

ACÇÃO PROTETORA DO ACIBENZOLAR-S-METHYL EM PLANTAS DE CAFEEIRO CONTRA FERRUGEM

S.D. Guzzo¹, R.M. de Castro², K. Kida¹, E.M.F. Martins¹

¹ Centro de Sanidade Vegetal, Instituto Biológico, CP 12.898, CEP 04010-970, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

Plantas de café (*Coffea arabica* cv. Mundo Novo) suscetíveis à ferrugem, causada por *Hemileia vastatrix*, mostraram-se protegidas contra a doença quando tratadas com diferentes concentrações do composto acibenzolar-S-methyl, BTH, (10, 50, 100, 200 e 400 ppm do produto comercial, que contém 50% do princípio ativo), 72 h antes da inoculação com o patógeno. O produto induziu proteção local (66 a 97 %), sistêmica (83 a 94 %), e o efeito protetor persistiu até 10 semanas. Nos intervalos de 8 a 10 semanas entre a aplicação do produto e a inoculação com o patógeno, a área foliar com lesões esporulantes foi mais próxima daquela apresentada pelas plantas-controle, do que nos outros intervalos semanais de tempo. Estudos, através de microscopia de fluorescência, sobre o desenvolvimento do patógeno em folhas tratadas e controles, indicaram que a germinação e a formação de apressórios de *H. vastatrix* não foram afetadas pelo tratamento com o BTH.

PALAVRAS-CHAVE: *Hemileia vastatrix*, indução de resistência, BTH, *Coffea arabica*.

ABSTRACT

PROTECTION OF COFFEE PLANTS AGAINST COFFEE LEAF RUST BY ACIBENZOLAR-S-METHYL. Susceptible coffee plants (*Coffea arabica* cv. Mundo Novo) were protected against coffee leaf rust caused by *Hemileia vastatrix*, when treated with different concentrations of the compound acibenzolar-S-methyl, BTH, (10, 50, 100, 200 and 400 ppm of the commercial product, that contains 50 % of active ingredient, w/w), 72 h prior inoculation with pathogen. The product induced local (66 to 97 %), systemic protection (83 to 94 %), and the protection persisted for at least 10 weeks. At time intervals from 8 to 10 weeks between treatments and challenge inoculations, the foliar area with sporulating lesions were closer to control plants, than others intervals of time. Fluorescent microscopic studies of pathogen development in protected and control leaves indicated that neither the germination nor the appressoria formation were affected by treatment with BTH.

KEY WORDS: *Hemileia vastatrix*, induced resistance, BTH, *Coffea arabica*.

INTRODUÇÃO

A cafeicultura representa um importante papel na economia nacional constituindo cerca de 6,18% da receita das exportações. Apesar da redução da área cafeeira nas últimas décadas, o Brasil ainda ocupa uma posição dominante no mercado mundial como produtor (contando com 2,410 milhões de hectares plantados) e como exportador (20%) (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO CAFÉ, 1997). O potencial competitivo do país, no entanto, poderá crescer ainda mais com a redução de custos de produção através do aumento da produtividade.

Doenças e pragas constituem fatores restritivos para o alcance de uma produção ideal. Entre outras está a ferrugem alaranjada do cafeeiro, causada pelo fungo biotrófico *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. (MATIELLO, 1991).

Atualmente, a ferrugem atinge todas as regiões cafeeiras do Brasil e se não for devidamente controlada pode causar queda na produção de até 45% (MATIELLO, 1991). O controle químico da ferrugem tem se mostrado eficiente e econômico, porém, além de representar 10 a 20% do custo total da produção (MATIELLO *et al.*, 1985; VEGRO & FERREIRA, 2000), pode levar ao agravamento de outras doenças e pragas do cafeeiro, pelo seu efeito na microbiota, eliminando inimigos naturais, além de possibilitar, por pressão de seleção, o surgimento de raças resistentes aos fungicidas aplicados.

Um dos maiores desafios para os pesquisadores tem sido determinar métodos eficientes, porém de baixo impacto ambiental. Uma das abordagens consiste na utilização de cultivares resistentes para o controle da ferrugem do cafeeiro (BERGAMIN FILHO, 1976; CARVALHO, 1982). Existe ainda a perspectiva promissora do controle da doença pela ativação dos mecanismos de defesa inerentes das plantas

² Syngenta., São Paulo, SP

através da aplicação, prévia à inoculação com patógenos, de produtos bióticos ou abióticos, não tóxicos, que atuam como indutores de resistência (MARTINS, 1991; MORAES, 1992; RYALS *et al.*, 1996). Indução de resistência em plantas de café suscetíveis à ferrugem pode ser obtida pelo tratamento com filtrado de suspensão de uredíniosporos de *H. vastatrix* inativados termicamente (MORAES *et al.*, 1976); polissacarídeos extracelulares ricos em β -mananas, provenientes de uredíniosporos de *H. vastatrix* (GUZZO *et al.*, 1987); bactérias e fungos não patogênicos ao cafeeiro (MARTINS *et al.*, 1985); Thuricide-HP (*Bacillus thuringiensis*, Sandoz) (ROVERATTI *et al.*, 1989); extrato de levedura (MARTINS *et al.*, 1986); exopolissacarídeos de células bacterianas de *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* e *X. campestris* pv. *campestris* ou com goma xantana (GUZZO *et al.*, 1993).

O composto derivado do benzotiazol (BTH) (acibenzolar-S-methyl) tem sido citado como um agente ativador dos mecanismos de defesa de plantas, protegendo-as sistemicamente contra uma larga gama de doenças causadas por fungos e bactérias, sem mostrar efeito tóxico direto e significativo contra estes fitopatógenos (RUESS *et al.*, 1995). O BTH na maioria dos casos estudados não apresenta atividade antimicrobiana direta sobre o patógeno, o que praticamente elimina o risco de seleção de raças resistentes ao produto. Além disso, é um composto de baixo impacto pois apresenta baixa toxicidade (DL_{50} oral em ratos > 2.000 mg/kg), e nenhum efeito carcinogênico, mutagênico ou teratogênico (RUESS *et al.*, 1996). Neste trabalho foi verificada a ação do composto benzo[1,2,3]tiazol-7-ácido carbotióico-S-metiléster (BTH) como indutor de proteção em cafeeiros contra ferrugem.

MATERIALE MÉTODOS

Planta e patógeno

Plantas de café (*Coffea arabica* cv. Mundo Novo), obtidas a partir de sementes fornecidas pela Cooperativa GARCAFÉ, Garça, SP, foram utilizadas quando atingiram 8 pares de folhas totalmente expandidas.

Uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. *et Br.*, raça II, foram coletados a partir de plantas de café naturalmente infectadas, peneirados e mantidos em nitrogênio líquido até o uso.

Preparo do indutor de proteção e do inóculo

Soluções aquosas do produto comercial, benzo[1,2,3]tiazol-7-ácido carbotióico S-metiléster (acibenzolar-S-methyl, BTH), que contém 50% do princípio ativo, foram utilizadas nos testes biológicos.

Uredíniosporos de *H. vastatrix*, retirados do nitrogênio líquido, foram submetidos a um choque térmico (40°C, 10 min) e misturados com água destilada (2 mg/mL). A suspensão, agitada por 10 min e submetida a ultra-som (50 Hz, 30 s), foi mantida sob agitação constante durante a inoculação das plantas.

Indução de proteção local e sistêmica

Os experimentos foram realizados em condições de casa de vegetação, utilizando-se grupos de 10 plantas por tratamento. Para avaliação do efeito do BTH na indução de proteção local de plantas de café contra a ferrugem, soluções aquosas do produto nas concentrações de 10, 50, 100, 200 e 400 ppm do produto comercial foram aspergidas nas superfícies abaxiais dos 2^{os}, 3^{os} e 4^{os} pares de folhas a partir do ápice, 0,5 mL de solução por folha, usando como propelente, nitrogênio gasoso (0,20 bars). As plantas-controle foram aspergidas com água destilada. Após 72 h, os mesmos pares de folhas foram aspergidos com a suspensão do inóculo. As plantas inoculadas foram mantidas no escuro (24 °C, UR 85%) por 48 h e, em seguida, transferidas para casa de vegetação até o aparecimento de sintomas.

O efeito sistêmico do produto e/ou seu possível efeito indutor de resistência à distância do ponto de aplicação, foram avaliados aspergindo-se, em outro lote de plantas, soluções aquosas do BTH nas concentrações de 10 e 400 ppm do produto comercial, nos 3^{os} pares de folhas a partir do ápice. Os 2^{os} e 4^{os} pares de folhas foram protegidos com papel de alumínio para não receberem o produto. O lote de plantas-controle foi tratado com água. Após 72 h, os 2^{os}, 3^{os} e 4^{os} pares de folhas das plantas tratadas e controles, foram inoculados com o patógeno. Após a inoculação, todas as plantas foram submetidas às mesmas condições ambientais descritas anteriormente.

O tempo de persistência do efeito protetor do produto foi verificado aspergindo uma solução aquosa de BTH (400 ppm) nos 2^{os}, 3^{os} e 4^{os} pares de folhas de cafeeiro, nos intervalos de tempo de 1 a 10 semanas antes da inoculação com o patógeno.

A avaliação dos sintomas em todos os experimentos foi feita 21-24 dias após a inoculação, determinando-se a média do número de lesões por 10 cm² de folha. A proteção foi calculada como redução do número de lesões por folha e expressa como porcentagem do controle (MORAES *et al.*, 1976). A porcentagem de área esporulante foi avaliada 60 dias após a inoculação segundo uma escala diagramática variando de 0 a 100 %.

Efeito do BTH sobre a germinação e formação de apressórios *in vivo* de *H. vastatrix*

O efeito biocida do produto foi verificado sobre a germinação e formação de apressórios dos uredíniosporos de *H. vastatrix*, 16 h após a inoculação do patógeno em folhas de plantas de café previamente tratadas com as diferentes concentrações do BTH (10, 50, 100, 200 e 400 ppm). O produto foi aspergido nas superfícies abaxiais dos 3^{os} pares de folhas e após 72 h as mesmas foram inoculadas com o patógeno. As folhas permaneceram no escuro por 16 h. As superfícies abaxiais das folhas foram então aspergidas com formaldeído 37% e logo após a evaporação deste, discos de folhas foram retirados e os uredíniosporos

corados com dietanol fluorocromo (MARTINS *et al.*, 1988). Em microscópio de fluorescência foram avaliadas as porcentagens de germinação e de tubos germinativos apresentando apressórios.

RESULTADOS

Plantas de café tratadas com BTH, 72 h antes da inoculação do patógeno, apresentaram menor número de lesões de ferrugem alaranjada do cafeeiro do que as plantas-controle. Todas as concentrações de BTH utilizadas, de 10 a 400 ppm (24 - 950 μ M), foram efetivas em promover essa redução no número de lesões. Na concentração de 10 ppm a redução foi de 66,5% e a partir de 50 ppm ficou acima de 86%, atingindo 97% na concentração de 400 ppm (Figs. 1 e 2).

O número de lesões de *H. vastatrix* nos pares de folhas imediatamente acima e abaixo das folhas que receberam o tratamento com BTH, 72h antes da inoculação dos urediniosporos, também foi reduzido em comparação com os respectivos pares de folhas das plantas-controle. Essa redução foi respectivamente 92 e 94 % na concentração de 400 ppm e 82 e 88% na concentração de 10 ppm (Fig. 3).

Na concentração de 400 ppm, a aplicação do produto até 10 semanas antes da inoculação do patógeno induziu uma redução significativa do número de lesões da ferrugem em relação ao controle, variando de 86 a 93 % (Fig. 4). A redução da área foliar com lesões esporulantes em relação ao controle, após os intervalos de 1 a 6 semanas entre a aplicação do produto e a inoculação do patógeno, foi da ordem de 99%. Quando 7 semanas decorreram entre a aplicação do BTH e a inoculação do fungo, a redução de lesões esporulantes foi de 94%, nos intervalos de 8 a 9 semanas ficou na ordem de 75% e no intervalo de 10 semanas caiu para 50% (Figs. 4 e 5).

Nenhum efeito fitotóxico nos tecidos foliares foi observado, nas condições experimentais utilizadas (Figs. 2 e 5).

Em todas as concentrações do BTH utilizadas, a germinação dos urediniosporos de *H. vastatrix* e a formação de apressórios foram significativamente semelhantes à testemunha (Figs. 6 e 7).

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Todas as plantas possuem um potencial genético para resistência a fitopatógenos e a diferença entre resistência e suscetibilidade está na velocidade e magnitude de expressão desse potencial. Foi demonstrada, experimentalmente, a possibilidade da expressão desses genes ser manipulada alterando o estado de suscetibilidade para resistência por vários agentes bióticos ou abióticos (KÚC, 1995), fenômeno conhecido por RSA (resistência sistêmica adquirida) (STICHER *et al.*, 1997).

Os dados apresentados neste trabalho demonstram que o BTH conferiu proteção local e sistêmica altamente

significativas (97 % e 94%, respectivamente, para uma concentração de 950 μ M) contra a ferrugem do cafeeiro em plantas previamente tratadas. Proteção com o referido produto também foi obtida em plantas de fumo (70 a 97% para uma concentração de 1200 μ M) contra o vírus TMV, os fungos *Cercospora nicotianae*, *Peronospora tabacina*, *Phytophthora parasitica* e a bactéria *Pseudomonas syringae* (FRIEDRICH *et al.*, 1996); em plantas de trigo (87% para uma concentração de 300 μ M) contra o fungo *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* (GÖRLACH *et al.*, 1996).

Como verificado para essas outras interações acima citadas, o BTH conferiu, também para cafeeiro-*Hemileia vastatrix*, proteção sistêmica, isto é, efeito protetor à distância do ponto de aplicação do produto, a níveis estatisticamente iguais à proteção conferida no local de aplicação do produto (teste Tuckey, 5%). Esse fato pode ser devido à difusão equitativa do produto a partir do ponto de aplicação e/ou pela ativação de mecanismos de defesa da planta (RSA- resistência sistêmica adquirida).

Em plantas de trigo (GÖRLACH *et al.*, 1996), fumo (FRIEDRICH *et al.*, 1996) e *Arabidopsis* (LAWTON *et al.*, 1996) foi observado que o BTH induz as mesmas alterações bioquímicas que caracterizam a resistência sistêmica adquirida (RSA) ativadas por agentes bióticos ou abióticos, como o acúmulo de mRNAs de proteínas relacionadas à patogênese (FRIEDRICH *et al.*, 1996) ou alterações estruturais, como o depósito de calose nas paredes celulares nos sítios de penetração do patógeno (BENHAMOU & BÉLANGER, 1998).

O fato do efeito protetor do BTH em cafeeiro contra ferrugem alaranjada persistir, a níveis de 90%, até 10 semanas após sua aplicação, revela um potencial de uso prático do produto no manejo da ferrugem do cafeeiro, o que requer ensaios sob condições de campo para ser confirmado.

Experimentos em campos de centeio e trigo mostraram que o BTH conferiu proteção significativa contra *Erysiphe graminis* por um período de 4 e 10 semanas, respectivamente, após um único tratamento (RUESS *et al.*, 1996). Contra outros patógenos como *Septoria* spp. e *Puccinia* spp., o efeito protetor em plantações de trigo foi menos acentuado, promovendo um retardamento no desenvolvimento das doenças (RUESS *et al.*, 1996).

O produto não inibiu o desenvolvimento do fungo *H. vastatrix*, nas fases de pré-penetração (germinação e formação de apressórios), porém, mesmo assim a infecção foi quase totalmente suprimida, decrescendo mais de 95%, em relação às plantas não tratadas, para as maiores dosagens do BTH. Esse fato indica a possibilidade do efeito protetor ter sido consequência da ativação do mecanismo de resistência induzida (RSA) da planta. É conhecido que agentes indutores de RSA não apresentam ação antimicrobiana direta sobre patógenos, mas induzem a expressão de genes de defesa das plantas, ativando, nas mesmas, a produção de compostos que impedem ou dificultam o estabelecimento e/ou

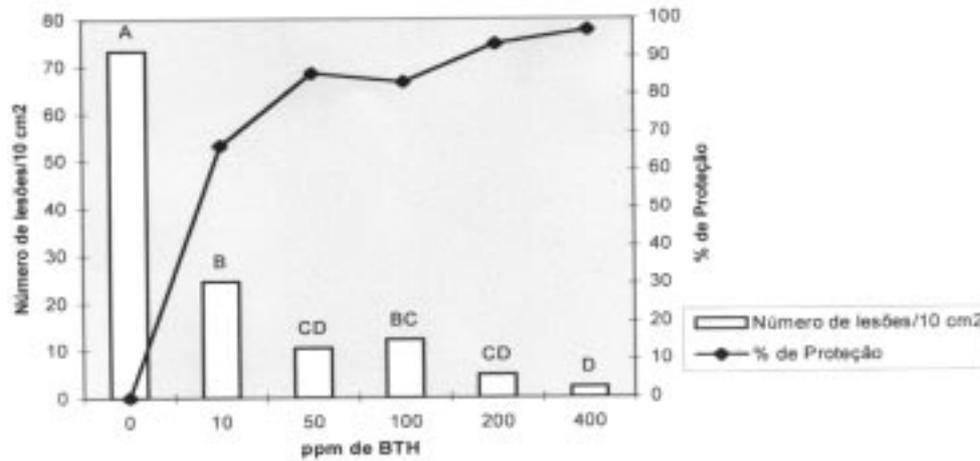


Fig. 1 - Efeito de diferentes concentrações de BTH na proteção de mudas de café contra *H. vastatrix*. Controle: 0 ppm de BTH. Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % (C.V. = 32,03 %; D.M.S. = 10,83).



Fig. 2- Redução, acima de 90%, do número de lesões de *H. vastatrix* em plantas de café "Mundo Novo" protegidas pela aplicação prévia de BTH, em relação às plantas-controle aspergidas com H₂O, 72hs antes da inoculação do patógeno.

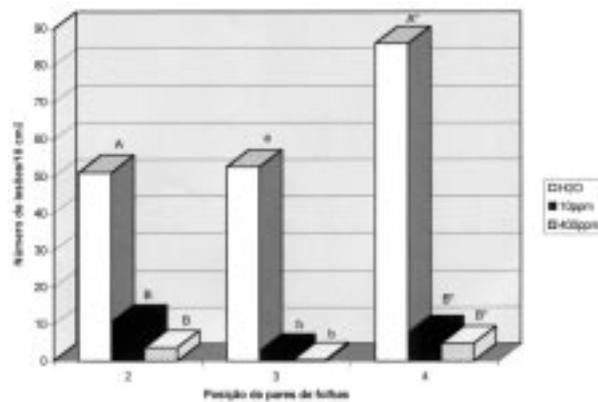


Fig. 3 - Proteção local e sistêmica de folhas de cafeeiro contra *H. vastatrix*, após o tratamento com BTH (0, 10 e 400 ppm). O produto foi aplicado nas superfícies abaxiais dos 3^{os} pares de folhas, 72 h antes da inoculação com o patógeno nos 2^{os}, 3^{os} e 4^{os} pares de folhas. Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5 %. 2^o Par: C.V. = 33,32 %; D.M.S. = 1,92; 3^o Par: C.V. = 22,11 %; D.M.S. = 1,03; 4^o Par: C.V. = 27,33 %; D.M.S. = 1,82.

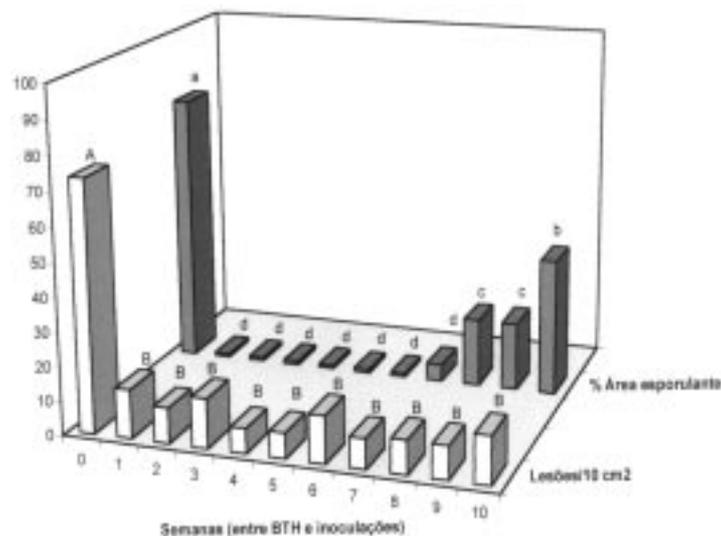


Fig. 4 - Persistência do efeito protetor do BTH (400 ppm) em mudas de café contra *H. vastatrix*. O produto foi aplicado nos intervalos de tempo de 1 a 10 semanas antes da inoculação com o patógeno. Controle: plantas não aspergidas com BTH (0 semanas). Médias seguidas por letras distintas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5 %. Lesões/10 cm²: C.V. = 31,36 %; D.M.S. = 11,05; porcentagem de área esporulante: C.V. = 24,53 %; D.M.S. = 11,25.

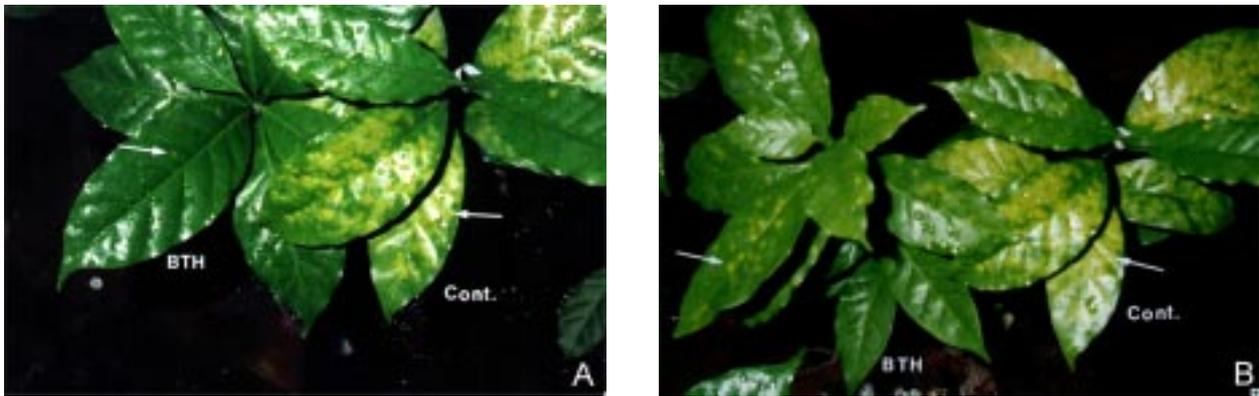


Fig. 5- Persistência do efeito protetor do BTH em plantas de café "Mundo Novo". A- Aplicação do produto 5 semanas antes da inoculação do patógeno. Setas indicam lesões **não** esporulantes nas folhas tratadas e lesões esporulantes nas folhas da planta-controle. B- Aplicação do produto 8 semanas antes da inoculação do patógeno. Setas indicam lesões esporulantes nas folhas tratadas e nas folhas da planta controle.

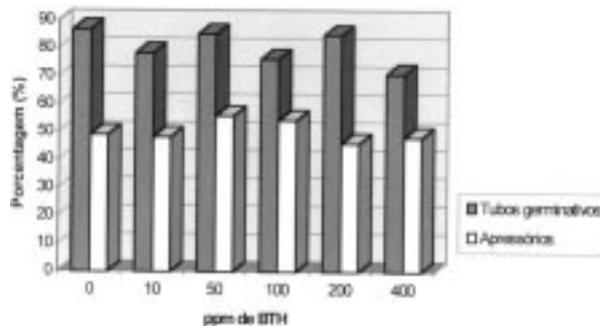


Fig. 6 - Efeito de diferentes concentrações do BTH na germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix* e no desenvolvimento de apressórios. Controle: 0 ppm de BTH. Porcentagem de tubos germinativos: médias dos tratamentos não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % (C.V. = 17,89 %; valor de F = 1,13). Porcentagem de apressórios: médias dos tratamentos não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5 % (C.V. = 23,24 %; valor de F = 0,33).

o desenvolvimento de patógenos. Assim, o BTH aplicado em plantas de café 72 h antes da inoculação com o patógeno, pode ter ativado esses genes e, dessa forma, suprimido a infecção.

O BTH é comprovadamente um produto de baixa toxicidade (RUESS *et al.*, 1996). Experimentos realizados *in vitro* demonstraram que o BTH e seus metabólitos, na concentração de 1,4 mM, não afetam significativamente o desenvolvimento dos fungos: *Alternaria brassicae*, *A. brassicicola*, *Botrytis cinerea*, *Ceratocystis ulmi*, *Cladosporium cucumerinum*, *Fusarium culmorum*, *Helminthosporium oryzae*, *H. teres*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium digitatum*, *P. expansum*, *P. italicum*, *Phytophthora infestans*, *Pyricularia oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Septoria nodorum*, *Ustilago maydis* e *Verticillium dahliae* (FRIEDRICH *et al.*, 1996). Entretanto, foi verificado um efeito fungistático *in vitro* do BTH em *Colletotrichum graminicola* (PASCHOLATI *et al.*, 1998).

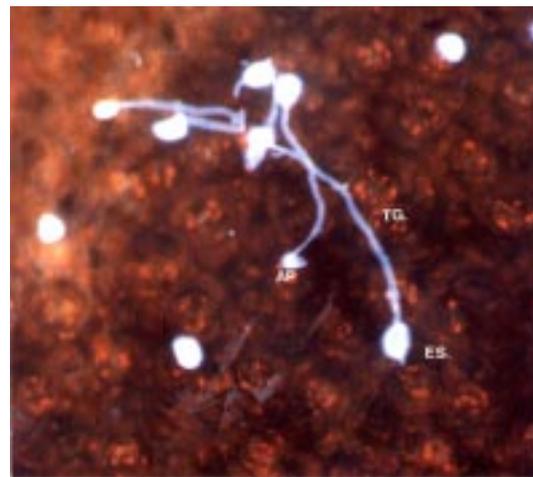


Fig. 7 - Germinação e formação de apressórios de uredíniosporos de *H. vastatrix* em folhas de caféiro previamente tratadas com 950 μ M (400 ppm) do produto comercial de BTH. AP = apressório; TG = tubo germinativo, ES = uredíniosporo.

Foi demonstrado que o BTH é rapidamente absorvido e translocado através das plantas de trigo e ativa o mecanismo de resistência das mesmas, interferindo nos diferentes estágios do ciclo de desenvolvimento do fungo *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*. A taxa de penetração do fungo, bem como a formação de haustórios foram significativamente inibidas, sendo que a germinação e a formação de apressórios não foram alteradas (GÖRLACH *et al.*, 1996).

Esse composto parece atuar como um clássico indutor do conhecido fenômeno da RSA (GÖRLACH *et al.*, 1996; RUESS *et al.*, 1996; FRIEDRICH *et al.*, 1996), no qual o estado de suscetibilidade das plantas é alterado, decorrido um intervalo de tempo após o contato com o agente indutor, tornando-as temporariamente resistentes a um grande espectro de patógenos (KÚC, 1995; RYALS *et al.*, 1996; STICHER *et al.*, 1997). O BTH também apresenta um efeito sinérgico, quando utilizado com diferentes fungicidas (MOLINA *et al.*, 1998; RUESS *et al.*, 1996).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO CAFÉ. II Exportações, III Produção. In: DO ROSÁRIO, J. B. & DO ROSÁRIO, M. G. B. (Eds.). Publicação do Jornal COFFEE BUSINESS. Rio de Janeiro: Oficina de Comunicação e Marketing Ltda, 1997. p. 37–80.
- BENHAMOU, N. & BÉLANGER, R.R. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. *Plant Physiol.*, Lancaster, v. 118, p. 1203–1212, 1998.
- BERGAMIN FILHO, A. Possibilidades do emprego da resistência vertical no melhoramento do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix*. *Summa Phytopathol.*, v. 2, n. 2, p. 103–108, 1976.
- CARVALHO, A. Pesquisas sobre a resistência do cafeeiro a *Hemileia vastatrix* em São Paulo. *Garcia de Orta, Sér. Est. Agron.*, Lisboa, v. 9, n. 1/2, p. 129–136, 1982.
- FRIEDRICH, L.; LAWTON, K.; RUESS, W.; MASNER, P.; SPECKER, N.; RELLA, M.G.; MEIER, B.; DINCHER, S.; STAUB, T.; UKNES, S.; MÉTRAUX, J.-P.; KESSMANN, H.; RYALS, J. A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *Plant J.*, Oxford, v. 10, n. 1, p. 61–70, 1996.
- GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.-H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell*, Baltimore, v. 8, p. 629–643, 1996.
- GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F.; MORAES, W.B.C. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*. I. Partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. *Fitopatol. Bras.*, v. 12, n. 4, p. 377–385, 1987.
- GUZZO, S.D.; BACH, E.E.; MARTINS, E.M.F.; MORAES, W.B.C. Crude exopolysaccharides (EPS) from *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* and commercial xanthan gum as inducers of protection in coffee plants against *Hemileia vastatrix*. *J. Phytopathol.*, Berlin, v. 139, p. 119–128, 1993.
- KUC, J. Systemic induced resistance. In: WALTERS, D.R., SCHOLE, J.D., BRYSON, R.J., PAUL, N.D., MCROBERTS, N. (Eds.). *Aspects of Applied Biology: Physiological responses of plants to pathogens*. Dundee: Association of Applied Biologists, 1995. v. 42, p. 235–242.
- LAWTON, K.A.; FRIEDRICH, L.; HUNT, M.; WEYMANN, 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 J.*, Oxford, v. 10, n. 1, p. 71–82, 1996.
- MARTINS, E.M.F.; BERETTA, M.J.G.; ROVERATTI, D.S.; MORAES, W.B.C. Comparative induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants by non-specific inducers from different fungal and bacterial origins. *Fitopatol. Bras.*, v. 10, p. 521–529, 1985.
- MARTINS, E.M.F.; DE MARIA, A.C.; GRÜNEWALDT-STÖCKER, G.; MORAES, W.B.C. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extract filtrate and heat treatment. *Fitopatol. Bras.*, v. 11, p. 899–909, 1986.
- MARTINS, E.M.F.; DA SILVA, S.R.; MORAES, W.B.C. Fluorocromação—método para avaliação da germinação de esporos de fungos na superfície foliar. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 1., 1988, São Paulo, SP. *Resumos. Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 55, p. 74, 1988. Suplemento.
- MARTINS, E.M.F. Controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) através da indução de resistência. In: BETTIOL, W. (Ed.). *Controle biológico de doenças de plantas*. Jaguariúna: Embrapa-CNPDA, 1991. cap. 24, p. 345–363.
- MATIELLO, J. B. et al. Cultura de café no Brasil: manual de recomendações. 5. ed., Rio de Janeiro: IBC – GERCA, 1985.
- MATIELLO, J.B. O Café: do cultivo ao consumo. São Paulo: Editora Globo S.A., 1991. cap. 24, p. 345–363. (Coleção do Agricultor – Grãos).
- MOLINA, A.; HUNT, M. D.; RYALS, J. A. Impaired fungicide activity in plants blocked in disease resistance signal transduction. *Plant Cell*, Baltimore, v. 10, p. 1903–1914, 1998.
- MORAES, W.B.C.; MARTINS, E.M.F.; MUSUMECI, M.R.; BERETTA, M.J.G. Induced protection to *Hemileia vastatrix* in coffee plants. *Summa Phytopathol.*, v. 2, p. 39–43, 1976.
- MORAES, W.B.C. Controle alternativo de fitopatógenos. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, v. 27, p. 175–190, 1992.
- PASCHOLATI, S.F.; STANGARLIN, J.R.; HOTO, F.V.; PICCININ, E.; OSSWALD, W. Efeito *in vitro* do ativador de defesa vegetal “Bion” no crescimento micelial e na germinação de conídios de *Colletotrichum graminicola*. *Fitopatol. Bras.*, Brasília, v. 23, 1998. Suplemento, 266.
- ROVERATTI, D. S.; TEIXEIRA, A. R. R.; MORAES, W. B. C. *Bacillus thuringiensis* - a new perspective for an induced protection to coffee leaf rust. *J. Phytopathol.*, Berlin, v. 126, p. 149–159, 1989.
- RUESS, W.; KUNZ, W.; STAUB, T.; MÜLLER, K.; POPPINGER, N.; SPEICH, J.; AHL GOY, P. Plant Activator CGA 245704, a new technology for disease management. *Eur. J. Plant Pathol.*, Dordrecht, v. 101, 1995. Supplement, 424.
- RUESS, W.; MÜLLER, K.; KNAUF-BEITER, G.; KUNZ, W.; STAUB, T. Plant activator CGA 245704: an innovative approach for disease control in cereals and tobacco. Brighton Crop Protection Conference- Pest and Diseases. In Ciba’s Contribution, p. 9. 1996.
- RYALS, J.A.; NEUENSCHWANDER, U.H.; WILLITS, M.G.; MOLINA, A.; STEINER, H.Y.; HUNT, M.D. Systemic acquired resistance. *Plant Cell*, v. 8, p. 1809–1819, 1996.
- STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, Palo Alto, v. 35, p. 235–270, 1997.
- VEGRO, C.L.R. & FERREIRA, C.R.R.P.T. Evolução das despesas com defensivos agrícolas e fertilizantes para a safra de café 2000/01 nos estados de São Paulo e Paraná. *Informações Econômicas*, v. 30, p. 53–59, 2000.

Recebido para publicação em 26/7/00