

Indução de fitoalexinas gliceolina e proteínas relacionadas à defesa em cotilédones de soja tratado com leveruras

Eloisa Lorenzetti Tartaro^{1*}, Jeferson Carlos Carvalho², Odair José Kuhn², José Renato Stangarlin²

¹ Universidade Federal do Paraná – UFPR, Rua Pioneiro 2153, Jardim Dallas, CEP 85950-000, Palotina - PR.
E-mail:

² Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Rua Pernambuco 1777, CP 91, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon - PR.

*E-mail autor correspondente: eloisa-lorenzetti@hotmail.com

Artigo enviado em 05/03/2021, aceito em 01/06/2021

Resumo: Para determinar as enzimas de defesa, sementes de soja foram semeadas e os cotilédones tratados com água destilada estéril, *Cryptococcus laurentii* (AH03-1), *Pichia guilliermondii* (AH16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3), *Sporidiobolus johnsonii* (AH16-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH14-1). Sendo realizadas análises bioquímicas de formação de fitoalexinas e a atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase, fenilalanina amônia-liase e proteínas totais. Para fitoalexinas gliceolinas as leveduras *C. laurentii* (AH03-1) e *Z. hellenicus* (AH14-1) promoveram aumento de 83,65% e 78,75% na formação deste composto. *Cryptococcus laurentii* (AH 03-1) elevou a atividade de peroxidase em 36,84%, enquanto que para polifenoloxidase, as leveduras *P. guilliermondii* (AH16-2), *R. glutinis* (AH14-3), *S. johnsonii* (AH16-1) e *Z. hellenicus* (AH14-1), elevaram em 33,33%, 28,00%, 33,33% e 33,33%, respectivamente, a atividade desta enzima. Para fenilalanina amônia-liase, *C. laurentii* (AH03-1) e *Z. hellenicus* (AH14-1) promoveram aumento de 75,57% e 78,86%, respectivamente, em sua atividade. Há potencial das leveduras nos estudos realizados.

Palavras-chave: Enzimas. *Glycine max*. Indução de resistência.

Induction of phytoalexins glyceoline and defense-related proteins in cotyledons of soybean treated with leveruras

Abstract: To determine the defense enzymes, soybean seeds were sown and the cotyledons treated with sterile distilled water, *Cryptococcus laurentii* (AH03-1), *Pichia guilliermondii* (AH16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH14-3), *Sporidiobolus johnsonii* (AH16-1) and *Zygoascus hellenicus* (AH14-1). Biochemical analyzes of the formation of phytoalexins and the activity of the enzymes peroxidase, polyphenoloxidase, phenylalanine ammonia-lyase and total proteins were performed. For phytoalexins glycerolins the yeasts *C. laurentii* (AH03-1) and *Z. hellenicus* (AH14-1) promoted an increase of 83.65% and 78.75% in the formation of this compound. *Cryptococcus laurentii* (AH03-1) increased peroxidase activity by 36.84%, while for polyphenoloxidase, *P. guilliermondii* e yeasts (AH 16-2), *R. glutinis* (AH14-3), *S. johnsonii* (AH16-1) and *Z. hellenicus* (AH14-1), increased the activity of this enzyme by 33.33%, 28.00%, 33.33% and 33.33%, respectively. For phenylalanine ammonia-lyase, *C. laurentii* (AH03-1) and *Z. hellenicus* (AH14-1) promoted an increase of 75.57% and 78.86%, respectively, in their activity. There is potential of yeasts in the studies performed.

Keywords: Enzymes. *Glycine max*. Induction of resistance.

Introdução

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill), é uma cultura muito importante (Hirakuri e Lazzarotto, 2014), hospedeira de diversos patógenos que afetam tanto a produtividade quanto qualidade do produto final (Juhász et al., 2013).

Buscando diminuir as perdas por doenças utiliza-se os métodos de controle, sendo alguns classificados como alternativos (Carneiro et al., 2011) onde se enquadra a indução de resistência (Schwan-Estrada et al., 2008) responsável pela ativação de mecanismos latentes de defesa das plantas contra patógenos por tratamento com moléculas eliciadoras bióticas ou abióticas (Pascholati, 2011).

Dentre inúmeros indutores de resistência, pode-se citar a utilização de fungos (Medeiros et al., 2014) como as leveduras (Mello et al., 2011).

Vários mecanismos de defesa podem ser ativados como por exemplo as enzimas, como peroxidase, importante na lignificação celular, polifenoloxidase responsável por modificar fenóis em quinonas tóxicas e fenilalanina amônia-liase, predecessora da síntese de fenilpropanóides, comprometidos com a defesa das plantas, (Stangarlin et al., 2011) e uma das mais importantes na biossíntese de lignina e fitoalexinas (Kalaiarasan, 2009).

Outro exemplo seria a produção de fitoalexinas (Peiter-Beninca et al., 2008) que são compostos antimicrobianos (Paschoalati e Dalio, 2018) responsáveis por inibir a germinação do tubo germinativo e o crescimento micelial (Pascholati, 2011).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi investigar o potencial das leveduras na indução de fitoalexinas gliceolinas e sobre a atividade de peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase dos cotilédones

de soja tratados com diferentes leveduras.

Material e métodos

O ensaio para avaliação da indução de fitoalexinas gliceolinas e atividade das enzimas em cotilédones de soja foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Campus de Marechal Cândido Rondon – PR, sendo este mesmo laboratório o fornecedor das leveduras utilizadas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis tratamentos (água destilada estéril, *Cryptococcus laurentii* (AH 03-1), *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 16-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH 14-1)), e quatro repetições.

Sementes de soja do cultivar M5947 IPRO foram desinfestadas em álcool 70% e hipoclorito (3:1), em seguida, lavadas com água destilada corrente e semeadas em bandejas plásticas contendo areia autoclavada a 120 °C por 2 h. Foram realizadas regas diárias com água destilada e manteve-se, as bandejas, em câmara de crescimento por aproximadamente 10 dias.

Quando recém abertos, os cotilédones totalmente sadios foram destacados, lavados com água destilada, secos e na região abaxial foi realizada uma secção utilizando bisturi. Os cotilédones cortados foram dispostos dentro de placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada estéril sendo distribuídos cinco cotilédones por placa com os cortes voltados para cima. Sobre cada corte, aplicou-se uma alíquota de 20 µL dos tratamentos.

As placas de Petri foram mantidas no escuro, em BOD, à 25 °C durante 20 h. Após, os cotilédones foram

transferidos para frascos plásticos contendo 10 mL de água destilada estéril. Os frascos permaneceram a 150 rpm em agitador orbital por 1h para extração da fitoalexina gliceolina.

As leituras do sobrenadante foram realizadas a 285 nm em espectrofotômetro e os cinco cotilédones de cada repetição foram pesados em balança analítica.

Estes mesmos cotilédones foram triturados utilizando 4 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0) e nitrogênio líquido em almofariz de porcelana, sendo o homogeneizado centrifugado a 6.000 g por 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante armazenado a -20 °C para realização das análises bioquímicas.

Para a atividade de peroxidase utilizou-se a metodologia descrita por Hammerschmidt et al. (1982) através da mistura de 100 µL do sobrenadante e 900 µL do substrato para enzima, com leituras realizadas em espectrofotômetro durante 2 minutos a 470 nm.

Para determinar a atividade da polifenoloxidase, utilizou-se o método de Duangmal e Apenten (1999), misturando 900 µL do substrato para a enzima e 100 µL do sobrenadante. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm por 2 minutos. Tanto para peroxidase quanto para polifenoloxidase, os resultados foram expressos em absorbância $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína.

Para a atividade da fenilalanina amônia-liase realizou-se o método da quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato, conforme Umesha (2006), onde misturou-se 50 µL do sobrenadante a 450 µL de tampão Tris-HCl 0,025 M pH 8,8 e 500 µL de solução de L-fenilalanina 0,05 M sendo a mistura incubada em banho maria a 40 °C por 2 h, e em seguida adicionado 60 µL de HCl 5 M para cessar a reação. A leitura foi realizada em

espectrofotômetro a 290 nm. Os valores foram obtidos pela diferença da amostra e do controle.

Utilizou-se a metodologia de Bradford (1976), para determinação das proteínas totais importantes no cálculo das enzimas. Foram utilizados 200 µL do sobrenadante, 600 µL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0) e 200 µL de reagente de Bradford, sendo este último adicionado sob agitação. Após agitadas as amostras foram incubadas por 10 minutos e realizada a leitura a 595 nm em espectrofotômetro. As absorbâncias obtidas foram plotadas em curva padrão de albumina de soro bovino.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro utilizando o software livre Genes (Cruz, 2013).

Resultado e discussão

Para fitoalexinas, conforme Figura 1, as leveduras *Cryptococcus laurentii* (AH 03-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH 14-1) apresentaram-se diferentes estatisticamente da água, com valores de fitoalexinas gliceolinas respectivos ao aumento de 83,65% e 78,75% comparado a água.

Em estudo realizado por Stangarlin et al. (2010) utilizando as leveduras *S. cerevisiae* e *S. bouldardii* em cotilédones de soja, os autores encontraram valores de indução de fitoalexinas gliceolinas superiores para *S. bouldardii*, concluindo ser um indutor, porém, de acordo com os mesmos autores, isso não descarta a atividade eliciadora da *S. cerevisiae*, pois esta levedura apresenta componentes da parede celular que podem ser inativados com a autoclavagem, o que pode justificar a menor indução verificada.

Trabalhando com mesocótilos de sorgo, Stangarlin et al. (2010) também verificaram efeito indutor pela levedura

S. boulardii, supostamente devido a metabolitos liberados por elas. Wulff e Pascholati, (1998) estudando fitoalexinas em mesocótilos de sorgo

observaram aumento da quantidade deste composto utilizando como tratamento a levedura *S. cerevisiae*.

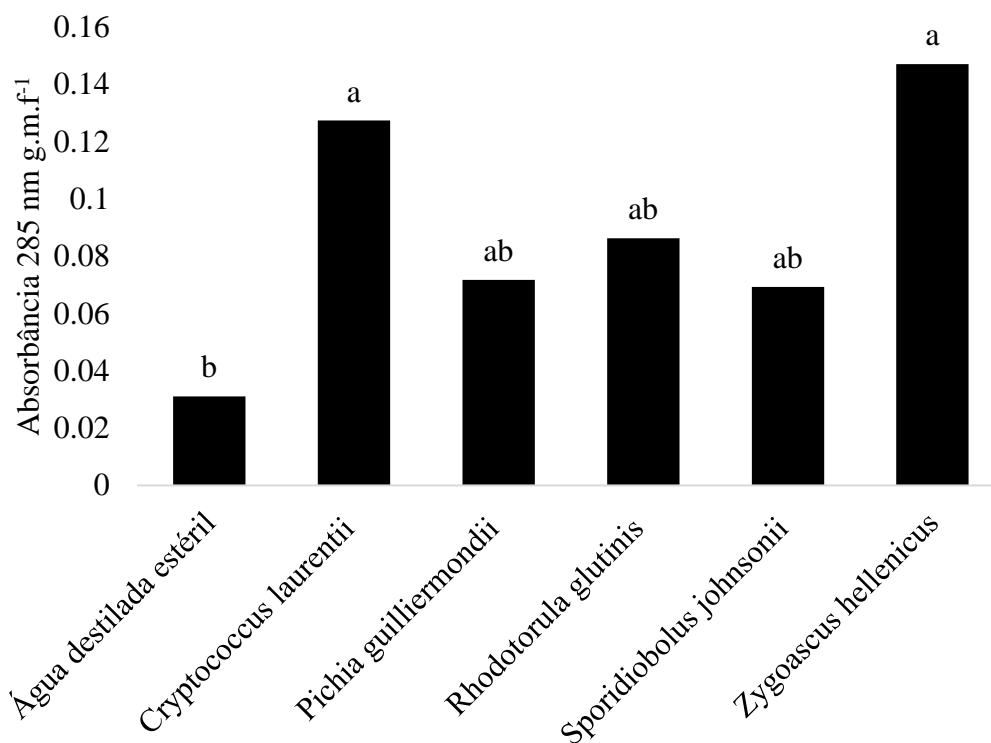


Figura 1. Indução de fitoalexina gliceolina em cotilédones de soja (*Glycine max*) tratadas com diferentes leveduras (*Cryptococcus laurentii* (AH 03-1), *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 16-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH 14-1)). *Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV= 18,37.

Em relação a atividade de peroxidase nos cotilédones de soja apenas a levedura *Cryptococcus laurentii* (AH 03-1) mostrou-se diferente estatisticamente da água, apresentando aumento de 36,84% comparado a ela, conforme a Figura 2.

De acordo com Viecelli et al. (2010), mudança na atividade da enzima peroxidase é referente a suscetibilidade ou resposta de resistência para inúmeros patossistemas. Resende et al. (2007) complementa a afirmação dizendo que esta enzima é incumbida de catalisar a oxidação de álcoois fenólicos à lignina, o

que provoca alterações na parede celular e promove maior resistência contra toxinas liberadas por patógenos.

Em estudo realizado por Formentini (2012), a atividade inicial desta enzima, pode estar relacionada com a pré-disposição a resistência. Este mesmo autor afirma que a atividade inicial desta enzima, pode estar relacionada com a pré-disposição a resistência e segundo Stangarlin et al. (2011) a modificação da atividade desta enzima pode indicar indução de resistência visto que as enzimas atuam preventivamente em prol da saúde da

planta, ou seja, impossibilitando que o patógeno transponha a parede celular.

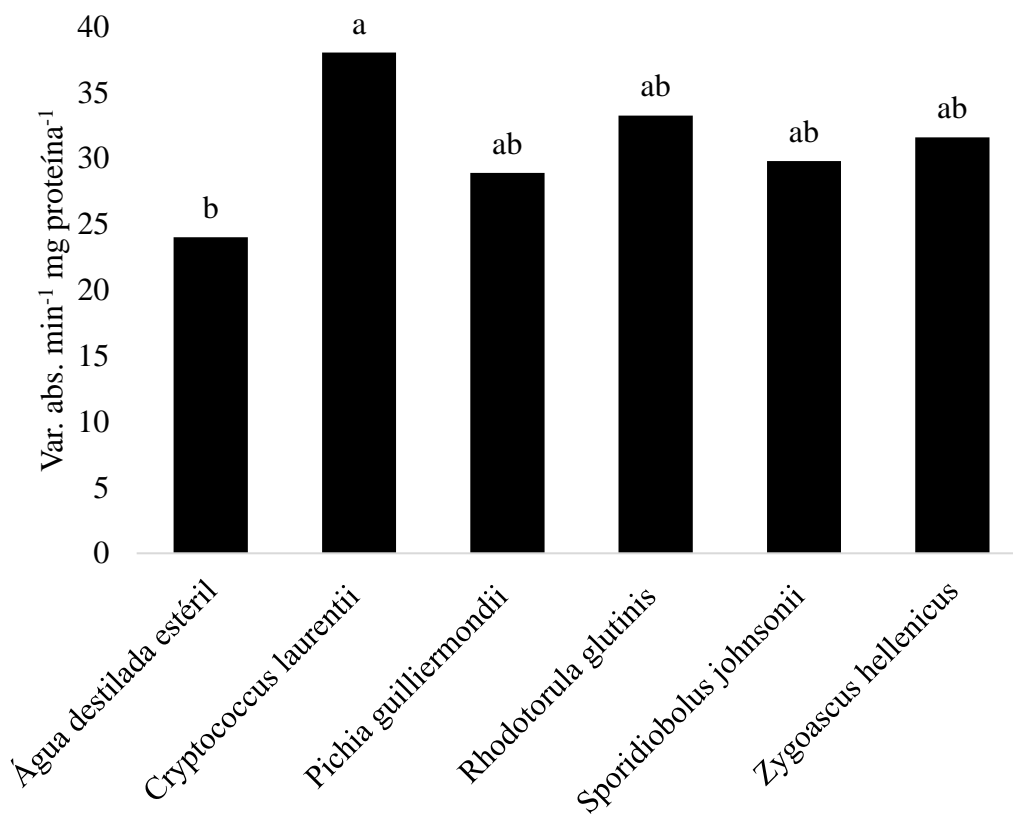


Figura 2. Atividade de peroxidase em cotilédones de soja tratados com diferentes leveduras (*Cryptococcus laurentii* (AH 03-1), *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 16-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH 14-1)). *Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV= 14,92.

Para polifenoloxidase, a atividade foi mais expressiva nos cotilédones tratados com as leveduras *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 16-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH 14-1), os quais apresentaram aumento de 33,33%, 28,00%, 33,33% e 33,33%, respectivamente, na atividade desta

enzima comparado ao tratamento água (Figura 3).

Em trabalho realizado por Khalid (2013), utilizando a levedura *S. cerevisiae* em plantas de feijão acometidas por *S. rolfisii* foi observado aumento de peroxidase e polifenoloxidase e conseqüentemente a redução da doença devido a indução de mecanismos de resistência.

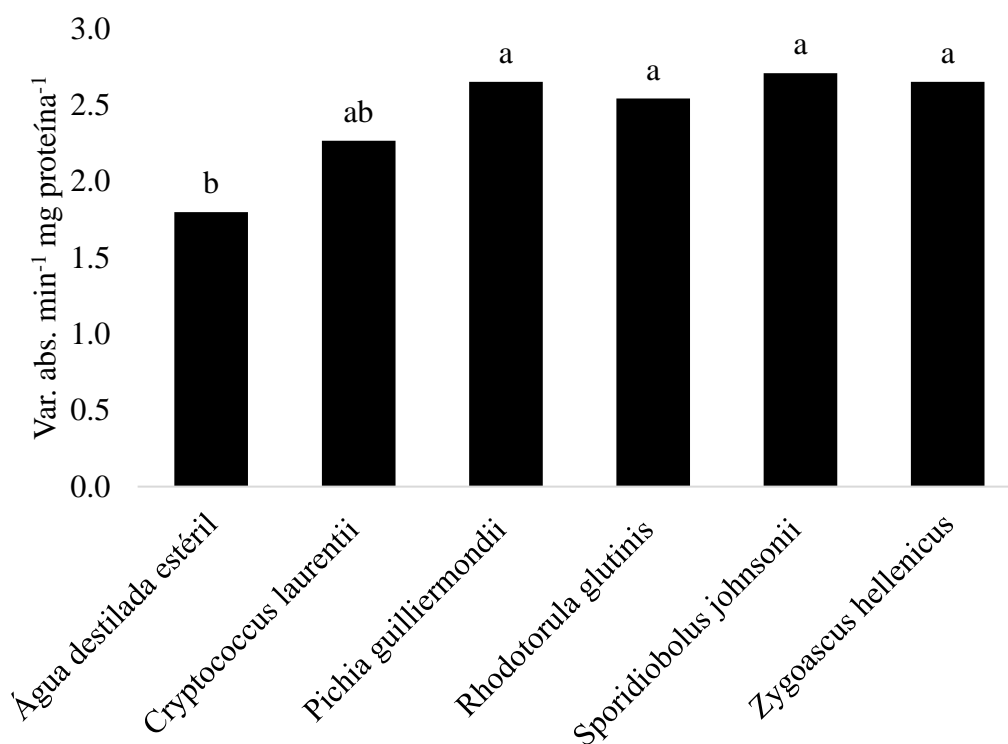


Figura 3. Atividade de polifenoloxidase em cotilédones de soja tratados com diferentes leveduras (*Cryptococcus laurentii* (AH 03-1), *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 16-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH 14-1)). *Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV= 12,33.

De acordo com a Figura 4, para a atividade de fenilalanina amônia-liase as leveduras *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3) e *Sporidiobolus johnsonii* (AH 16-1) mostraram-se iguais a água estatisticamente, enquanto que as leveduras *Cryptococcus laurentii* (AH 03-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH 14-1) apresentaram aumento de 75,57% e 78,86%, respectivamente, comprado ao

tratamento água, sendo diferentes estatisticamente.

Klessig e Malamy (1994) dizem que a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase elabora precursores para a biossíntese de lignina e outros compostos fenólicos que são depositados como reação a infecção, fato que demonstra a importância da atividade desta enzima e o quanto ela pode contribuir na indução de resistências.

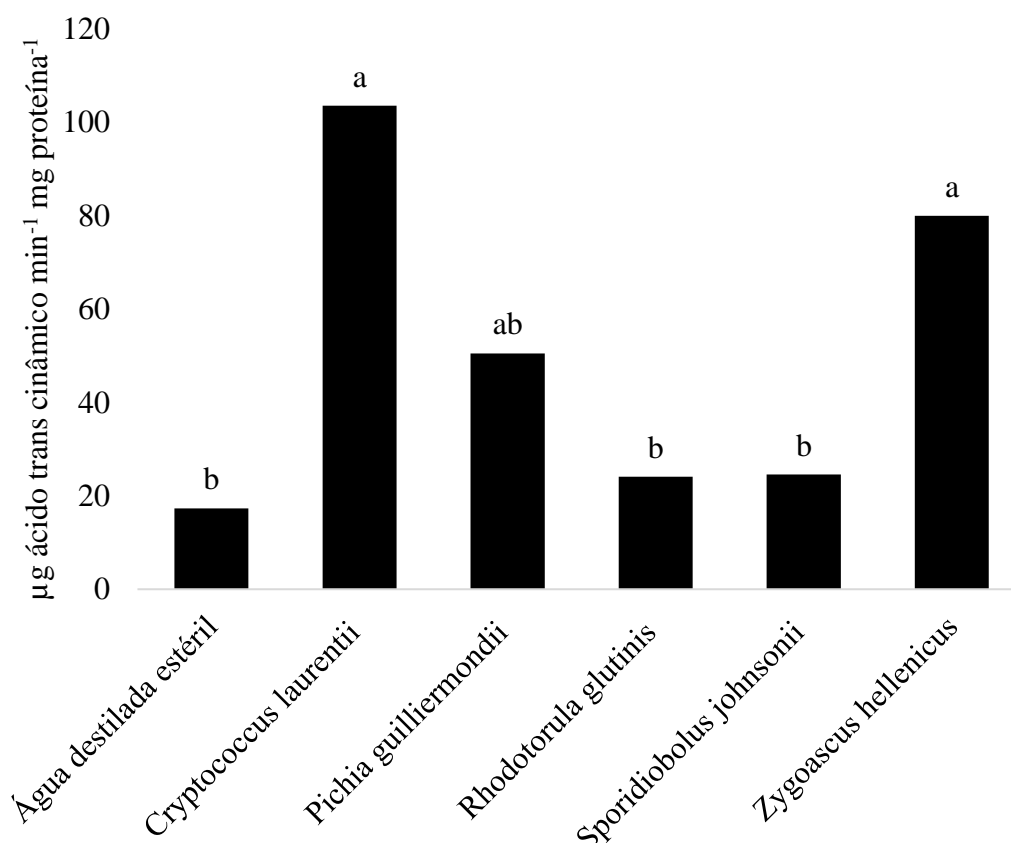


Figura 4. Atividade de fenilalanina amônia-liase em cotilédones de soja tratados com diferentes leveduras (*Cryptococcus laurentii* (AH 03-1), *Pichia guilliermondii* (AH 16-2), *Rhodotorula glutinis* (AH 14-3), *Sporidiobolus johnsonii* (AH 16-1) e *Zygoascus hellenicus* (AH 14-1)). *Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). CV= 36,36.

Segundo Barros et al. (2010), os biofertilizantes podem alterar a resistência sistêmica induzida e a resistência sistêmica adquirida, sendo que em sua composição estão as leveduras, o que demonstra a existência de potencial indutor de resistência presente nelas, sendo que Pascholati (1998) também descreve a existência de atividade eliciadora em leveduras.

Piccinin et al. (2005) observaram estudando *S. cerevisiae* propriedades na indução de resistência considerando esta levedura um eliciador. Em estudo realizado por Fialho et al. (2010) utilizando a levedura *S. cerevisiae*, também foi identificada a produção de compostos orgânicos voláteis antimicrobianos, a base de álcoois e

ésteres, podendo ter ação sobre mecanismos de defesa, indicando o potencial das leveduras na indução de resistência. Stangarlin e Pascholati, (1994) afirmam que as leveduras promovem a ativação das defesas dos vegetais devido a elicitação por compostos presentes nelas e Gouvea et al. (2007) também relatam a capacidade de indução de resistência das leveduras.

O aumento da atividade de certas enzimas provocado pelas leveduras pode ser positivo, pois de acordo com Romeiro e Garcia (2009), no momento em que a planta é exposta a um determinado eliciador preventivamente, ou seja, antes de ter o contato com um determinado patógeno, seus tecidos apresentam reação rápida e eficiente diante da

tentativa de colonização do patógeno, o que é vantajoso.

Conclusão

As leveduras são capazes de induzir a atividade de fitoalexinas gliceolinas, peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em cotilédones de soja revelando a ação de eliciadores presentes nestes fungos.

Referências

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5th ed San Diego: Elsevier Academic Press. p.207- 248, 2005.

BARROS, F.C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L.C.C.; JULIATTI, F.C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.26, n.2, p.231-239, 2010.

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.248-254, 1976.

C.C.A. **Ganho de função em plantas mediadas por bactérias e fungos**. In: SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; SILVA, C.M.; MAIA, A.J.; FARIA, C.M.D.R.; COLELLA, J.C.T. Indução de resistência em plantas a patógenos. Maringá: UEM/MPA, 2014. v.7, cap.6, p.93-120.

CARNEIRO, S.M.T.P.; TEIXEIRA, M.Z.; NECHAR, R.M.C.; LONNI, A.A.; RODRIGUES, M.R; FILIPPSEN, L. **Homeopatia: princípios e aplicações na agroecologia**. Londrina: IAPAR, 2011.

CRUZ, C.D. Genes: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**.

Agronomy, Maringá, v.35, n.3, p.271-276, 2013.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, London, v.64, p.351-359, 1999.

FIALHO, M.B.; TOFFANO, L.; PEDROSO, M.P.; AUGUSTO, F.; PASCHOLATI, S.F. Volatile organic compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* inhibit the *in vitro* development of *Guignardia citricarpa*, the causal agent of citrus black spot. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.26, n.5, p.925-932, 2010.

FORMENTINI, H.M. **Avaliação de indutores de resistência biótico, abiótico e extratos vegetais no controle de *Meloidogyne incognita* em tomateiro**. Tese (Doutorado em Agronomia). Marechal Cândido Rondon PR. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2012.

GOUVEA, A.; MAZZARO, S.M.; POSSENTI, J.C.; dos SANTOS, I.; STANGARLIN, J.R. Controle biológico de doenças em plantas pelo uso de leveduras. In: MARTIN, T.N.; MONTAGNER, M.M. (Ed.). **Sistemas de produção agropecuária**. Dois Vizinhos: Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2007. p.156-169.

HAMMERSCHIMIDT, T.R.; NUCLES, E.M.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, Berlin. Springe, v.20, p.73-82, 1982.

HIRAKURI, M.H.; LAZZAROTTO, J.J. **O agronegócio da soja nos contextos**

- mundial e brasileiro.** Documentos 349, Londrina: Embrapa Soja, 2014. 70p.
- JUHÁSZ, A.C.P.; PÁDUA, G.P.; WRUCK, D.S.M.; FAVORETO, L.; RIBEIRO, N.R. Desafios fitossanitários para a produção de soja. Defesa vegetal e sustentabilidade do agronegócio. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.34, n.276, p.66-75, 2013.
- KALAIARASAN, P. Biochemical markers for identification of root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) resistance in tomato. **Journal of Agricultural Sciences**, v.22, n.3, p. 471-475, 2009.
- KHALID, E.E. Biological control of bean damping-off caused by *Sclerotium rolfsii*. Egypt. J. **Phytopathology**, v.42, 2013.
- KLESSIG, D.F.; MALAMY, J. The salicylic acid signal in plants. **Plant Molecular Biology**, Zurich, v.26, p.1439-1458, 1994.
- MEDEIROS, F.H.V.; MONTEIRO, F.P.; FREITAS, M.A.; MARTINS, S.J.; RODRIGUEZ, G.A.; LABORDE, M.C.F.; FARIA, M.R.; PEREIRA, P.F.; NOGUEIRA, MELLO, M.R.F.; SILVEIRA, E.B.; VIANA, I.O.; GUERRA, M.L.; MARIANO, R.L.R. PASCHOLATI, S. F.; DALIO, R. J. D. Fisiologia do parasitismo: Como as plantas se defendem dos patógenos. In: Amorim, L.; Resende, J. A. M.; Bergamin Filho, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 5. ed. Ouro fino: Agronômica Ceres, p. 423-452, 2018.
- PASCHOLATI, S.F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Org.). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres. 4. ed. v.1, 2011. p.593-636.
- PASCHOLATI, S.F. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos**. 1998. 123 f. Tese (Livre Docência). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1998.
- PEITER-BENINCA, C.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; IURKIV, L.; ECKSTEIN, B.; COSTA, V.; NOGUEIRA, M.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de fitoalexinas e atividade de peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus*. **Arquivo Instituto Biológico**, v.75, p.285-292, 2008.
- PICCININ, E.; DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na produtividade de sorgo e na severidade de doenças foliares no campo. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.1, p.5-9, 2005.
- RESENDE, M.L.V.; BARRETI, P.B.; MEDEIROS, F.C.L.; SILVA, D.D. da; PEREIRA, R.B.; LINS, S.R.O.; PEREIRA, L.M.; CAMPOS, M.A. Percepção e transdução de sinais para a ativação de respostas de defesa em plantas contra patógenos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.15, p.173-242, 2007.
- ROMEIRO, R.S.; GARCIA, F.A.O. Indução de resistência em plantas a patógenos por eliciadores de natureza bacteriana. In: **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna, Capítulo 6, p.85-100, 2009.
- SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.;

- STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**, Piracicaba: FEALQ, p.227-248, 2008.
- STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWANESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.10, p.18-46, 2011.
- 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.; SCHULZ, D.G.; FRANZENER, G.; ASSI, L. SCHWANESTRADA, K.R.F.; KUHN, O.J. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p.91-98, 2010.
- UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Rehovot, v.34, n.1, p.68-71, 2006.
- Uso de antibióticos e leveduras para controle da podridão-mole em couve-chinesa. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v.29, n.1, p.78-83, 2011.
- VIECELLI, C.A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.1, p.73-80, 2010.
- WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Preparações de *Saccharomyces cerevisiae* elicitoras de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. **Scientia Agricola**, v.55, n.1, p. 138- 143, 1998.