection**. v. 18, p. 489-492. 1999.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (Eds.). **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna, SP. p. 80-96, 2003.

BETTIOL, W.; GHINI, R.; MORANDI, M. A. B. Alguns métodos alternativos para o controle de doenças de plantas disponíveis no Brasil. In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Eds.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 163-183, 2005.

CAMPBELL, C.L; MADDEN L. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York. Wiley, 532p, 1990.

CAÑIZARES, K.A.L. Produção de Hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais. In: GOTO, R.; TIVELLI, S.W. São Paulo: Fundação Editora da UNESP, p.195-223, 1998.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: UFLA, 785 p, 2005.

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

FERREIRA, D.F. **SISVAR versão 4.6**, Universidade Federal de Lavras, Lavras (2003).

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

KADER, A.A. **Postharvest technology of horticultural crops**. California: University of California, 519 p, 2002.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 531p. 2000.

LOPEZ, A.M.Q. **Controle alternativo da antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. Em sorgo (*Sorghum bicolor* L. (Moench))**. 1991. 203p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita”.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; MORANDI, M. A. B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. B. da. Controle Alternativo de Doenças de Plantas – Histórico. In: VENEZON, M; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Eds.). **Controle Alternativo de Pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 135-162, 2005.

PICCINI, E. **Uso de *Saccharomyces cerevisiae* na proteção de plantas de sorgo (*Sorghum bicolor*), maracujá azedo amarelo (*Passiflora edulis*) e eucalipto (*Eucalyptus spp.*) contra fitopatógenos fúngicos e bacterianos**. 1995. 107f. Dissertação (mestrado) - Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

ROMEIRO, R. da S. Doenças de Plantas e Biocontrole – Uma opção inteligente. In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Eds.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 295-330, 2005.

SATHIYABAMA M.; BALASUBRAMANIAN, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**. v. 17, n. 4, p. 307-313, 1998.

TERRY, L.A.; JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in posharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology**. v. 32, p. 1-13. 2004.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adoção de técnicas e métodos alternativos, visando o controle de doenças em plantas cultivadas, vem tomando cada vez mais espaço nas discussões quanto às formas de reduzir os impactos econômicos que fitopatógenos podem ocasionar em diversas culturas. Da mesma forma, é notório, o grande número de possibilidades que podem ser adotadas no controle de doenças em plantas. Neste sentido, indutores de resistência, de origem química ou biótica, vêm ganhando paulatinamente espaço no mercado agrícola brasileiro. Tornando desta forma, possível, a adoção destes indutores, nos sistemas de cultivo baseados no menor uso de produtos químicos, o que por sua vez, na maioria das situações, promove a redução de impactos ambientais.

O presente trabalho consistiu na caracterização do potencial uso de produtos alternativos, extratos brutos de grãos de Kefir e produto lácteo fermentado, na indução de fitoalexinas, gliceolinas e deoxiantocianidinas, em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo, respectivamente. De igual forma, avaliou o potencial destes produtos alternativos, no controle de oídio em plantas de pepino, bem como, na melhoria da produção de frutos e na conservação dos mesmos em pós-colheita.

Ensaio indicam para uma capacidade de indução de gliceolinas e deoxiantocianidinas, para ambos os extratos utilizados. No entanto, extratos submetidos à autoclavagem indicam para uma alteração da atividade elicitora, favorável, para o extrato bruto de grãos de kefir e, desfavorável, para o extrato bruto de produto lácteo fermentado.

Considerando o controle de oídio em plantas de pepino, foi observado efeito de redução da severidade quando da aplicação de extrato bruto de grãos de Kefir, enquanto que, aparentemente, o extrato bruto de produto lácteo fermentado não apresentou efeito controlador da doença.

Em condições de cultivo, aparentemente, os produtos alternativos não contribuíram significativamente para uma maior produção e/ou qualidade de frutos

de pepino. Dados para frutos em pós-colheita sugerem, no entanto, para uma melhor aparência de frutos tratados com os produtos alternativos.

Diante dos resultados obtidos, pode ser levantada a hipótese quanto ao potencial uso destes produtos alternativos, no controle de doenças em plantas. No entanto, são necessários maiores estudos, visando principalmente elucidar os componentes ligados a capacidade elicitora destes produtos e, se esta indução realmente trará benefícios à planta.