

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE AGRONOMIA
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

ALINI MARIA HARTMANN

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE TOMATEIRO PELO USO DE
ELICITORES**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2015

ALINI MARIA HARTMANN

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE TOMATEIRO PELO USO DE
ELICITORES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof.Dr. Sergio Miguel Mazaro

DOIS VIZINHOS

2015



TERMO DE APROVAÇÃO

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE TOMATEIRO PELO USO DE ELICITORES

por

ALINI MARIA HARTMANN

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em 24 de novembro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro
Prof. Orientador

Prof. Dra. Dalva Paulus
Membro titular

Prof. Dr. Álvaro Rodrigo Freddo
Membro titular

Prof. Dra. Angélica Signor Mendes
Responsável pelos Trabalhos
de Conclusão de Curso.

Prof. Dr. Laércio Ricardo Sartor
Coordenador do Curso de Agronomia
UTFPR – Dois Vizinhos

Dedico este trabalho as pessoas mais importantes da minha vida: minha família e a minha companheira Marga, pelo o amor, a confiança, o apoio, e as orações, confiadas a mim!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, minha fonte de vida e força maior, que me cobre diariamente com suas bênçãos, me guiando e fortalecendo diante das dificuldades da vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro, pessoa quem tenho orgulho e profunda admiração, que me oportunizou a realizar esse trabalho orientando-me com segurança, apoio e incentivos.

Ao Prof. Dr. Flávio Endrigo Cechin, Prof. Dr. Álvaro Rodrigo Freddo e a Prof. Dr^a. Dalva Paulus pela atenção, cordialidade e sugestões que sempre me foram dadas. Aos demais professores que contribuíram e agregaram com conhecimento, experiências e valores a minha formação.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pelo incentivo e auxílio financeiro para a elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos queridos por toda paciência, carinho e apoio permanente, pela amizade e compreensão da minha ausência.

A todos aqueles colegas e amigos que direta e indiretamente contribuíram para a realização desta Monografia em especial a Thyara Hilmann pela amizade, o compenherismo e toda ajuda, prestada nos momentos bons e difíceis ao longo desses cinco anos que convivemos juntas.

Ao grupo PET - Agricultura Familiar Saberes e Fazeres da Vida no Campo por tudo o que me proporcionou nesta caminhada, Aos colegas de Laboratório de Fitopatologia, pela ajuda prestada em todas as etapas deste trabalho.

Aos meus pais Nelson e Marilei que estiveram ao meu lado, incentivando-me com bons exemplos e palavras. Meus irmãos Eliane, Leandro e Fernando (*in memorian*), que de uma forma ou de outra contribuíram com a minha formação profissional e humana. Aos meus amados sobrinhos Gabriel, Isabelly, Willian, Heloísa, Laura, João Marcelo e João Manuel que são minhas alegrias de viver. A minha vó Brasília (*in memorian*), meu exemplo de vida, e superação.

Em especial a minha companheira Marga uma pessoa com quem amo partilhar a vida e sou imensamente grata pelo auxílio constante, por todo amor, dedicação, carinho e respeito, a mim dispensada. Sua presença constante na minha vida, me dá força e muitas vezes me mostra os bons caminhos para onde seguir.

A vocês, minha família muito obrigada pelo amor, carinho e amizade. Amo vocês.

EPÍGRAFE

Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível. Charles Chaplin.

RESUMO

HARTMANN, Alini Maria **Indução de Resistência em Plantas de Tomateiro pelo uso de Elicitores** 2015. 55f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

Diante da preocupação com a segurança alimentar e a demanda mundial por alimentos com baixo residual agroquímico têm estimulado pesquisas com foco em métodos alternativos no manejo de doenças. A ativação dos mecanismos de defesa com o uso de elicitores vem demonstrando ser uma alternativa viável e promissora. Objetiva-se por meio desta pesquisa avaliar o potencial de indução de resistência de elicitores abióticos na defesa de plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill), a pinta preta (*Alternaria solani*), bem como, verificar por meio de atividades de enzimas relacionadas à patogenicidade (PRPs) a ativação da Resistência Sistêmica Adquirida (RSA). Os tratamentos foram: Fertilizante Foliar a base de fosfito de cobre (0,002%); Acibenzolar-S-Metil (0,005%), Ácido salicílico (0,013%), Óleo essencial de Pitangueira (1%), e a testemunha (água destilada), no delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. As plantas de tomateiro foram acondicionadas em vasos de polietileno de 1 litro, contendo substrato comercial Tecnomax®, e mantidas em ambiente controlado (temperatura média de 23°C e fotoperíodo de 12 horas). Os vasos foram identificados, e duas folhas representativas, sendo uma basal e outra na porção mediana das plantas foram marcadas, e isolou-se a folha basal, aplicando-se os tratamentos por aspersão. Após vinte e quatro horas foi inoculado *Alternaria solani* em toda a planta por microaspersão. Realizaram-se coletas de materiais vegetais para as análises bioquímicas, nas folhas marcadas nos intervalos de 0, 48, 96, 172 horas para determinação do comportamento das PRPs, sendo fenilalanina amônia-liase (FAL) quitinases e β 1,3 glucanase. No final do experimento, 38 dias, foram avaliadas a incidência, a severidade e determinado a intensidade da doença nas plantas e sua relação com a atividade das PRPs. Os indutores interferiram nos parâmetros relacionados à quantificação de doenças na cultura do tomateiro, sendo que os produtos ASM e óleo de pitangueira apresentaram menor incidência de doenças, no entanto não diferiram da testemunha.

Os resultados demonstraram potencial dos produtos avaliados na ativação de mecanismos relacionados à defesa vegetal a patógenos, no entanto somente o tratamento com AS permite afirmar que ocorreu o processo de ativação da resistência sistêmica adquirida nas plantas de tomateiro. Tal afirmação pode ser considerada pelo fato do tratamento com AS ter ativado a enzima β 1,3 glucanase nas folhas medianas em relação às basais.

Palavras-chave: Resistência Sistêmica Adquirida. Pitangueira. Controle alternativo.

ABSTRACT

HARTMANN, Alini Maria **Inducing Resistance in Tomato Plant by use of Elicitors 2015** 55F. Work of conclusion of course (Graduate in Agronomy)-Federal Technological University of Paraná. Dois Vizinhos, 2015.

Given the concern with food safety and the global demand for food with low agrochemical residual have spurred research focusing on alternative methods in disease management. The activation of defense mechanisms with the use of elicitors comes proving to be a viable alternative and promising. Objective by means of this research to evaluate the potential of inducing resistance to abiotic elicitors on the defense of tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill), the black paint (*Alternaria solani*), as well as, check through the activities of enzymes related to pathogenicity (PRPs) Systemic Acquired Resistance activation (RSA). The treatments were: Foliar fertilizer based on copper phosphite (0,002%); Acibenzolar-S-Methyl (0,005%), Salicylic acid (0,013%), Surinam cherry essential oil (1%), and the witness (distilled water) in the experimental design entirely casualizado, with four replicates. The tomato plants were placed in 1 liter polyethylene vessels, containing commercial Tecnomax® substrate, and kept in a controlled environment (average temperature of 23oC and photoperiod of 12:00). The vessels were identified, and two representative leaves, being a basal and another in the median portion of the plants were marked, and isolated the basal leaf, applying the spray treatments. After 24 hours was inoculated *Alternaria solani* in the whole plant equipment. There were collections of plant material for biochemical analyses, the leaves are marked in the intervals of 0, 48, 96, 172 hours to determine the behavior of PRPs, and phenylalanine ammonia-lyase (FAL) quitinases and β 1.3 glucanase. At the end of the experiment, 38 days, been evaluated the incidence, severity and given the intensity of the disease in plants and its relation with the activity of PRPs. Inductors interfered in the parameters related to the quantification of diseases on tomato culture, and the ASM products and Surinam oil showed reduced incidence of diseases, however did not differ from the witness.

The results showed potential of products evaluated in the activation of defense-related mechanisms the plant pathogens, however only the treatment allows to assert that the activation process of systemic acquired resistance in tomato plants. Such a claim can be considered that the treatment with the enzyme β have triggered 1.3 glucanase in the leaves in relation to basal medium.

Keywords: Systemic Acquired Resistance. Surinam Cherry. Alternative control.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	10
1.1. OBJETIVOS	11
1.1.1 Objetivo Geral	11
1.1.2 Objetivo Específico.....	11
2.REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 ASPECTOS GERAIS DO TOMATEIRO	12
2.2 PINTA-PRETA – (<i>Alternaria solani</i>)	13
2.3 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA	14
2.4 RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA	15
2.5 ÁCIDO SALICÍLICO	16
2.6 ÓLEO ESSENCIAL DE PITANGUEIRA – (<i>Eugenia uniflora</i> L.)	17
2.7 FOSFITO DE COBRE (FCU).....	19
2.8 ACIBENZOLAR-S-METIL (ASM)	19
3.MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO	21
3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DOS PATÓGENOS	21
3.3 PROCEDIMENTOS	21
3.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	25
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO EXPERIMENTO	26
4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1 AÇÃO DOS ELICITORES SOBRE O COMPORTAMENTO DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE DOENÇA	27
4.2 POTENCIAL DOS ELICITORES NA ATIVAÇÃO DAS ENZIMAS DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA	32
4.3 POTENCIAL DOS ELICITORES NA INDUÇÃO DA RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA	38
5.CONCLUSÃO.	41
6.REFERÊNCIAS	42

1. INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.), planta originária dos países andinos, é uma das hortaliças mais cultivadas no mundo (FILGUEIRA, 2008). É uma cultura de grande valor produtivo e econômico para o Brasil, sendo a segunda hortaliça mais cultivada (GUIMARÃES, 2013, p.05).

O tomateiro além de apresentar alta capacidade produtiva, possui também um amplo histórico de problemas ligados à suscetibilidade a fitopatógenos, exigindo intenso manejo fitossanitário durante todo o ciclo de cultivo, no intuito de amenizar as perdas na produtividade. Tal fato lhe confere uma posição entre as seis principais espécies no setor agrícola que mais consomem produtos fitossanitários (AGRIANUAL, 2013. p.458).

Dentre o complexo de fitopatógenos presentes nos cultivos brasileiros de tomate, destaca-se a pinta preta, uma das principais doenças da cultura, apresentando alto potencial destrutivo, pois incide sobre folhas, hastes, pecíolos e frutos, ocasionando elevados prejuízos econômicos. O fungo *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L.R. Jones e Groul (1896), o agente causal da doença, sobrevive em restos culturais e infecta ainda outras hortaliças, principalmente as solanáceas (TOLEDO; STANGARLIN; BONATO, 2009, p.70; LUCAS, 2012, p.13-43).

No controle das doenças do tomateiro vêm-se tomando medidas de controle baseadas no uso abusivo, indiscriminado de produtos químicos, que propiciam a poluição ambiental, seleção de patógenos resistentes, altos custo de investimentos na cultura, impactando negativamente sobre a renda familiar e principalmente sobre a segurança alimentar (FRANZENER et al., 2007, p.30; LUCAS, 2012, p.12).

Diante dessa problemática, busca-se então, novos modelos de produção, embasado nos princípios do controle alternativo de doenças, dessa forma minimizando os impactos negativos resultante do manejo fitossanitário inconsciente sobre o ambiente e os seres vivos de maneira geral. Uma produção de alimentos mais saudáveis, isentos de resíduos tóxicos, vem sendo enfatizada nos últimos anos, através do uso de estratégias de controle biológico, uso de produtos naturais com atividade antimicrobiana e/ou elicitores bióticos e abióticos de indução de resistência em plantas (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2003).

A utilização de óleos essenciais pode ser uma alternativa no manejo de doenças, considerando o potencial dos mesmos na ativação de mecanismos de defesa latentes,

existentes no metabolismo da planta, que podem estimular a síntese de lignina, fitoalexinas, acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese, reações de hipersensibilidade, entre outras capazes de atuar no controle de fitopatógenos (RODRIGUES; NETO; COELHO, 2006; TAVARES; LARANJEIRA; LUZ, 2009; STANGARLIN et al., 2010).

Além de óleos essenciais, diversos produtos de origem biótica e abiótica vêm demonstrando potencial como indutores de resistência. Entre, eles alguns fertilizantes foliares, que indicados no processo de complementação nutricional, demonstraram ação e potencial na indução de resistência. Tais produtos vêm sendo descritos com ação de cofatores de enzimas que atuam no metabolismo de defesa das plantas (AMARAL, 2008, p.02).

No Brasil o único produto registrado como indutor de resistência é o Acibenzolar-S-Metilico (ASM), com ação na ativação de rotas metabólicas relacionadas à defesa vegetal, com destaque na ativação das enzimas relacionadas a patogenicidade. Tal ingrediente ativo serve de referência comparativa no estudo de novos produtos com potencial de indução de resistência.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1 - Objetivo Geral

Avaliar o potencial dos elicitores de resistência no controle da pinta preta do tomateiro e seus potenciais na ativação da Resistência Sistêmica Adquirida.

1.1.2 - Objetivo Específico

- ✓ Avaliar o potencial dos elicitores sobre o controle da pinta preta em tomateiro;

Avaliar o potencial dos elicitores na ativação de enzimas relacionadas à patogenicidade e o seu potencial de ativação da resistência sistêmica adquirida.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS DO TOMATEIRO

O tomate é uma das espécies de maior importância mundial, pois está relacionado a diversos segmentos da cadeia produtiva para atender a demanda de mercado. (SILVA & GIORDANO, 2000, P. 08-11; PAULA, 2013, p.06).

É uma das oleráceas mais difundidas, sendo cultivado nas mais diferentes latitudes geográficas do planeta, sendo China, Índia e Estados Unidos da América os principais produtores, mundiais, com destaque entre os principais cultivos de hortaliças no Brasil, devido a sua importância econômica para o país, na comercialização *in natura* e no processamento industrial (GRAÇA, 2013, p.1-6).

No Brasil o tomate tem potencial produtivo em todos os estados brasileiros, sendo os principais estados produtores de tomate, Goiás, Minas Gerais e São Paulo. A cultura do tomate, além de ser um importante fruto na alimentação humana é também uma fonte de renda de muitas propriedades rurais na sua maioria provenientes da agricultura familiar, dando-se aí a sua importância econômica, produtiva e alimentar. Em 2015, o Brasil produziu cerca de 3,47 milhões de toneladas de tomate numa área de 55,01 mil hectares, com uma produtividade média de 63,03 toneladas por hectare (IBGE, 2015).

O tomate é uma dicotiledônea, que pertence à ordem Tubiflorae, família Solanaceae, do gênero *Solanum* e espécie *Lycopersicon esculentum* Mill, (SPOONERET al., 2005), planta originária da espécie andina selvagem *L. esculentum* variedade cerasiforme. (FILGUEIRA, 1982).

A planta do tomateiro é autógama, perene de comportamento anual, com ciclo cultural variando conforme a cultivar escolhida e as condições ambientais em que é exposta. É uma planta herbácea, arbustiva com desenvolvimento na forma ereta, semiereta ou rasteira podendo ser de hábito de crescimento indeterminado e determinado, de caule piloso, flexível, pouco resistente ao suporte do peso dos frutos, necessitando de tutoramento e poda (FILGUEIRA, 2008; GRAÇA, 2013, p.2-13).

Esta olerácea possui boa ramificação lateral, com folhas alternadas ovais, oblongas, flores hermafroditas dispostas em cachos simples ou composto, o fruto é uma baga que varia em formato, peso, número de lóculos, succulência, carnosidade de acordo com a cultivar, o sistema radicular constitui-se de raiz principal, secundárias e adventícias, (ALVARENGA, 2013, p.16).

De modo geral, durante o seu ciclo apresenta 5 a 7 dias de período germinativo, o florescimento após 45 dias da semeadura, e maturação, a partir dos 60 dias. Em plantas de hábito de crescimento indeterminado a colheita é prolongada por mais tempos, pois o processo de florescimento, frutificação e crescimento da planta é contínuo, diferente das plantas de hábito determinado, que os frutos amadurecem na mesma época, com uma ou duas colheitas (ALVARENGA, 2013, p. 49- 59).

Além do mais, o cultivo do tomateiro é oneroso de constante manejo sanitário, em virtude de uma gama de doenças que atacam a cultura em seus diferentes estádios fenológicos, podendo comprometer totalmente a produtividade, caso não ocorra um manejo integrado de monitoramento e controle de patógenos.

2.2 PINTA-PRETA – (*Alternaria solani*)

O agente causal *Alternaria solani* (ELL. & Martin) Jones & Grout, é responsável pela ocorrência de uma das principais doenças foliares do tomateiro, a pinta preta ou mancha de *Alternaria*, frequentemente presentes na tomaticultura brasileira (ABREU, 2006, p.3-6).

Os níveis de perdas na cultura podem chegar a 100%, dependendo de fatores, como a escolha de cultivares não resistentes, manejo cultural, presença do patógeno *in loco*, a época de incidência e níveis de severidade da doença. As condições ambientais de temperatura e umidade elevadas (24-29°C) são consideradas ótimas para o desenvolvimento da doença (LUCAS, 2012, p.14).

A doença é considerada policíclica ocorre em plantas de cultivares e híbridos, manifestam-se nas hastes, folhas e frutos em qualquer estágio de desenvolvimento da planta. Sendo comumente visualizados nas folhas mais velhas no terço inferior da haste os primeiros sintomas de infecção, com a presença de lesões aneladas e concêntricas de coloração pardo-escuras, comumente com a presença de halo amarelado na extremidade, ocorrendo seca das

folhas em ataques severos. No caule, as lesões são alongadas e circulares com anéis concêntricos evidentes, porém nos cálices das flores e frutos as lesões de anéis concêntricos irregulares, manchas escuras, próximas ao pedúnculo (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004; p.23; ABREU, 2006, p.3-6; PEREIRA; CARVALHO; PINHEIRO, 2013, p. 05).

O fungo *A. solani* pode estar presente em restos culturais, principalmente em plantas hospedeiras da família Solanaceae, como também em sementes infectadas. A presença nas sementes perite já na fase de produção de mudas a manifestação da doença, na pré e pós-emergência promovendo o tombamento e morte das plântulas (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004, p.26; ABREU, 2006, p.5).

Devido à agressividade em que se desenvolve a doença, promove um desequilíbrio na planta, provocando a redução da área foliar, do vigor, conseqüentemente quebra das hastes, e queda dos frutos podendo levar a planta morte (TÖFOLI; DOMINGUES, 2004, p.23).

2.3 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

As plantas possuem barreiras de proteção contra patógenos (TAIZ; ZEIGER, 2004). Essas barreiras de resistência conferem a planta fatores pré-formados, que estão presentes no metabolismo vegetal antecedentes ao contato com o patógeno, como também, fatores pós-formados, após a infecção pelo patógeno, gerando assim, uma resposta de defesa vegetal. Ambos podem ser classificados como compostos estruturais, servindo de barreiras físicas, ou bioquímicas, pela sintetização de substâncias tóxicas, não atrativas, antagônicas ao desenvolvimento dos patógenos (PASCHOLATI; LEITE, 1994; MAZARO, 2007, P. 09).

A planta também requer um gasto energético para alocar esses recursos de produção de defesa vegetal, independente da presença do patógeno. Esse gasto energético deve ser adaptativo, para que seja recompensatório e não reflita negativamente na sua produtividade (KHUN, 2007, p.97).

As plantas também são altamente responsivas a ação dos fitopatógenos, através da ativação de seus mecanismos de defesa que até então estavam latentes, envolvendo alterações importantes no aumento na atividade de enzimas chaves do metabolismo vegetal, como por exemplo, as peroxidases, polifenoloxidasas, quitinases, β -1,3-glucanases, de síntese de

Proteínas-RP relacionadas à patogênese e aumento de clorofila (WALTERS; NEWTON; LYON 2007; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008).

Os teores de proteínas solúveis presentes no tecido vegetal é o indicativo que ocorreu a ativação dos mecanismos de defesa, que pode ter sido tanto pela ação do patógeno, quanto pela aplicação de algum elicitor biótico ou abiótico. Os elicitores podem induzir a resistência local adquirida (RLA), a resistência sistêmica induzida (RSI) ou a resistência sistêmica adquirida (RSA) (TERRY; JOYCE, 2004).

Desta forma, verifica-se a importância de fazer a avaliação de análises bioquímicas do material vegetal dos tratamentos, para comprovação da presença destas enzimas chave, considerando-se também possíveis alterações nos aspectos fisiológicos da planta e as funcionalidades do metabolismo primário em conjunto com o secundário, agindo de forma complexa na proteção vegetal (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008).

2.4 RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA

A Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) é um mecanismo de defesa vegetal, induzido por elicitores bióticos, abióticos e até mesmo pela infecção causada pelo agente causal (DURRANT; DONG, 2004). O tempo de estabilidade dessa RSA, varia de acordo com a planta e o tipo de elicitor utilizado, porém uma vez estabilizada em função da aplicação e da concentração do elicitor em relação ao tempo de inoculação do patógenos, a virulência deste e os fatores ambientais adequados, contribuem para uma RSA ativa por semanas (GUZZO, 2004, p. 10).

O processo de RSA a nível molecular engloba um expressivo número de genes relacionados à patogenicidade, que são ativados quando ocorre a interação dos patógenos com a planta, promovendo a compatibilidade, em que a planta fica susceptível ao ataque ou a incompatibilidade em que a planta dá respostas bioquímicas de resistência sobre os microorganismos (HEIL; BOSTOCK, 2002). Uma interação de incompatibilidade é suficiente para que ocorram respostas bioquímicas e consequentemente o início da ativação de genes de defesa, através dos processos de percepção, transdução e tradução do sinal (BOSTOCK, 2005).

A RSA pode ou não estar relacionada a uma resposta de hipersensibilidade (RH) (IRITI; FAORO 2003). Apesar da RH ser uma das mais importantes repostas de defesa vegetal, o acúmulo de fitoalexinas que podem atuar na resistência local e a síntese de enzimas hidrolíticas degradadoras da parede celular de fungos e assim como a síntese de proteínas RP ligadas a patogenicidade de ação local e sistêmica (HEIL; BOSTOCK, 2002). Também são considerados mecanismos importantíssimos de defesa da planta, que podem ocorrer sem a necessidade da ocorrência de resposta de hipersensibilidade (LAMB; LAWTON; DRON; DICSON; 1989; HEIL; BOSTOCK, 2002).

2.5 ÁCIDO SALICÍLICO

O Acido Salicílico (AS), pertencente ao grupo dos compostos fenólicos, encontra-se disponível nas plantas de forma endógena, com distribuição nas folhas e estruturas reprodutivas, desempenhando funções importantes como regulador de crescimento, no desenvolvimento, amadurecimento e senescência do vegetal (DU; ALI.; SIMONS; et al. 2009). No entanto estão sendo testadas formas de aplicação exógena, para avaliar seu potencial no controle de doenças e na indução de respostas de defesa vegetal.

O AS é um composto fenólico, com potencial como indutor de resistência contra fitopatógenos. O AS é transportado via floema para as partes não infectadas da planta, atuando como um sinalizador não somente para a planta que esta sendo atacada, como também, emite sinais para as plantas vizinhas, sendo que sua principal forma química é o metil salicilato (TAIZ; ZEIGER, 2004).

A rota biossintética do ácido salicílico inicia-se com a conversão da fenilalanina a ácido *trans*-cinâmico, que é catalisada pela enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). Sendo a primeira etapa dentro da via dos fenilpropanóides, fornecedores dos precursores dos compostos fenólicos, lignina e fitoalexinas (SILVA, 2007, p.97).

A partir dessa conversão, o ácido transcinâmico segue duas vias. Um das vias vai formar o ácido benzóico que sofrerá a ação da enzima ácido benzóico 2-hidroxilase, convertendo para ácido salicílico (AS). Na outra, o ácido transcinâmico é hidroxilado a ácido 2-cumárico que é, então, oxidado a AS (STRACK, 1997). Porém, estudos elucidam que a via

principal de formação do AS é a que forma o ácido benzóico (VERNOOIJ; UKNES; WARD., 1994).

O AS aplicado de forma exógena também é responsável por dar uma resposta de hipersensibilidade (RH), promovendo a morte programada das células em torno da lesão e restringindo água e nutrientes vitais para patógenos biotróficos (MAZARO, 2007, p.57). Através da Resistência Sistêmica Adquirida (RSA), que se encontra uma forma de controlar os mecanismos de resistência atuando na expressão de genes e na síntese de proteínas-RP (CAMPOS, 2009, p.12), relacionadas à patogênese, sendo que muitas destas atuam na atividade antifúngica e antibacteriana *in vitro*, como por exemplo, quitinases e glucanases, como também, compostos fenólicos em outras partes da planta distantes da infecção, atuando então a RSA (BORSATTI, 2014, p.35).

A degradação de polissacarídeos estruturais ou alterações da parede celular de fungos, pelas enzimas proteínas-RP, interferem negativamente no desenvolvimento e crescimento destes (ZAREIE et al., 2002, p1032; BORSATTI, 2014, p.35). Além disso, a ação oxidativa de componentes da parede celular, chamada de peroxidase, ou o envolvimento na transdução de sinais durante a “interação patógeno-hospedeiro” é considerada ações de prevenção à penetração de patógenos (STANGARLIN; KUHN; TOLEDO, 2011 p.28).

2.6 ÓLEO ESSENCIAL DE PITANGUEIRA – (*Eugenia uniflora* L.)

Tendo em vista a importância da fitossanidade na agricultura, associado aos problemas do uso indiscriminado de químicos sintéticos, impactantes sobre a saúde humana e ecossistemas, faz com que se preconize cada vez mais o uso de produtos alternativos no controle fitossanitário. Os óleos essenciais podem ser uma alternativa de controle de fitopatógenos, devido ao potencial bioativo dos metabólitos secundário presentes na sua composição química, com potencial de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos (THORMAR, 2012, p.168).

Algumas plantas utilizadas na alimentação humana, bem como seu uso efetivo na medicina popular estão sendo amplamente utilizadas para a extração de óleos essenciais, devido apresentarem grande potencial em atividades antimicrobianas e biológicas. Essa grande diversidade de constituintes na composição dos óleos essenciais pode atuar de forma

sinérgica ou com ação fungicida ou fungistática sobre um determinado patógeno (SILVA, 2010, p. 38).

Nas plantas o óleo essencial é produzido em sítios no interior celular e podem ser armazenados nos vacúolos e tricomas glandulares e devido possuírem constituição hidrofóbica, conseguem atravessar a parede celular e a membrana plasmática alterando a estrutura celular (BAKKALI; AVERBECK; AVERBECK et al., 2008).

Das plantas são extraídos os óleos essenciais que apresentam uma gama de compostos do metabolismo secundário, comumente constituído de uma mistura de terpenos, terpenóides, aldeídos e álcoois (LAIRD: PHILIPS 2012, p. 171). Moléculas de grande interesse para fins de pesquisas e desenvolvimento de produtos, devido ao grande potencial demonstrado por alguns óleos em atividades antibacterianas, antifúngicas e inseticidas.

Os óleos de modo geral possuem em sua composição principalmente sesquiterpenos, o que lhe atribui atividades antimicrobianas, antifúngicas ou elicitoras de defesa vegetal, agindo de forma fungitóxica direta ou fungistática, inibindo o crescimento micelial, a germinação de esporos e a indução de fitoalexinas, que são características de substâncias elicitoras, como também, apresentam um odor marcante e coloração amarelada (LAGO et al., 2011, p.9828).

Tais características dessas substâncias, com princípios ativos provenientes do metabolismo secundário da planta, podem atuar de forma direta ou serem precursores na síntese de outros compostos, de maior importância para o desenvolvimento de novos produtos. A presença destes, em maiores ou menores quantidades, afeta diretamente também a qualidade do óleo essencial.

O óleo essencial de folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira), possui grande potencial devido sua alta diversidade de metabólitos constituintes, tais como, sesquiterpenos, compostos fenólicos, alcalóides, entre outros grupos que podem apresentar potencial na agricultura para ativação de rotas de defesa vegetal (AURICCHIO; BACCHI, 2003, p.55-59; MAZARO; 2008 p.1825).

O óleo de pitangueira possui uma interessante composição química, que pode variar dependendo do estágio fenológico da planta, da forma de extração do óleo e de que parte da plantas (folhas frutos, caules, flores e raízes) foi feita a extração desse óleo, bem como as técnicas e padrões usados durante a coleta desse material (GALHIANE; RISSATO; CHIERICE et al., 2006, p. 289-292); DA COSTA 2009. p. 1288). Tal fato contribui para a

elucidação de estudos promissores que possam explorar informações importantes do potencial do óleo de *E. uniflora* sobre fitopatógenos.

Acredita-se então, que a ação antifúngica dos óleos essenciais ricos em monoterpenos esta relacionada à ativação de genes que atuam no metabolismo dos lipídios e desintoxicação celular (PARVEEN; HASAN; TAKAHASHI et al., 2004, p. 52-53). Porém pouco se sabe sobre esses mecanismos, bem como o potencial de alteração do metabolismo do microrganismo, havendo a necessidade de maiores estudos sobre tal fato.

2.7 FOSFITO DE COBRE (FCu)

Os fosfitos são à base de fósforo, compostos comumente usados na nutrição de plantas. Entretanto, fosfitos são uma forma de fosfato reduzido que reage com uma base, e dependendo o sal que compõem essa base dá-se a formação e a denominação desse fosfito. Sendo estes fortemente utilizados para aumentar a produtividade dos cultivos agrícolas (NOJOSA; RESENDE; RESENDE et al., 2005).

A exemplo disso tem-se comercialmente fertilizantes foliares a base de fosfito de cobre desenvolvidos com um complexo, de alta tecnologia, para atender o saneamento fitopatológico das lavouras em seus primeiros estágios de infestação.

Esses fosfito de cobre tem o potencial de promover, um melhor desempenho contra as doenças de forma a prevenir maiores danos às plantas. Além disso, é recomendado para diversas culturas onde há deficiência do nutriente cobre, indicado também para nutrição complementar de exigência nutricional. Tem residual prolongado o que confere maior proteção, possuindo ação inicial efetiva contra fungos e bactérias.

2.8 ACIBENZOLAR-S-METIL (ASM)

O acibenzolar-S-metil (ASM) é comercialmente um indutor de resistência abiótico de baixa toxicidade para organismos não-alvo, registrado no Brasil para a cultura do tomateiro

no controle da Requeima (*Phytophthora infestans*), Pinta preta (*Alternaria solani*), Mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris pv. vesicatoria*), Pinta bacteriana (*Pseudomonas syringae pv. tomato*).

É considerado o primeiro ativador sintético de plantas (DANTAS; OLIVEIRA; NETO; COELHO, 2004, p. 319). Derivado do benzotiodiazole é um produto amplamente usado como referência em pesquisas com outros elicitores de defesa vegetal, no intuito de promover a indução de resistência sistêmica adquirida (STICHER; MAUCH-MANI; METRAUX, 1997). Tal indução, já comprovada a diversos patógenos nas culturas de tomate (BOSTOCK; KARBAN; THALER, 2001, p. 103-111), pepino (PASCHOLATI; LEITE, 1995), trigo (STADNIK; BUCHENAUER, 2000), *Arabidopsis thaliana* (LAWTON; FRIEDRICH; HUNT, 1996) e em morango (MAZARO, 2007, P. 11-17).

O produto possui ação indireta contra patógenos, atuando na ativação de proteínas relacionadas à fitopatogenicidade (KATZ; THULKE; CONRATCH 1998, P. 1334), que são os mecanismos de defesa naturais da planta, por isso, recomenda-se a aplicação do produto de forma preventiva, antes da entrada do patógeno. Este efeito elicitor já foi comprovado sobre várias culturas, principalmente na cultura do tomateiro e sobre diferentes fitopatógenos onde medidas eficazes de controle foram encontradas (TERRY; JOYCE, 2000).

Guzzo, Castro, Kida e Martins (2001, p.9) observaram que o ASM não possui ação antimicrobiana direta aos patógenos, mas sim a capacidade de induzir expressões genéticas de resistência, formando compostos que interferem negativamente sobre a infecção e o desenvolvimento dos patógenos.

O ASM é um produto comercial que já se tem comprovado o seu potencial e eficiência como elicitor de mecanismo de resistência, para tanto é utilizado como produto comparativo em trabalhos de pesquisa na área de Indução de Resistência a nível nacional e internacional. Tal qual, servirá neste trabalho como um tratamento comparativo aos demais produtos utilizados, permitindo determinar o potencial dos demais produtos, a partir da comprovação através de análises bioquímicas se ocorrerá ou não a ativação de resistência no controle da pinta preta do tomateiro, bem como, a ativação da Resistência Sistêmica Adquirida.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO

O experimento foi conduzido no início do ano de 2015, no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Dois Vizinhos, Paraná (PR).

3.2 OBTENÇÃO E PREPARO DOS PATÓGENOS

Foram coletados folíolos de tomateiro com sintomas visíveis de alternariose em plantas cultivadas na Unidade Experimental de Horticultura da UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos. Em seguida esse material foi assepsiado com álcool 70% e hipoclorito de sódio (2%) e alocado em caixas de Gerbox[®], contendo papel filtro umedecido com água destilada, essas caixas mantiveram-se fechadas e armazenado em BOD a 26°C com fotoperíodo de 12 horas, criando-se um clima favorável ao desenvolvimento do patógeno.

Ao observar o crescimento e a esporulação do fungo, confirmou-se a identificação de *Alternaria solani*, por meio da visualização de conídios no microscópio, em seguida preparou-se uma suspensão de esporos, com a adição desse material esporulado em um béquer contendo 100 mL de água destilada, agitou-se e posteriormente o conteúdo foi transferido para o pulverizador manual efetuando-se a inoculação por aspersão sobre toda a parte aérea das mudas de tomateiro que compuseram o experimento.

3.3 PROCEDIMENTOS

Utilizou-se o híbrido de tomate cv. Carmem do grupo longa vida, tipo caqui, sendo adquiridas cinquenta e quatro mudas, visivelmente saudáveis e não injuriadas, cultivadas em

bandeja plástica de produção de mudas contendo 15 células (34,0 x 21,0 x 8,0 cm) sob sistema de estufa.

Dessas cinquenta e quatro mudas, quatro foram aleatoriamente separadas inicialmente para compor a amostra inicial do experimento. Dessas quatro plantas foi retirada uma amostra da folha basal e outra da folha mediana de cada planta, posteriormente picadas, pesadas (peso acima de 0,1 gramas), embaladas com papel alumínio e acondicionadas no freezer em temperatura de -20° C, para posteriormente realizarem-se as análises bioquímicas.

Em seguida, as demais mudas não foram retiradas da bandeja plástica, nas quais vieram do viveiro acondicionadas, apenas dividiu-se as bandejas em células únicas, e realizou-se um corte retangular (3,0 x 8,0 cm) em dois lados opostos de cada célula, possibilitando uma abertura para ocorrer o desenvolvimento e a expansão do sistema radicular, proporcionando o mínimo de danos ou estresse ao sistema radicular durante transplântio (figura 1A).

Feito isso, essas mudas com a célula da bandeja foram colocadas em vasos de polipropileno, redondo, preto, com dimensões de 13x13x10cm e recobertas com substrato comercial Tecnomax[®] (Figura 1B). Estes vasos foram identificados por tratamento e alocados sobre recipientes plásticos contendo uma lamina de água uniforme, resposta diariamente, propiciando a irrigação via capilarização.



Figura 1 - Corte retangular na bandeja principal (A); Preenchimento dos vasos com substrato comercial (B). Fonte: Autoria própria, 2015.

Posteriormente, escolheu-se uma folha basal e outra mediana de cada planta em todos os tratamentos que visualmente não apresentavam nenhum sintoma de doenças ou injúrias. Cada qual foi identificada conforme os tratamentos e repetições, sendo que somente as folhas basais receberam aplicação dos tratamentos, via microaspersão com pulverizador manual evitando-se o efeito de deriva em outras partes da planta pelo uso de uma proteção feita de sacos plásticos no momento da aplicação (Figura 2 E; F).

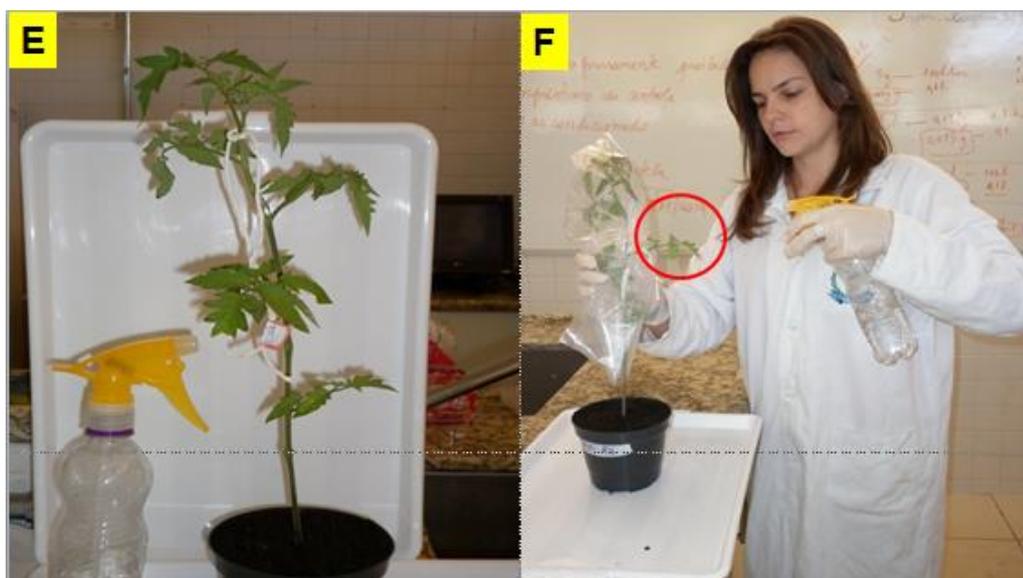


Figura 2 - Escolha e identificação das folhas (E); Aplicação dos elicitores (F)
Fonte: Autoria própria, 2015.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos, sendo um deste a testemunha, água destilada e cada qual com quatro repetições. As plantas ficaram alocadas sobre uma bancada no Laboratório de Fitossanidade da UTFPR-Campus Dois vizinhos. As concentrações utilizadas para os produtos comerciais foram as recomendadas pelos fabricantes, para a cultura do tomateiro, sendo assim, para ASM 0,005% e FCu 0,002%. Para o óleo essencial de pitangueira, com certificado de pureza de 100%, fornecido pela empresa Garden City[®], foi utilizada a concentração de 1%, e o AS 0,013%, definidas com referência a trabalhos preliminares com esses produtos.

Após a aplicação dos elicitores ocorreu o processo de inoculação do patógeno, por meio da aspersão da solução de esporos feita com pulverizador manual, feito isso, foi colocado sobre os tratamentos uma estrutura plástica assemelhando-se a uma estufa móvel, com termômetro analógico em mercúrio aferindo-se diariamente a temperatura média durante

o período do experimento e fez-se o uso de aspersão de água manualmente duas vezes ao dia, com objetivo de manter um microclima de câmara úmida, e com isso proporcionou um ambiente com temperatura média de 24°C e umidade favoráveis mantendo água livre sobre a superfície foliar que favoreceram o patossistema estudado.

Das cinquenta plantas que compunham o experimento, apenas vinte permaneceram intactas até a conclusão do experimento, as demais serviram para retirada de material vegetal de folhas basais e medianas nos tempos de 48, 96, 172 horas, sendo posteriormente descartadas. Tais amostras coletadas também foram picadas, pesadas, envolvidas em papel alumínio e armazenadas sobre refrigeração, assim como o procedimento realizado com a amostra inicial.

Das vinte plantas intactas que permaneceram até 38 dias após inoculação (DAI), tal período determinado pelo início do estágio de senescência dos tratamentos, avaliou-se a incidência de pinta preta (*A. solani*) considerando a presença de sintomas da doença nas folhas, fez-se a contagem das folhas que apresentaram incidência. Calculou-se o percentual desta variável com a seguinte equação.

$$\% I = ((N^{\circ}FI \times 100\%) \div N^{\circ}TFP)$$

Onde:

% I: Percentual de Incidência (%);

N° FI: Número de Folhas com Incidência;

N° TFP: Número Total de Folhas por Planta.

A severidade foi dada pela avaliação visual de cada folha que apresentou incidência da doença, de acordo com uma escala numérica com quatro níveis de severidade, feitos da seguinte forma: nível 1 (0,1-1%); nível 2 (1-10%); nível 3 (10-20%); nível 4 (20-30%), estipulando-se estes níveis paramétricos obteve-se o percentual de severidade obtido pela equação abaixo.

$$\% S = ((\sum N4) \div N^{\circ}TFI)$$

Onde:

% S: Percentual de Severidade (%);

$\sum N4$: Soma dos 4 níveis de severidade;

Nº TFP: Número Total de Folhas com Incidência.

Avaliou-se também a intensidade da doença, obtida pela equação:

$$IT = \%S \times \%I$$

Onde:

IT= Intensidade de doença (%);

%S: Percentual de Severidade (%);

%I: Percentual de Incidência (%).

3.4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Nas análises bioquímicas para a quantificação de proteínas totais, as amostras das folhas basais e medianas foram maceradas em almofariz com 3 ml de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5). Em seguida, o material foi centrifugado (14.000g / 10 min a 4°C) e o sobrenadante coletado. Para quantificação do conteúdo total de proteínas das amostras empregou-se o teste de Bradford (1976). A leitura de proteínas totais realizou-se em espectrofotômetro a 595 nm, utilizando soro albumina bovina como padrão.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) efetuou-se por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Kuhn (2007), aonde se indica utilizar 0,25 g da amostra com mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Acondicionou-se o extrato em tubos ependorfe e centrifugou-se por 10 minutos, a 4 °C a 6000 rpm. Após, uma alíquota de 200 µL transferiu-se para tubo de ensaio, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão de extração.

Agitou-se a solução em vórtex, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL transferiu-se para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, agitou-se a solução em vórtex para homogeneização.

E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para interromper a reação e assim poder realizar a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para dosagem das atividades de quitinases e β -1,3-glucanase seguiu-se os procedimentos descritos por Wirth e Wolf (1992), com adequações, sendo que as amostras foram maceradas em 2,0 mL de tampão acetato 100 mM (pH 5,0), com posterior centrifugação (20.000 g por 25 min, a -4 °C). O sobrenadante foi coletado e utilizado para a avaliação da atividade das enzimas.

A atividade enzimática da quitinase foi avaliada através da liberação de oligômeros solúveis de “chitin-azure”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta 5R -RBV (Sigma Aldrich®). Para determinação espectrofotométrica das atividades de β -1,3-glucanase nos extratos foi utilizado como substrato curdlan-remazol azul brilhante (Sigma Aldrich® - 4 mg.ml⁻¹).

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO EXPERIMENTO

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), comparação de médias pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro e comparação de médias pelo Teste T, com o programa de análise estatística ASSISTAT 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2009).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AÇÃO DOS ELICITORES SOBRE O COMPORTAMENTO DA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE DOENÇA

Os resultados demonstraram, que em relação a doença, o processo de inoculação foi eficiente, haja visto que todas as plantas apresentaram incidência de *A. solani*. Os indutores interferiram nos parâmetros relacionados à quantificação de doenças na cultura do tomateiro, sendo que os produtos ASM e OLP apresentaram menor incidência de doenças, no entanto, não diferiram da testemunha (Tabela 1). Em relação à severidade observa-se que o FCu obteve menor valor e os demais tratamentos, não diferiram da testemunha (Tabela 1).

Na variável intensidade os tratamentos não diferiram entre si, o que pode estar relacionado ao baixo nível de severidade observado em todos os tratamentos (Tabela 1). Apesar de ter ocorrido diferença na incidência de doenças, em casos de manchas foliares a severidade pode ser considerada um parâmetro de quantificação de doenças mais adequado quando se considera a área foliar afetada.

Tabela 1 - Incidência, Severidade e Intensidade de *Alternaria solani* em tomateiros tratados com diferentes elicitores de defesa vegetal. Dois Vizinhos, 2015.

Tratamentos	Incidência (%)	Severidade (%)	Intensidade (%)
ASM	26,78 b	2,25 ab	64,73 a
FCu	44,14 ab	1,45 b	67,11 a
OLP	27,43 b	1,87 ab	55,55 a
AS	55,12 a	1,98 ab	116,61 a
TEST	44,80 ab	2,81 a	125,04 a

Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). As siglas representam - Acibenzolar - S - Metil (ASM), Fosfito de Cobre (FCu), Óleo de Pitanga (OLP), Ácido Salicílico (AS), Testemunha (TEST). UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2015. Fonte: O autor, 2015.

A menor severidade dos indutores pode estar relacionada a uma resposta de defesa vegetal, conhecida como resposta de hipersensibilidade (RH), condição essa que, a planta sintetiza metabólitos de defesa próximos à lesão inibindo crescimento da mesma por ação fitotóxica dos metabólitos sobre o patógeno, resultando em uma menor área foliar lesionada e conseqüentemente uma menor severidade. Essa ação fitotóxica relacionada a RH é um dos importantes mecanismos de defesa das plantas a fitopatógeno. Essa reação da planta é caracterizada pela morte celular programada do tecido vegetal (MCP) no sítio de infecção (GECHEV; HILLE, 2005, p. 18).

Essa morte celular programada se dá pela ativação de diversos eventos e emissão de sinais químicos, que vão incitar a expressão de genes de defesa da planta, fazendo com que o tecido celular infectado entre em colapso e necrose, limitando a área lesionada e servindo de impedimento para o desenvolvimento do patógeno, reduzindo, assim a manifestação da doença nos demais tecidos da planta (HAMMOND-KOSACK ; JONES, 2003, p. 592).

A RH atua no reconhecimento da interação entre o patógeno e o hospedeiro, através de aspectos fisiológicos e modificações no metabolismo celular, tais como, um possível, rápido e transitório aumento de agentes oxidantes que podem provocar alterações celulares de ganho de íons de hidrogênio, perda de íons de potássio, além da síntese de fitoalexinas, proteínas de defesas (PRP's), espessamento da parede celular e da cutícula (NIMCHUK; EULGEM; HOLT et al., 2003; PINTO; RIBEIRO; OLIVEIRA, 2010, p. 243).

Na literatura alguns trabalhos avaliaram o comportamento destes elicitores quanto aos parâmetros de quantificação de doenças, e foram observados resultados positivos em outros patossistemas.

Em trabalho realizado por Anith, Momol, Kloepper, et al. (2004, p.671), verificaram em plantas de tomateiro suscetíveis a murcha bacteriana tratados com ASM e inoculadas com baixas concentrações de *Ralstonia solanacearum*, apresentaram menor incidência da doença. Ainda Tofoli e Domingues (2005, p.751) observaram o potencial do ASM em uso isolado, reduzindo a severidade da pinta preta do tomateiro, bem como a área foliar afetada. Os mesmos autores Tofoli e Domingues em outro trabalho, (2003), também observaram no mesmo patossistema, que plantas cultivadas em casa de vegetação e tratadas com ASM reduziram o nível de desfolha e a severidade da doença em folíolos e caules. Ainda Silva, Resende e Souza (2003) verificaram que aplicações de acibenzolar-s-metil em intervalos de sete dias resultou em proteção de 44,6% a plantas de tomate contra o oídio.

Além de atuar com eficiência sobre a redução de doenças de agentes fúngicos o ASM pode ter também ação positiva sobre importantes doenças bacterianas, tais como, a mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*), queima bacteriana (*Pseudomonas syringae*) e murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum*). A exemplo disso o ASM reduziu a severidade da murcha bacteriana do tomateiro em câmara climatizada e casa-de-vegetação, independente do modo de aplicação do produto nas doses de 0,625 e 2,5 g i.a./100 L de água.

Em um estudo realizado por Venâncio, Zagonel, Furtado et al. (2000), em pimentão, observaram a eficiência do ASM sobre bactérias como *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* e *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*, através do potencial eliciador de respostas de defesa vegetal. Fator que também foi verificado em plantas de tomate inoculadas com *Xanthomonas vesicatoria*, e pulverizadas com ASM, que ao realizar as análises bioquímicas comprovou-se a ação de defesa vegetal pelo aumento da enzimas de resistência (peroxidases de guaiacol e oxidases de polifenóis), relacionadas à lignificação do tecido vegetal (CAVALCANTI; RESENDE; ZACARONI et al., 2006, p. 376-379).

O amplo espectro de ASM contra várias doenças principalmente que acometem o tomateiro, reforça seu potencial de uso mesmo o que o presente trabalho não demonstrou resultados significativos e embora ASM apresente ação parcial sobre a pinta preta do tomateiro, este produto pode ser um importante aliado no manejo integrado da doença.

Em relação ao FCu que é fertilizante mineral de aplicação via foliar com interessante potencial para atuar como elicitador de resistência vegetal, devido ter sua formulação a base de fosfito de cobre e salicilatos, produtos estes que podem atuar na ativação do mensageiro, o ácido salicílico na síntese de defesa vegetal, além de ser um produto análogo do ASM. Como resultado dessa ativação de defesa vegetal, pode estimular a produção de metabólitos de defesa que podem ser pela formação de peróxido de hidrogênio para a síntese de lignina ativação de fitoalexinas ou compostos fenólicos em geral com ação deletéria ao patógeno.

Fertilizantes foliares a base de fosfito tem demonstrado eficiência em diversos patossistemas estudados devido possuírem um modo de ação complexa, capaz de atuar diretamente sobre o controle de doenças, inibindo a germinação dos esporos e o crescimento mycelial. Podem atuar também sobre a indução de respostas de defesa vegetal em plantas com a produção de compostos do metabolismo secundário, tais como fitoalexinas, fenilalanina-

amônia-liase, enzimas hidrolíticas e compostos como lignina e etileno que agem inibindo o desenvolvimento do patógeno (BRACKMANN; GIEHL; SESTARI et al., 2008, p. 40).

Apesar de existirem poucos estudos que elucidam o uso de fosfitos, principalmente o uso de fosfito de cobre, alguns trabalhos tem demonstrado, resultados interessantes da ação dessa forulação sobre o controle de doenças. Júnior, Resende, Júnior et al. (2013, p. 244), avaliaram a aplicação de fosfito de cobre (FCu) via sulco de plantio (SP) e foliar (F), apresentando eficácia na redução de severidade da podridão radicular, causada por *Fusarium solani*. O tratamento com FCu (2 L.ha⁻¹) apenas no sulco, proporcionou controle de 39%, a FCu (2 L.ha⁻¹) no SP + pulverização em V1 + pulverização 7 dias após V1 proporcionou controle de 43% e FCu (2 L.ha⁻¹) no SP + pulverização em V1 + pulverização 7 e 14 dias após V1 proporcionou controle de 42%.

Em estudos utilizando a pulverização de fosfito de cobre nas doses de 0,8 L. h⁻¹ na cultura da soja, nos estádios fenológicos R2 e R5, reduziram a severidade da *Phakopsora pachyrhizi* (CARVALHO, 2010, p.51). Morais, Goulart e Sandy (2014, p. 04), testaram *in vitro* o fosfito de cobre sobre a mancha aureolada, causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* e obtiveram a inibição do crescimento do patógeno.

Também avaliando-se o efeito da aplicação de fungicidas (protetor e sistêmico) e produtos alternativos na redução da severidade de oídio em folhas de tomate, em condições controladas o fungicida sistêmico (tebuconazole) foi mais eficiente e a aplicação de fosfito de cobre e acibenzolar-s-metil reduziu 78,8 e 79,9% a severidade do oídio, em comparação a testemunha (MORAES; JESUS JUNIOR; BELAN et al., 2014, p.62).

Belan, Pereira e Oliveira (2010, p.02-04) observaram que pepinos cultivados em ambiente protegido, tratados com fosfito de cobre (Fulland® a 0,20%), no manejo do oídio proporcionou um controle eficiente da doença, bem como o tratamento com fosfito elevou o número de frutos em relação aos demais tratamentos.

Em condições de campo, a pulverização com fosfito de cobre (Furlland), na dose 10ml.L⁻¹ reduziu a severidade da ferrugem em 81% do cafeeiro cv. Rubi e apresentando controle semelhante aos do fungicida (epoxiconazol + piraclostrobina). Esse mesmo produto aplicado na dose de 5ml.L⁻¹ apresentou controle inferior ao fungicida, porém diferiu da testemunha (Toyota 2008, p. 33-34).

Comumente estudos com o óleo essencial de *E. uniflora* evidenciam sua ação bactericida, porém muito pouco se sabe sobre seu potencial fungitóxico sobre fungos

fitopatogênicos. Xin, Yu, Erb, et al. (2012), verificaram a ação antimicrobiana significativa deste óleo, demonstrando a atividade do composto linalol, sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*., em arroz.

Em estudos *in vitro* com óleo essencial das folhas de *E uniflora* sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, o óleo inibiu o crescimento micelial do fungo. Essa ação fungistática foi correlacionada a concentração mínima de 100ppm, reduzindo o crescimento micelial a 10% em relação a testemunha 48 horas após inoculação e redução superiores a 27% em concentrações a partir de 1000ppm com 48 e 72 horas. Em observação ao efeito do óleo sobre o desenvolvimento dos escleródios, 15 dias após a inoculação, as concentrações de 10, 250 e 500ppm tiveram um número maior de escleródios formados em relação à testemunha, porém o peso médio desses escleródios foi inferior. Observou-se também que a concentração de 1500ppm não ocorreu desenvolvimento de escleródios, porém a viabilidade desses escleródios 7 dias após a inoculação dos escleródios em meio BDA (batata, dextrose e ágar) com 500 e 1000ppm de óleo essencial, e observou-se a germinação micelial retardada em 24 horas após a inoculação (MARQUES, 2014, p. 57-59).

Hartmann, Hilmann, Oligini et al. (2014), também observaram que o óleo das folhas de pitangueira nas concentrações de (0,025; 0,1; 0,5 e 1%) sobre cotilédones de soja sadios, ativou a rota de defesa de fitoalexinas atuando sobre a atividade FAL, demonstrando a ação dos óleos essenciais de folhas de pitangueira na ativação da rota dos fenil propanóides. No entanto, não apresentou efeito significativo na atividade das quitinases e β 1,3 glucanase estudos estes corroboram com Mazaro, Cidadin, Gouvêa et al., (2008, p. 1826), que verificaram que o óleo essencial de *Eugenia uniflora* na concentração de 100% teve efeito na indução de fitoalexinas, em cotilédones de soja sadio.

Demais estudos com o uso de óleo de pitanga na dose de 100 ppm e 200 ppm proporcionaram inibição do crescimento micelial abaixo de 50% sobre o crescimento micelial de *Fusarium pallidoseum* e *Myrothecium roridum* testados *in vitro*. (FREIRE; COSTA; SANTOS, et al., 2010, p.168). Hilmann, Hartmann, Mazaro et al., (2015), avaliaram o potencial do óleo essencial de pitanga no controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum* apresentando potencial fungitóxico, suprimindo o crescimento micelial do fungo.

Apesar do AS não ter surtido efeito significativo sobre a incidência e severidade sobre *Alternária solani* avaliados neste trabalho, alguns estudos já elucidaram seu efeito positivo sobre estes parâmetros avaliados em outros patossistemas sendo por aplicação exógena de AS

em pré e pós-colheita, *in vitro*, no controle de incidência e severidade ou no uso como elicitador de respostas de defesa vegetal.

De acordo com Zainuri, Joyce, Wearing et al. (2001, p. 811), a aplicação pré e pós-colheita, 1000 mg/L e 2000 mg/L de AS reduziu a severidade da antracnose em mangas, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*. Zeng, Cao e Jiang (2006, p. 696), relatou que ao aplicar 1 mM de AS em mangas em pós colheita no controle da antracnose, conseguiu-se uma redução na incidência de 37,5% e 20,9% no diâmetro das lesões.

Os autores Mandal, Mallick e Mitra (2009), demonstraram resultados positivos no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersic* em pós-colheita de tomate. Também em tratamento pós colheita Khademi, Zamani, Mastofi et al. (2012, p. 1070), verificaram o uso de 2 mM de AS em caquis cv. Karaj tratados por imersão de 10 minutos, apresentaram redução na incidência de doenças.

Isso significa que AS pode atuar positivamente no controle de patógenos ou através da ativação de mecanismos de defesa (ASGHARI; AGHDAM 2010, p. 503). Além de pode atuar diretamente sobre microrganismos (ANAND; UPPALAPATI; RYU et al., 2008, p. 704-708), porém trabalhos com o uso de AS *in vitro*, na redução incidência e severidade ou como elicitador de resistência, principalmente em pré colheita, são escassos.

4.2 POTENCIAL DOS ELICITORES NA ATIVAÇÃO DAS ENZIMAS DE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

Os resultados demonstraram que os indutores de resistência possuem ação sobre o metabolismo primário da planta ativando a síntese de proteínas. O comportamento destas macromoléculas no decorrer dos tempos avaliados demonstrou que os indutores possuem especificidades quanto ao potencial da ativação metabólica de síntese de proteínas. Observou-se que o ASM em 172 horas demonstrou maiores níveis de proteína em relação a testemunha, no entanto não diferiu do tratamento com AS (Figura 3).

Da mesma forma que as proteínas totais os dados de B 1,3 glucanase demonstraram, que os indutores apresentam potencial de ativação da enzima hidrolítica B 1,3 glucanase, tal resposta é dependente do indutor e do tempo, sendo que, a maior atividade enzimática ocorreu com 48 horas para o AS e 172 horas para o ASM e o FCu com maior potencial de ativação da enzima (Figura 4).

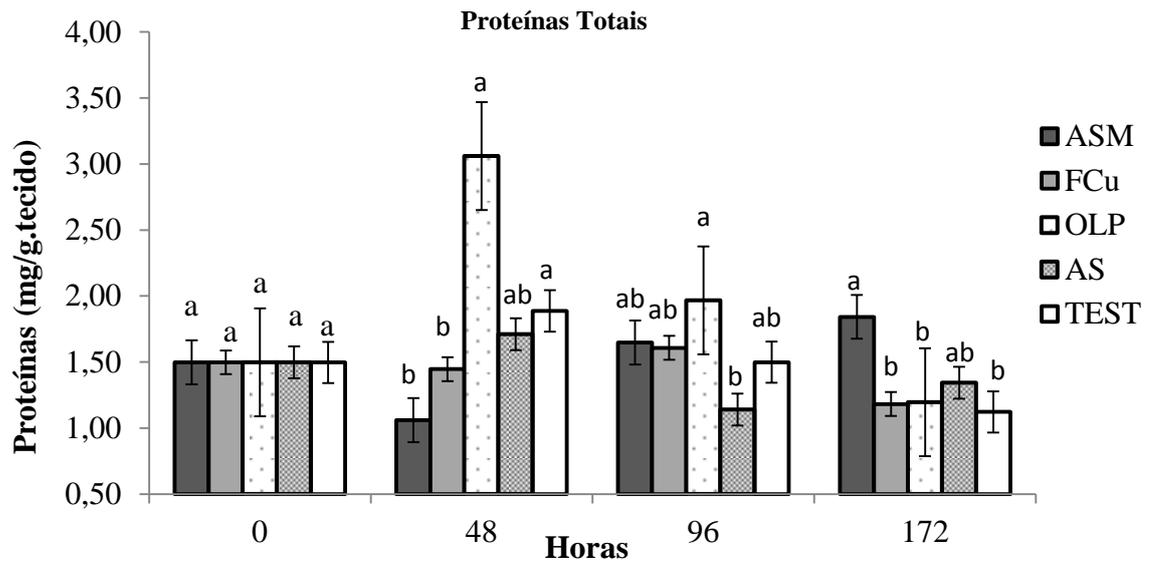


Figura 3 - Teor de proteínas de folhas de tomateiro avaliada às 0, 48, 96 e 172 horas após a aplicação de cinco elicitores. Barras verticais indicam o desvio-padrão, as siglas representam - Acibenzolar - S - Metil (ASM), Fosfito de Cobre (FCu), Óleo de Pitanga (OLP), Ácido Salicílico (AS), Testemunha (TEST). Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2015. Fonte: O autor, 2015.

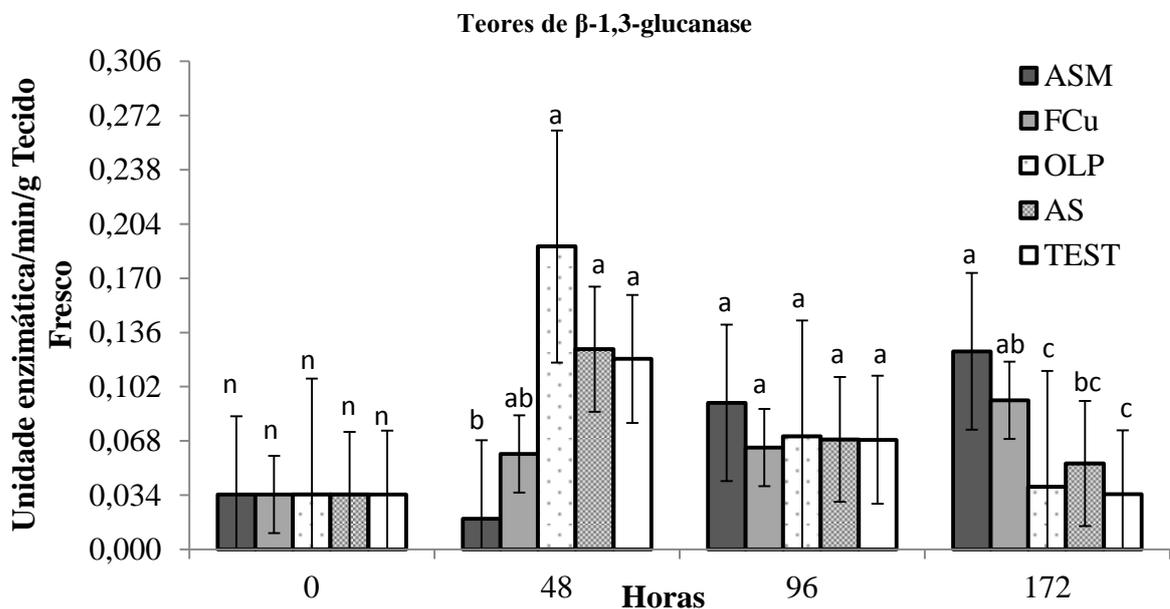


Figura 4 - Teores de β -1,3-glucanase de folhas de tomateiro avaliadas às 0, 48, 96 e 172 horas após a aplicação de cinco elicitores. Barras verticais indicam o desvio-padrão. Os tratamentos; - Acibenzolar - S - Metil (ASM), Fosfito de Cobre (FCu), Óleo de Pitanga (OLP), Ácido Salicílico (AS), Testemunha (TEST). Os dados foram transformados em Arcoseno (Arcoseno (Raiz (x/100))) médias seguidas pela letra (n) não são significativas e médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,05$). UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2015. Fonte: O autor, 2015.

O comportamento enzimático está relacionado à resposta vegetal a qual é dependente do patossistema envolvido, estágio fisiológico da cultura e condições ambientais. Nesse sentido a resposta da ativação enzimática é um indicativo de ativação de mecanismos de defesa, no entanto, não pode ser associado a uma efetiva redução de doenças fato observado nesse trabalho. Por mais que tenha ocorrido efeito dos indutores na defesa somente o FCu teve potencial de redução da severidade.

Sendo que FAL e quitinase tiveram interferência pela aplicação dos indutores, no entanto não diferiram estatisticamente, devido tere apresentando valores de médias muito baixas, em sequencia apresentados: atividade de quitinase de 0,0003 (Unidade enzimática/min/g de tecido fresco) e de FAL de 0,036 (UAbs/min/mg proteína).

O fato da não observação da atividade da FAL e quitinase, desse trabalho pode estar relacionado a ação dos indutores nesse patossistema estudado, não preconizando a ativação dessas rotas e sim da β -1,3-glucanase como observado. Ainda deve-se considerar o fato da ativação dessas enzimas terem ocorrido após 172 horas, período não considerado nesse experimento.

Essas especificidades de respostas metabólicas na ativação de proteínas e enzimas de defesa já foram observadas em outros patossistemas, demonstrando que ação enzimática é dependente do indutor e do tempo, como podem ser observados.

Borsatti, Mazaro, Danner et al. (2015,p .321), quando avaliaram amoras-pretas da cultivar Tupy em tratamento pós - colheita com o uso de Acido salicílico, na concentração de 1,0 mM, visualizaram um aumento significativo no teor de proteínas após 24 horas da aplicação. Já nas concentrações de 1,5 e 2,0 mM de AS a síntese de proteínas ocorreu de forma gradual, atingindo o pico máximo com 96 horas.

Quanto à atividade da enzima β -1,3-glucanase, a maior concentração 2,0 mM de AS foi significativa, com maior ativação após 96 e 144 horas. Com esses resultados pode-se dizer que existe uma relação entre a elevação dos níveis de proteínas totais e a enzima β -1,3-glucanase, ativadas quando se aplica o elicitor AS (VLOT; DEMPSEY; KLENING, 2009).

Em estudo avaliando a atividade enzimática de β -1,3-glucanases em plantas de feijoeiro infectadas com *Sclerotinia sclerotiorum*, observou-se que a β -1,3-glucanase apresentou maior atividade com 48h após o inóculo na concentração de 100 μ M do ácido salicílico (INOCÊNCIO; OLIVEIRA; ALVES, et al, 2009). Shabana, Fattah, Ismail, Rashad (2008, p. 440), observaram *in vitro* que o tratamento de ácido salicílico a 9 mM inibiu o crescimento micelial do fungo *Bipolaris oryzae*.

Plântulas de feijoeiro comum inoculadas com *Colletotrichum lindemuthianum* e tratadas com ácido salicílico 0,01M, no estágio V2, apresentaram menor uma severidade da doença, retardamento na velocidade de crescimento das lesões e aumento significativo das atividades enzimáticas de quitinase e β -1,3-glucanase (CAMPOS; HAMPE; FERREIRA, et al., 2009, p. 18).

Borsatti (2014, p. 42), comprovou a ativação da Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) em análises das proteínas-RP quitinases e β -1,3-glucanase, avaliadas em pós colheita de acerolas (*Malpighia emarginata*) tratadas com a maior concentração de AS (2,0 mM) e na testemunha, demonstraram que o mesmo atuou na ativação destas duas enzimas após 48 e 96 horas.

A mesma autora (2014), em aplicação de AS na pós-colheita de folhas de couve manteiga interferiu nos teores de proteínas de folhas dos tratamentos 1,0; 1,5; e 2,0 mM mantendo os níveis mais elevados após 48 horas da aplicação, atingindo seu teor máximo às 96 horas. Essas alterações, possivelmente, estão relacionadas à síntese de proteínas-RP, como quitinases e β -1,3-glucanases.

Vlot, Dempsey, Klening (2009), observaram que a aplicação de AS a 2,0 mM em pré-colheita reduziu significativamente o diâmetro de lesões causadas por *Monilinia fruticola* em cerejas, havendo um aumento nas atividades de β -1,3-glucanases, FAL e peroxidase. Ishi, Tomita, Narusaka, et al. (1999, p. 79), também observaram a ativação de β -1,3-glucanase, quitinase e peroxidase em plantas de pepino tratadas com AS.

Marques (2014, p. 61), avaliou também plantas sadias de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris*) tratadas com óleo essencial de *E. uniflora* apresentaram alterações significativas nos níveis das atividades enzimáticas logo nas primeiras 12 horas anterior a inoculação, seguido de um decaimento em 24 horas e posterior aumento em 48 horas. O óleo induziu os mecanismos de defesa da planta mesmo sem a presença do patógeno, atuando como um elicitor de defesa vegetal.

No entanto, o autor observou que a atividade enzimática foi avaliada em plantas de feijoeiro infectadas pelo fungo e tratadas com 200ppm de óleo, foi observado que as atividades de quitinase, β -1,3-glucanases, FAL, Peroxidase e Polifenoloxidasas foram ativadas e apresentaram respostas significativas em relação a testemunha, sendo que 12 horas após inoculação as atividades enzimáticas de polifenoloxidasas β -1,3-glucanases e quitinase aumentaram, decaíram com 24 horas e posteriormente aumentaram em 48 horas. Já as

atividades de FAL e peroxidase, apresentaram um pico significativo com 48 horas após inoculação.

Em estudos testando-se fosfito de cobre na dose de 10mL.¹ no tratamento de mudas de cafeeiro inoculadas ou não com *Hemileia vastatrix*, observou-se aumento nas atividades das enzimas hidrolíticas, β -1,3-glucanases e quitinases. Mudas não inoculadas com o patógeno apresentaram aumento na atividade da β -1,3-glucanases aos 4 dias após a pulverização e mudas inoculadas expressaram maior atividade da enzima após pulverização (TOYOTA, 2011, p.76).

Segundo Toyota (2011, p. 81-82), no mesmo trabalho com ferrugem amarela do cafeeiro em aplicação do indutor de resistência ASM, a atividade da enzima β -1,3-glucanase apresentou aumento de 0,5 a 4 dias após pulverização e nas mudas inoculadas com o patógeno e tratadas com ASM, ocorreu um acréscimo da β -1,3-glucanase a partir de 8 dias após inoculação, tendo o pico ocorrido 9 dias.

O mesmo autor em (2008), também observou que o fosfito de cobre induziu a atividade de β -1,3-glucanases a partir do sexto dia após a pulverização e plantas tratadas e inoculadas induziram a produção dessa enzima com maior atividade aos 21 dias após pulverização.

Guzzo, Harakava e Tsai (2009), após tratar com ASM mudas de cafeeiro, observaram que a maior atividade de β -1,3-glucanases ocorreu com 72 horas e com 48 horas após inocular com *Hemileia vastatrix*. Já o uso do ASM no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cacaueiro, quantificou-se as enzimas quitinase e β -1,3-glucanase, no período de 4 a 18 dias após a pulverização (RESENDE; COSTA; CAVALCANTI et al., 2007, p. 218).

O uso de ASM em cacaueiro no controle da *Moniliophthora perniciosa* apresentou a maior atividade de β -1,3-glucanase, a partir das seis horas até quatro dias após pulverização (DAP) e 24 horas após a inoculação do patógeno a atividade voltou a aumentar, tanto para mudas inoculadas como para não inoculadas, mantendo-se até 14 (COSTA; RESENDE; JÚNIOR et al., 2010, p. 290).

Em tomateiro Andrade, Resende, Rodrigues et al. (2013, p. 31), verificaram que a atividade de β -1,3-glucanase em plantas pulverizadas com ASM no controle à pinta bacteriana, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* foi significativa apenas aos 6 e 12 dias após inoculação. E o uso de ASM em tomate no controle de *Fusarium oxysporum* a

ativação da enzima β -1,3-glucanase diferiu das demais aos 10 dias pós-inoculação do patógeno (NETO, 2013, p. 57).

4.3 POTENCIAL DOS ELICITORES NA INDUÇÃO DA RESISTÊNCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA

Os resultados demonstram que ocorreu alteração nos parâmetros enzimáticos em todos os tratamentos, no entanto somente o AS demonstrou potencial na ativação da Resistência Sistêmica Adquirida (RSA). Tal afirmação pode ser considerada pelo fato do tratamento com AS ter aumentado o teores de proteína totais e β -1,3-glucanase nas folhas medianas em relação as basais (Tabela 2). Tais resultados confirmam que a aplicação localizada de um indutor ativa de forma sistêmica a resistência de toda a planta constituindo uma resistência sistêmica adquirida no processo de defesa vegetal.

Tabela 2: Avaliações bioquímicas de proteínas totais e β -1,3-glucanase ao longo do tempo de (0, 48, 96 e 172 horas) após a aplicação de cinco elicitores . Dois Vizinhos, 2015.

Tratamentos		Proteínas totais (mg/g.tecido)		Glucanase (Unidade enzimática/min/g)	
	Rep.	Média	CV%	Média	CV%
TEST	F. Mediana	1,58 a	26,02	0,083 a	30,12
	F. Basal	1,43 a		0,045 a	
OLP	F. Mediana	2,34 a	19,68	0,124 a	26,71
	F. Basal	1,52 a		0,043 a	
AS	F. Mediana	1,70 a **	22,89	0,106 a **	27,87
	F. Basal	1,15 b **		0,035 b **	
ASM	F. Mediana	1,61 a	29,19	0,081 a	39,35
	F. Basal	1,41 a		0,053 a	
FCu	F. Mediana	1,59 a	27,97	0,065 a	25,09
	F. Basal	1,36 a		0,060 a	

Teores de β -1,3-glucanase e Proteínas totais de folhas de tomateiro avaliadas às 0, 48, 96 e 172 horas após a aplicação de cinco elicitores. Os tratamentos; - Acibenzolar - S – Metil (ASM), Fosfito de Cobre (FCu), Óleo de Pitanga (OLP), Ácido Salicílico (AS), Testemunha (TEST). Os dados de β -1,3 Glucanase foram transformados em Arcoseno (Arcoseno (Raiz (x/100))). Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste T ($p \leq 0,05$). * Coeficiente de variação dos tratamentos. **médias que se diferem entre si pelo teste de Duncan ($p \leq 0,01$). UTFPR. Dois Vizinhos – PR, 2015. Fonte: Autoria própria, 2015.

Ao longo da evolução, as plantas adquiriram estratégias de defesa sobre a ação de insetos e patógenos para perpetuarem sua sobrevivência. Essa capacidade de emitir respostas de defesa, esta atrelada a caracteres físicos e genéticos da planta, que podem impedir ou reduzir a incidência e/ou severidade de doença (CARVALHO; BARCELLOS 2012, p.757). Bem como, esses caracteres de defesa podem ser estimulados e ativados pela aplicação de elicitores bióticos e abióticos (CAVALCANTI; PIERO; PASCHOALATI et al., 2005).

Essa resistência pode ser classificada como induzida, ocorrendo uma RH, dada pela necrose dos tecidos próximos a lesão, causada pela infecção do patógeno ou pela aplicação de um produto químico, sendo chamada assim de resistência local adquirida (REZENDE; MARTINS, 2005).

E a outra forma de resistência é a RSA, que ocorre por meio da transmissão de sinais bioquímicos que sinalizam a presença de alguma anormalidade para outras partes da planta que induzem e estimulam a produção de substâncias de defesa (AGRIOS, 2007). No entanto, para que ocorra a RSA, precisa se ter uma infecção com lesões necróticas, pela ação da RH (HAMMOND-KOSACK; JONES, 2000).

Essa transmissão de sinais bioquímicos da RSA, desencadeia uma série de reações bioquímicas, que ocasionam alterações no metabolismo celular e emissões de sinais que induzem a síntese de agentes de defesa, entre estes as proteínas PRP's, e barreiras estruturais (FERNANDES; VIEIRA JÚNIOR; SILVA et al., 2009, p. 09).

Durante a RSA, tem-se a participação de alguns compostos químicos que sinalizam a ativação da RSA e entre esses compostos está o AS, que sinaliza ao ser acumulado na planta em decorrência da ativação de genes na RSA (GRÜNER; STROMPEN; PFITZNER et al., 2003; JALALI; BHARGAVA; KAMBLE et al., 2006, p. 4879).

O AS é um dos mais importantes sinalizadores químicos, porém faltam estudos que comprovem sua participação como agente sinalizador móvel nas plantas. Tal fato, que esse trabalho teve por finalidade elucidar o estudo da atuação do AS aplicado de forma exógena, como um possível sinalizador móvel ativação da RSA .

O AS aplicado de forma exógena ativa os mecanismos da RSA, envolvendo uma série de eventos provenientes da interação planta/patógeno resultando na emissão de sinais moleculares encaminhados para as outras partes do vegetal, que induz a síntese de agentes de defesa (KERBAUY, 2012; TAIZ; ZEIGER, 2004). De acordo com Campos, Hampe, Ferreira et al. (2009, p. 16), o AS pode ser mensageiro na ativação de resistência contra patógenos, participando da síntese de proteínas-RP.

Esses agentes de defesa incluem as proteínas relacionadas à patogênese (proteínas RP), que possuem atividade sobre microrganismos patogênicos, como por exemplo, as enzimas hidrolíticas quitinases e glucanases, bem como a formação de barreiras estruturais, como a lignina. Zhao, Wang, Zhao et al. (2005), concluíram que o uso do AS exógeno, reforça a parede celular vegetal tornando-a mais resistente contra a infecção de patógenos. Acredita-se que o AS tem capacidade de induzir a síntese de proteínas RP.

Os resultados do AS que elucidaram o aumento dos teores de proteína totais e β -1,3-glucanase (Tabela 3) das folhas basais e apicais podem ser justificados pelo fato de que a β -1,3-glucana e quitina são componentes principais da parede celular de muitos fungos.

Quando ocorre uma possível indução de resistência sistêmica, enzimas hidrolíticas, tais como β -1,3-glucanase e quitinase vão atuar sobre a parede celular desse patógeno restringindo seu desenvolvimento, através de uma possível toxicidade direta, permeabilizando a membrana plasmática e impedimento do estabelecimento deste na planta.

Um dos mecanismos de defesa de plantas ao ataque de agentes fitopatogênicos é justamente pela degradação de polissacarídeos estruturais presentes na parede celular dos microrganismos, impedindo o ataque de agentes fitopatogênicos através da ação de enzimas hidrolíticas que interferem no desenvolvimento do patógeno sobre o tecido foliar (ZAREIE; MELASON; MURPHI, 2002, p. 1033-1034).

A exemplo disso, as enzimas hidrolíticas β -1,3-glucanase e quitinase podem ser produzidas por um microorganismo ou pelo hospedeiro com a função de promover a degradação, desequilíbrio osmótico, agregação e retração do citoplasma e da membrana plasmática da parede celular do patógeno (CASTORIA; LIMA; CICO 2001).

Porém, a eficiência dessas enzimas em relação a microrganismos está atrelada ao tipo de espécie da planta, tipo de proteína PR que foi expressa, sua localização nas células e as características do fitopatógeno testado (WANG; KAUSCH; CHANDLEE et al 2003).

Tendo em vista a praticidade de uso do AS de forma exógena é interessante testar seu potencial elicitor em outros patossistemas, pois por mais que se tenha o conhecimento científico dos efeitos desse elicitor na indução de resistência, os trabalhos ainda são insipientes.

5. CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram potencial dos produtos avaliados na ativação de mecanismos relacionados à defesa vegetal a patógenos, no entanto somente o tratamento com AS permite afirmar que ocorreu o processo de ativação da resistência sistêmica adquirida nas plantas de tomateiro. Tal afirmação pode ser considerada pelo fato do tratamento com AS ter ativado a enzima β 1,3 glucanase nas folhas medianas em relação às basais do tomateiro. Quanto ao potencial dos elicitores sobre o controle da pinta preta do tomateiro os elicitores não demonstraram eficiência no controle da pinta preta, no entanto demonstraram seu potencial elicitor no aumento dos teores de proteínas totais e da enzima β 1,3 glucanase. No entanto é preciso avaliar o potencial destes elicitores em outras formas de controle, tais como em situações a campo e em outros patossistemas.

6. REFERÊNCIAS

ABREU, C. M. D. **Controle de *Alternaria Solani* em Tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com Óleos Essenciais**. 2006. 71f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho”, Botucatu, 2006.

AGRIANUAL. AGRIANUAL 2013: **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria, 2013, 478p.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 4 th ed. New York: Academic Press, 635 p. 2007.

ALVARENGA, M. A. R. **Tomate: produção em campo, casa-de-vegetação e em hidroponia**. 2ª Ed. Lavras. Editora Universitária de Lavras, p.455. 2013.

AMARAL, D. R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. 2008. 92 f. Tese de Doutorado, Programa de Pós Graduação Stricto Sensu em Fitopatologia, Universidade de Lavras, Lavras, 2008.

ANAND, A.; UPPALAPATI, S.R.; RYU, C.; ALLEN, S.N.; KANG, L.; TANG, Y.; MYSORE, K.S. Salicylic Acid and Systemic Acquired Resistance Play a Role in Attenuating Crown Gall Disease Caused by *Agrobacterium tumefaciens*. **Plant Physiology**. v.146, p. 703-715, February 2008.

ANDRADE, C. C. L.; RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. A.; et al. Indutores de resistência no controle da pinta bacteriana do tomateiro e na atividade de enzimas de defesa. **Tropical Plant Pathology**. Recife, v. 38, n.1, p. 028-034, 2013.

ANITH, K.N.; MOMOL, M.T.; KLOEPPER J. W.; MAROIS, J. J.; OLSON, S. M.; JONES, J.B. (2004) Efficacy of plant growth promoting rhizobacteria, acibenzolar-S-methyl, and soil amendment for integrated management of bacterial wilt on tomato. **Plant Disease** 88:669-673.

ASGHARI, M.; AGHDAM, M.S. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. **Trends in Food Science & Technology**. v. 21, p. 502 – 509, 2010.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira): Propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.62,n.1,p.55-61, 2003.

BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oil: a review. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, n.2, p.446-75, 2008.

BELAN, L.; PEREIRA, A. J.; OLIVEIRA, M. J. V. D.; et al. Potencial fitotóxico de diferentes tratamentos utilizados no manejo do oídio na cultura do pepino. In: **XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação**, Universidade do Vale do Paraíba.; Alegre-ES. 2010.

BORSATTI, F. C. **Ácido salicílico na qualidade pós-colheita de frutos, hortaliças folhosas e flores**. 2014. 80f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós- Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2014.

BORSATTI, F. C.; MAZARO, S. M.; DANNER, M. A.; NAVA, G. A.; DALACOSTA, N. L. Indução de resistência e qualidade pós-colheita de amora-preta tratada com ácido salicílico. **Rev. Bras. Fruticultura**. Jaboticabal - SP, v. 37, n. 2, p. 318-326, Junho 2015.

BOSTOCK, R. M. Signal crosstalk and induced resistance: Straddling the between cost and benefit. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.43, p.545-580, 2005.

BOSTOCK, R.M.; KARBAN, R.; THALER, J.S.; WEYMAN, P.D.; GILCHRIST, D. Signal interactions in induced resistance to pathogens and insect herbivores. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, p.103-111, 2001.

BRACKMANN, A.; GIEHL, R. F. H.; SESTARI, I.; WEBER, A.; PINTO, J. A. V.; EISERMANN, A. C. Controle de podridões em maçãs fuji “ frigo conservadas” com a aplicação de fosfitos e cloretos de benzalcônio em pré e pós colheita. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v.15, n.2, p.35-43. 2008.

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**, Athens, v.72, n.1/2, p.248- 254, 1976.

CAMPOS, A. D. Considerações sobre indução de resistência a patógenos em plantas. **Documentos / Embrapa**. Documentos, 264; ISSN 1516-8840. Embrapa Clima Temperado, Pelotas 2009. 28.

CAMPOS, A. D.; HAMPE, M. M. V.; FERREIRA, A. G. Indução de resistência sistêmica à antracnose em feijoeiro-comum pela raça delta avirulenta de *Colletotrichum lindemuthianum*. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.44, n.1, p.15-21, jan. 2009.

CARVALHO, E. D. A. **Indutores de Resistência no manejo da Ferrugem da Soja (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & P.Sydow)**. 2010 65f. Tese de Doutorado em Agronomia/fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

CARVALHO, N.L.; BARCELLOS, A.L. Adoção do manejo integrado de pragas baseado na percepção e educação ambiental. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental - REGET/UFSM** v(5), n°5, p. 749 - 766, 2012.

CASTORIA, R. de C. F.; LIMA G.. de CICO V. *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study on its modes of action. **Postharvest Biology and Technology**. 22, 7-17. 2001.

CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; ZACARONI A. B.; RIBEIRO JUNIOR P. M.; COSTA, J. C. B., SOUZA, R. M. Acibenzolar-S-metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). **Fitopatologia Brasileira** 31: 372-380, 2006.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos em 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, 2005, p.81-124.

CAVALCANTI, L.S.; PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOALATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ. 263 p. 2005. CONRATH, U.; PIETERSE, C.M.J., MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Sci.* 7:210-6. 2002.

COSTA, D. P. SANTOS, C. S.; SERAPHIN, C. J.; FERRI, H. P. Seasonal Variability of Essential Oils of *Eugenia uniflora* Leaves. **Brazil Chemical Sociedad**, vol. 20, n.7, p.1287-1293, 2009.

COSTA, J.B.; RESENDE, M. L.V.; RIBEIRO, J.; CAMILO, F.R.; MONTIRO, A. C. A.; PEREIRA, R. B. (2010) Indução de resistência em mudas de cacaueteiro contra *Moniliophthora perniciosa* por produto à base de mananoligossacarídeo fosforilado. **Tropical Plant Pathology** 35(5):285-294.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; NETO, E. B.; COELHO, R. S.; et. al. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós - colheita. **Summa Phytopathol.**, V.30, N.3, p. 314-319, 2004.

DU, L.; ALI, G. S.; SIMONS, K. A.; HOU, J. G.; YANG, T. B.; REDDY, A. S. N.; POOVAIAH, B. W. Ca²⁺/calmodulin regulates salicylic-acid-mediated plant immunity. **Nature**, London, v. 457, n. 7233, p.1154-U116, 2009.

DURRAN, W. E.; DONG, X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, p.185-209, 2004.

FERNANDES, C. F.; VIEIRA JÚNIOR, J. R.; SILVA, D. S. G.; REIS, N. D.; ANTUNES JÚNIOR, H. **Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos**. Brasília, DF: EMBRAPA, 2009. 14 p.

FILGUEIRA, F. A. R. **Manual de Olericultura - Cultura e comercialização de hortaliças**. 2. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. V. 2, 357p. 1982.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3ª. Ed. Viçosa: Editora UFV. 402p. 2008.

FRANZENER, G.; FRANZENER, A. M.; STANGARLIN, J. R.; et al. Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, V.28, n.1, 29-38 p. 2007.

FREIRE, E. B.; COSTA, V. S. de O.; SANTOS, L. O.; BATISTA, D. da C.; TERAPO, D.; BARBOSA, M. A. G. Efeitos de óleos essenciais na inibição in vitro dos patógenos pós-

colheita de melão *Fusarium pallidoroseum* e *Myrothecium roridum*. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 5. 2015, 2010, **Petrolina**.

GALHIANE, M.S.; RISSATO, S.R.; CHIERICE, G.O.; ALMEIDA, M.V.; SILVA, L.C. Influence of different extraction methods on the yield and linalool content of the extracts of *Eugenia uniflora* L. **Talanta**, Oxford. 70 (2), p. 286-292, 2006.

GECHÉ, V. T. S.; HILLE, J. (2005). Hydrogen peroxide as a signal controlling plant. GIORDANO, L. de B.; SILVA, J. B. C. Escolha de cultivares e plantio. In: SILVA, J.B.C. da; GIORDANO, L.B. **Tomate para processamento industrial**. Brasília: EMBRAPA, p. 36-59, 2000.

GRAÇA, A. J. P. **Heterose e capacidade combinatória de linhagens de tomateiro (*solanumlycopersicum* l.) Prospectadas paraduplafinalidade**. 2013. 61 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós - graduação em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, 2013.

GRÜNER, R.; STROMPEN, G.; PFITZNER, A.P.; PFITZNER, U.M. Salicylic acid and the hypersensitive response initiate distinct signal transduction pathways in tobacco that converge on the *as-1*-like element of the *PR-1* promoter. **European Journal of Biochemistry**, v.270, p.4876-4886, 2003.

GUIMARÃES, L. R. P. **Avaliação da Indução de Resistência no Controle do Vira Cabeça do Tomateiro**. 2013. 95 f. Tese de Mestrado em Agronomia, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista “Julio De Mesquita Filho”, Botucatu, 2013.

GUZZO, S. D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. 2004. 236 f. Tese de Doutorado, Centro de energia nuclear na agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.144, p.449-454, 1996.

GUZZO, S.D.; CASTRO, R.M.; KIDA, K.; MARTINS, E. M. F. Ação protetora do 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.; TSAI, S.M. Identification of coffee genes expressed during systemic acquired resistance and incompatible interaction with *Hemileia vastatrix*. **Journal of Phytopathology**, v.157, p.625-638, 2009.

HAMMOND-KOSACK, K. E.; JONES, J. D. G. Plant disease resistance genes. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. 2003 Nov 28;48:575-607.

HAMMOND-KOSACK, K.; JONES, J.D.G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Physiologists, 2000. p.1102-1156.

HARTMANN, A. M. ; HILMANN, T. ; OLIGINI, K. F.; TIDES, J. ; PADILHA, M. L. ; MAZARO, S. M. . Indução de Resistência a Cotelédones de Soja (*Glycine Max L.*) em Resposta ao Óleo Essencial de Folhas de Pitangueira (*Eugenia Uniflora L.*). In: VII Reunião Brasileira sobre Indução se Resistencia em Plantas e Patógenos, 2014, Maringá. **Anais**

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

HILMANN, T. ; HARTMANN, A. M. ; MAZARO, S. M. ; REY, M. S. ; LEWANDOWSKI, A. ; DALACOSTA, N. L. Efeito Volátil de Óleos Essenciais no Controle *In Vitro* de *Fusarium oxysporum*. In: 48º Congresso Brasileiro de Fitopatologia, São Pedro - SP., 2015. **Anais**.

INOCÊNCIO, A. P. M.; OLIVEIRA, M. B.; SANTOS, E. M.; NASCIMENTO, L. B.; ALVES, E. B.; SOARES, D. A.; LOBO JR., M.; SILVA, S. P. Indução de resistência em planta de feijoeiro infectada por *Sclerotinia sclerotiorum*. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA**, 25, Porto de Galinhas. 2009.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE).
LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA: **Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil**. Brasília: IBGE, 2015.

IRITI, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in: *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.151, n.3, p.171-180, 2003.

ISHI, H.; TOMITA, Y.; NARUSAKA, Y.; NAKASAWA, Y.; NISHIMURA, K.; IWAMOTO, S. Induced resistance of acibenzolar-S-methyl (CGA 245704) to cucumber and Japanese pear diseases. **European Journal of Plant Pathology**. v.105, p. 77-85, 1999.

JALALI, B.L.; BHARGAVA, S.; KAMBLE, A. Signal transduction and transcriptional regulation of plant defense responses. **Journal of Phytopathology**, v.154, p.65-74, 2006.

JÚNIOR, M. B. D. S.; RESENDE, M. L. V. D.; JÚNIOR, P. M. R.; COBUCCI, T.; LIMA, D. A. D. P.; RENNÓ, M. H. L.; SILVA, P. F. M. Fosfito de cobre no manejo da podridão radicular do feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v.38, 452-1), august 2013.

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

KERBAUY, G. B. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 47 p.

KHADEMI, O.; ZAMANI, Z.; MOSTOFI, Y.; KALANTARI, S.; AHMADI, A. Extending Storability of *Persimmon Fruit* cv. Karaj by Postharvest Application of Salicylic Acid. **Journal of Agricultural Science and Technology**. v. 14, p. 1067 – 1074, 2012.

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

LAGO J. H.; SOUZA, E. D.; MARIANE, B.; et al. Chemical and Biological Evaluation of Essential Oils from Two Species of Myrtaceae - *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Revista Molecules** 2011, 16, 9827-9837. Disponível em: <<http://www.bv.fapesp.br/pt/publicacao/54195/chemical-and-biological-evaluation-of-essential-oils-from-tw/>>. Acesso em: 07 nov. 2014.

LAIRD, K.; Phillips, C. Vapour phase : a potential future use for essential oils antimicrobials?. **Lett Appl Microbiol** 2012;54 (3): 169-74.

LAMB, C. J.; LAWTON, M. A.; DRON, M.; DIXON, R. A. Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack. **Cell**, Cambridge, v.56, p.215-224, 1989.

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

LUCAS, G. C. **Óleos essenciais no controle de pinta preta do Tomateiro**. 2012. 92f. Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

MANDAL, S.; MALLICK, N.; MITRA, A. Salicylic Acid-induced Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersico in Tomato. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 47, p. 642 – 649, 2009.

MARQUES, J. S. **Compostos ativos de folhas de *Eugenia uniflora* e seus efeitos contra mofo branco causado por *Sclerotinia sclerotiorum* em plantas de feijoeiro**. 2014. 94f. Dissertação de mestrado, do Programa de Pós - graduação em Biologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

MAZARO, S. M. Idemir CITADINII, I.; GOUVÊA, A. D.; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S. S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1824-1829, out, 2008.

MAZARO, S. M. Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores. 2007.86f. Tese de Doutorado, Programa de Pós - graduação em Agronomia / Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitário, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MAZARO, S.M. et al. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de Pitangueira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1824-1829, 2008.

MORAES, W. B.; JESUS JUNIOR, W. C.; BELAN, L. L.; PEIXOTO, L. D. A.; PEREIRA, A. J. Aplicação foliar de fungicidas e produtos Alternativos reduz a severidade do oídio do tomateiro. **Nucleus**. Espirito Santo, v.8, n.2, 57-68 out.2014.

MORAIS, O. J. D. S.; GOULART, R. D. R.; SANDY, D.; RIBEIRO, N. P. N.; et al. Controle alternativo da mancha aureolada. In: **Jornada Científica e Tecnológica e 3º Simpósio de Pós-Graduação do IFSULDEMINAS.**; Pouso Alegre, 2014.

NETO, J. R. M. C. **Indução de resistência no manejo da fusariose do Tomateiro em São Luís - MA.** 2013.82f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós - graduação em agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2013.

NIMCHUK, Z.;EULGEM, T. HOLT, B.F. & DANGL, J.L. 2003. Recognition and response in the plant immune system. *Annual Review of Genetics*, 37: 579-609.

NOJOSA, G.B. de A.; RESENDE, M.L.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, G.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos.** Piracicaba: FEALQ, 2005.

PARVEEN, M.; HASAN, M. K.; TAKAHASHI, J. Response of *Saccharomyces cerevisiae* to a monoterpene: evaluation of antifungal potential by DNA microarray analysis. **J Antimicrob Chemother** 54(1):46-55, 2004.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.2, p.1-51, 1994.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN, F. A.; KIMATI, H.; AMORIN L. (Eds.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo SP. Agronômica Ceres. vol. 1, pp. 417-453, 1995

PAULA, J. T. de. **Qualidade pós-colheita de genótipos de tomateiro colhidos em diferentes estádios de maturação.** 2013. 79 f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Agronomia área de concentração em Produção Vegetal, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava - PR, 2013.

PEREIRA R. B.; CARVALHO, A. D. F. de.; PINHEIRO, J. B. **Diagnose e controle alternativo de doenças em tomate, pimentão, cucurbitáceas e cenoura**. Circular técnica - EMBRAPA, Comunicado Técnico 95, ISSN 1414.9850. Brasília 2013.

PINTO, M. D. S. T.; RIBEIRO, J. M.; OLIVEIRA, E. A. G. D O. O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. **Revista Brasileira de Biociências**. Porto Alegre, v.9, n. 2, p. 241-248, abr./jun. 2011.

RESENDE, M.L.; COSTA, J.C.B.; CAVALCANTI, F.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; CAMILO, F.R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacauero contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.32, p.213-221, 2007.

REZENDE, J.A.M.; MARTINS, M.C. Doenças do mamoeiro. In: KIMATI, H., AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed). **Manual de Fitopatologia. Doença das plantas cultivadas**. São Paulo: v. 2, p. 435-443. 2005.

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

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

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, 2008. p.227-248.

SHABANA, Y. M.; ABDEL - FATTAH, G. M.; ISMAIL, A. E.; RASHAD, Y. M. Control of brown spot pathogen of rice (*Bipolaris oryzae*) Using some phenolic antioxidants. **Brasilian Journal of Microbiology**, v. (39), p. 438 – 444, 2008.

SILVA, F. A. S. E.; AZEVEDO, C. A. V. de. Principal components analysis in the software assistat-statistical assistance. In: 7th World Congress on Computers in Agriculture, 2009, Reno. Proceedings of the **7th World Congress on Computers in Agriculture**. St. Joseph: ASABE, 2009. v. CD-Rom. p.1-5

SILVA, J. B. C. da.; GIORDANO, L. de B. Produção mundial e nacional. In: Silva, J.B.C. Giordano, L.B. **Tomate para processamento Industrial**. Brasília: Comunicação para transferência de tecnologia/Embrapa Hortaliças, 2000. p. 8-11.

SILVA, L.H.C.P. et al. Efeito do indutor de resistência acibenzolar-S-methyl na proteção contra *Xanthomonas vesicatoria*, *Oidium lycopersic*, *Septoria lycopersici* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.29, n.3, p.244-248, 2003.

SILVA, N.C.C. **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**. 2010. 75f. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós - Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Instituto de biociências, Câmpus Botucatu, universidade estadual de São Paulo, Botucatu, 2010.

SILVA, R. F. **Indução de resistência em plantas de berinjela e tomate por *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra bactérias causadoras de murcha (*ralstonia solanacearum*) e cancro (*Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis*)**. 2007. 109f. Tese de Doutorado, em Agronomia/Fitopatologia, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2007.

SILVIA, 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 *lycopersici* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.29 Septoria, n.3, p.244-248, 2003.

SPOONER, D. M.; PERALTA, I. E.; KNAPP, S. **Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes [*Solanum L. Section Lycopersicon* (Mill) wettst.]**. Taxon, Utrecht, 54: 43-61. 2005.

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**, London, v.57, p.25-34, 2000.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J. A Defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**. vol 10, nº 1, p. 18-46. 2011.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; et. al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**. Volume 10, número 1 - 2011, p 18-46.

STANGARLIN, J. R.; SCHULZ, D. G.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KUHN, O. J. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.1, p.91-98, 2010.

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

STRACK, D. Phenolic metabolism. In: DEY, P. M., HARBORNE, J. B. (Ed.). **Plant Biochemistry**. London: Academic Press, p. 387-416. 1997

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 722 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**; Tradução: SANTAREM et al., 3o ed., Porto Alegre: Artmed, 719p., 2004.

TAVARES, G. M.; LARANJEIRA, D.; LUZ, E. D. M. N.; et al. Indução de resistência do mamoeiro à podridão radicular por indutores bióticos e abióticos. **Pesp. agropec. Bras.** v. 44, n. 11, p. 1416-1423, 2009.

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

TERRY, L. A.; JOYCE, D. C. Suppression of grey mould on strawberry fruit with the chemical plant activator acibenzolar. **Pest Management Science**, Hoboken, v.56, p.989-992, 2000.

THORMAR, H. **Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents**. John Wiley & Sons Ltd, London, p. 338, 2012.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Alternarioses em hortaliças: Sintomas, etiologia e manejo integrado. **Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Vegetal**, São Paulo, v.66, n.1/2, p.23-33, 2004.

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 requeima da batata. *Horticultura Brasileira*, v.23, n.3, p.749-753, 2005.

TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M. **Controle da Pinta Preta em Tomateiro com Preparados Homeopáticos de Própolis**. 2009, 94f. Mestrado em Agronomia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Candido Rondon, 2009.

TOYOTA, M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008. 66 f. Dissertação de mestrado em Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

TOYOTA, M. **Indutores de resistência e os efeitos bioquímico de defesa do Cafeeiro (*Coffea arabica* L.) contra *Hemileia vastatrix***. 2011. 95f. Tese de doutorado, Programa de Pós - Graduação em Agronomia/fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

VALLAD, G. E.; GOODMAN, R. M. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture. **Crop Science Society of America**, Madison, v.44, p.1920-1934, 2004.

VENÂNCIO, W.S.; ZAGONEL, J.; FURTADO, E.L.; SOUZA, N.L.; PERES, N.A.R. Novos fungicidas. II – Famaxadone e indutores de resistência. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 8, p. 59-92, 2000.

VERNOOIJ, B.; UKNES, S.; WARD, E.; RYALS, J. Salicylic acid as a signal molecule in plant-pathogen interactions. **Current Opinion in Cell Biology**, Danvers, v. 6, p. 275-279, 1994.

VLOT, A.C.; DEMPSEY, D.A.; KLESSIG, D.F. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.47, p.177-206, 2009.

WALTERS, D.; NEWTON, A.; LYON, G. **Induced resistance for plant defense a sustainable approach to crop protection.** Oxford: Blackwell, 2007. 258p.

WANG, Y.; KAUSCH, A.P.; CHANDLEE, J.M.; LUO H.; et al.. Co-transfer and expression of xylanase, glucanase, and bar genes in creeping bentgrass for conferring fungal disease resistance. **Plant science.** 165: 497-506. 2003.

WIRTH, S. J.; WOLF, G. A. Micro-plate colorimetric assay for endo-acting cellulase, xylanase, chitinase, 1,3- β -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. **Soil Biology and Biochemistry**, Mandan, v. 24, p.511-519, 1992.

XIN, Z.; YU, Z.; ERB, M.; et al. The broad-leaf herbicide 2,4 dichlorophenoxyacetic acid turns rice into a living trap for a major insect pest and a parasitic wasp. *New Phytol* 2012; 194(2); 498-510.

ZAINURI, D.C.J.; WEARING, H.; COATES, L.; TERRY, L. Effects of phosphonate and salicylic acid treatments on anthracnose disease development and ripening of Kensington Pride mango fruit. **Australian Journal of Experimental Agriculture.** v. 41, n. 6, p. 805–813, 2001.

ZAREIE, R.; MELASON, D. R.; MURPHY, P. J. Isolation of fungal cell wall degrading proteins from barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves infected with *Rhynchosporium secalis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 15, n. 10, p. 1031-1039, 2002.

ZENG, K.; CAO, J.; JIANG, W. Enhancing disease resistance in harvested mango (*Mangifera indica* L. cv. „Matisu”) fruit by salicylic acid. **Journal of The Science of Food and Agriculture.** v. 86, n. 5, p. 694 – 698, April 2006.

ZHAO, H.; WANG, B.; ZHAO, H.; WANG, J. B. Stress stimulus induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber seedling. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 36-40, 2005.