

MARIA ANGÉLICA GUIMARÃES BARBOSA

**RESISTÊNCIA DE ALGODOEIRO À RAMULOSE:
AVALIAÇÃO DE LINHAGENS, INDUTORES QUÍMICOS,
ENZIMAS ENVOLVIDAS NA RESPOSTA DE DEFESA E CUSTO
FISIOLÓGICO DA INDUÇÃO.**

**RECIFE-PE
MARÇO, 2006**

MARIA ANGÉLICA GUIMARÃES BARBOSA

**RESISTÊNCIA DE ALGODOEIRO À RAMULOSE:
AVALIAÇÃO DE LINHAGENS, INDUTORES QUÍMICOS,
ENZIMAS ENVOLVIDAS NA RESPOSTA DE DEFESA E CUSTO
FISIOLÓGICO DA INDUÇÃO.**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Fitossanidade, Área de concentração: Fitopatologia.

**RECIFE-PE
MARÇO, 2006**

Ficha catalográfica
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

B238r Barbosa, Maria Angélica Guimarães
Resistência de algodoeiro à ramulose: avaliação de linhagens, indutores químicos, enzimas envolvidas na resposta de defesa e custo fisiológico da indução / Maria Angélica Guimarães Barbosa – 2006.
143 f. : il.

Orientador: Delson Laranjeira
Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia.
Inclui bibliografia.

CDD 581.2

1. *Gossypium hirsutum*
2. *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*
3. Componentes epidemiológicos
4. Silício
5. Agro-Mós®
6. Acibenzolar-S-metil
7. PR-proteínas
8. Enzima
9. Algodão
10. Indução de resistência
 - I. Laranjeira, Delson
 - II. Título

Marleide Guedes
Bibliotecária
CRB 1135

**RESISTÊNCIA DE ALGODOEIRO À RAMULOSE:
AVALIAÇÃO DE LINHAGENS, INDUTORES QUÍMICOS,
ENZIMAS ENVOLVIDAS NA RESPOSTA DE DEFESA E CUSTO
FISIOLÓGICO DA INDUÇÃO.**

MARIA ANGÉLICA GUIMARÃES BARBOSA

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO

Prof. Dr. Delson Laranjeira – Orientador

Prof. Dr. Rildo Sartori Barbosa Coelho – Co-orientador

Prof. Dr. Egídio Bezerra Neto – Co-orientador

**RECIFE-PE
MARÇO, 2006**

**RESISTÊNCIA DE ALGODOEIRO À RAMULOSE:
AVALIAÇÃO DE LINHAGENS, INDUTORES QUÍMICOS,
ENZIMAS ENVOLVIDAS NA RESPOSTA DE DEFESA E CUSTO
FISIOLÓGICO DA INDUÇÃO.**

MARIA ANGÉLICA GUIMARÃES BARBOSA

Tese defendida e aprovada pela Banca Examinadora

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Delson Laranjeira

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Egídio Bezerra Neto

Dr^a. Maria Menezes

Prof^a. Dra. Rosa de Lima Ramos Mariano

Dr. Nelson Dias Suassuna

Prof. Dr. Sami Jorge Michereff

**RECIFE-PE
MARÇO, 2006**

AGRADEÇO

*A Rildo Sartori Barbosa Coelho,
mais que professor e orientador,
amigo e exemplo a ser seguido*

Aos meus pais Thereza e Paulo

DEDICO

SUMÁRIO

	Folha
AGRADECIMENTOS	vi
SUMÁRIO	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
CAPÍTULO I - Introdução Geral	14
Referências Bibliográficas.....	39
CAPÍTULO II - Resistência de linhagens de algodoeiro à ramulose baseada em componentes epidemiológicos	72
Resumo.....	72
Abstract.....	74
Introdução.....	75
Material e Métodos.....	77
Resultados e Discussão.....	78
Referências Bibliográficas.....	83
CAPÍTULO III - Resistência induzida do algodoeiro à ramulose e atividade de enzimas envolvidas na resposta de defesa da planta	94
Resumo.....	95

Abstract.....	96
Introdução.....	98
Material e Métodos.....	100
Resultados e Discussão.....	104
Referências Bibliográficas.....	109
CAPÍTULO IV - Custo fisiológico da resistência induzida em algodoeiro sob diferentes níveis de nitrogênio.....	121
Resumo.....	121
Abstract.....	123
Introdução.....	124
Material e Métodos.....	126
Resultados e Discussão.....	129
Referências Bibliográficas.....	133
CONCLUSÕES GERAIS.....	142

RESUMO

O algodão é o produto de maior importância econômica do grupo das fibras, porém a produção pode ser seriamente reduzida pela ramulose, doença causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, que tem como principal medida de controle a utilização de cultivares resistentes. No presente estudo, avaliou-se a resistência de linhagens de algodoeiro à ramulose, a indução de resistência por indutores químicos, a atividade de enzimas envolvidas na resposta de defesa e o custo fisiológico da resistência induzida na planta. A avaliação da resistência de 34 linhagens de algodoeiro à ramulose foi realizada com base nos componentes epidemiológicos, índice de doença inicial (IDI), índice de doença final (IDF), taxa de progresso da doença (TPD) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Foi verificado o efeito dos indutores acibenzolar-S-metil (ASM), Agro-Mós[®] (AM) e silicato de sódio (Si) nas linhagens de algodoeiro CNPA GO 2000 – 1256 (resistência intermediária) e CNPA GO 2002 – 7997 (suscetível). Os indutores ASM e AM foram aplicados 5 e 10 dias antes da inoculação do patógeno, através de pulverização foliar, enquanto Si foi incorporado ao substrato. Aos 24 dias após a inoculação, as plantas foram avaliadas quanto ao índice de doença (ID). ASM e AM foram avaliados também, utilizando três dosagens de cada indutor e determinada a atividade de β -1,3-glucanase, peroxidase e fenilalanina amônia liase (PAL), aos cinco e dez dias após a inoculação do patógeno. O custo fisiológico da resistência induzida foi avaliado com base na resposta das plantas aos indutores ASM, AM e ácido jasmônico (AJ) em substratos com dois níveis de nitrogênio. As plantas foram avaliadas quanto à altura (AP), comprimento de internódio (CI), biomassa fresca da parte aérea (BFPA), biomassa fresca da raiz (BFR), biomassa

seca da parte aérea (BSPA) e biomassa seca da raiz (BSR). Também foi determinada a atividade das enzimas PAL e peroxidase. A linhagem CNPA GO 2002 – 7997 é altamente suscetível à doença, com o maior IDF. Foram constatadas correlações significativas ($P=0,05$) entre as variáveis IDI, IDF e AACPD. A análise da distância Euclidiana por UPGMA permitiu a separação das linhagens em dois grupos, um dos quais, formado apenas pela linhagem CNPA GO 2002 – 7997, e o outro grupo pelas demais linhagens. Não foi observada influência da época de aplicação dos indutores. A linhagem CNPA GO 2000 – 1256 apresentou menor ID para todos os indutores em relação à testemunha. A variável AACPD não apresentou interação entre época, cultivar e indutor, embora todos os indutores tenham diferido significativamente da testemunha. De maneira geral, não houve diferença significativa entre dosagens de indutores e testemunha. CNPA GO 2002 – 7997 apresentou considerável aumento na atividade de β -1,3-glucanase quando tratadas com os indutores, enquanto na atividade de peroxidase apenas ASM- D₁ para CNPA GO 2002 – 7997 e ASM- D₃ para CNPA GO 2000 – 1256 diferiram da testemunha, aumentando significativamente a atividade enzimática. Não houve aumento na atividade de PAL. No geral, ASM proporcionou o controle da ramulose do algodoeiro, aumentando os níveis de enzimas envolvidas na resposta de defesa da planta, porém apresentou alto custo fisiológico, com acentuada redução na AP, BFPA e BSPA acompanhada de maior atividade de peroxidase.

Palavras-chaves: *Gossypium hirsutum*, elicitores, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, controle alternativo.

ABSTRACT

Cotton is the higher economically important plant fiber producer, however yield can be seriously reduced by ramulosis, caused by the fungus *Colletotrichum gossypii*

var. cephalosporioides, for that the main control management practice is the use of resistant cultivars. In the present work, it was assessed resistance to ramulose of cotton lines, the induction of resistance by chemical inducers, the activity of enzymes involved in the defense response and the physiological cost of induced resistance in cotton. The resistance evaluation to ramulosis of 34 cotton lines was performed on the basis of epidemiological components, initial disease index (IDI), final disease index (FDI), disease progress rate (DPR) and area under the disease progress curve (AUDPC). It was verified, also, the effect of disease resistance inducers acibenzolar-S-methyl (ASM), Agro-Mós[®] (AM) and sodium silicate (Si) in the cotton cultivars CNPA GO 2000 – 1256 (intermediate resistant) and CNPA GO 2002 – 7997 (susceptible). The inducers ASM and AM were sprayed 5 and 10 days before inoculation of the pathogen, by foliar spray, while Si was mixed to the substrate. At 24 days after inoculation, plants were assessed for disease index (DI), AUDPC and percent control (PC). ASM and AM were also tested using three doses of each inducer and determined the activity of β -1,3-glucanase, peroxidase and phenylalanine ammonia lyase (PAL), at five and ten days after inoculation of the pathogen. The physiological cost of induced resistance was assessed on the basis of plant response to the inducers ASM, AM and jasmonic acid (JA) in substrates fertilized with two levels of nitrogen. Plants were assessed for plant height (PH), internode length (IL), shoot fresh biomass (SFB), root fresh biomass (RFB), shoot dry biomass (SDB) and root dry biomass (RDB). It was also determined the activity of the enzymes PAL and peroxidase. The line CNPA GO 2002 – 7997 showed high susceptibility to disease, with higher FDI. It was obtained significant ($P=0,05$) correlations between the variables IDI, FDI and AUDPC. The analysis of Euclidian distance by UPGMA allowed the separation of lines in two groups, one of them, composed only by line CNPA GO 2002 – 7997, and all the others grouped in a

second one. It was not observed influence of the time of inducers treatment. Line CNPA GO 2000 – 1256 displayed lower DI for all disease resistance inducers compared to the control. The variable AUDPC did not present interaction between period, cultivar and inducer, although all inducers were significantly different from control. In general, no significantly difference could be detected among doses and control. It was verified the activity of β -1,3-glucanase and peroxidase at 10 DAE. CNPA GO 2002 – 7997 showed considerable increase in β -1,3-glucanase, while peroxidase activities only ASM- D₁ to CNPA GO 2002 – 7997 and ASM- D₃ to CNPA GO 2000 – 1656 showed significantly difference from control and increase enzymatic activity. No increase in PAL activity could be detected. ASM produced control of ramulose in cotton, increasing the levels of enzymes involved in the plant defense response, however showed high physiological cost, with accentuated reduction in PH, SFB and SDB followed by a higher activity of peroxidase.

Additional Keywords: *Gossypium hirsutum*, abiotic inducers, *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, alternative control.

Capítulo I

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

O algodoeiro *Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch. pertence à família Malvaceae e o seu cultivo representa 90% da fibra natural produzida mundialmente. Além desta espécie, o gênero é constituído por mais 51, dentre estas, apenas três também são cultivadas e exploradas economicamente: *G. barbadense* L., *G. herbaceum* L. e *G. arboreum* L. (CARVALHO, 1999).

Dentre as fibras vegetais, a mais utilizada pelo homem é a do algodão, cujo comprimento pode atingir 38 mm. Devido às poucas exigências em relação ao solo e ao clima, esta malvácea pode ser produzida, praticamente, em todos os continentes, constituindo um dos produtos de maior importância econômica do grupo das fibras, pelo volume e valor da produção. Tem também grande importância social, devido ao grande número de empregos gerados direta e indiretamente pelo seu cultivo (RICHETTI; MELO FILHO, 2001).

As sementes do algodoeiro são ricas em óleo (18 a 25%) e contêm de 20 a 25% de proteína bruta. O óleo extraído da semente, após ser refinado, é utilizado na alimentação humana e na fabricação de margarina e sabão. A torta, subproduto da extração do óleo, é utilizada na alimentação animal devido ao seu alto valor protéico com 40 a 45% de proteínas. O tegumento é usado para fabricar certos tipos de plásticos e de borracha sintética (BELTRÃO, 2003; RICHETTI; MELO FILHO, 2001). Na alimentação animal, além da torta, são utilizados vários outros subprodutos do algodoeiro, sendo os mais importantes, o farelo, o caroço e as cascas do caroço de algodão (CARDOSO, 2001).

A cultura do algodoeiro é uma das mais importantes do Brasil. No ano de 2004, a área plantada foi de 1,159 milhão ha, com produção de 3.798 milhões t de algodão em caroço (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2006). A produtividade alcançada no Brasil é acima de 1000 Kg fibra/ha, sendo uma das maiores do mundo para condições de sequeiro, pois dos mais de 80 países que cultivam essa fibrosa, apenas Grécia, China, Israel, Síria, Turquia, Espanha e Austrália produzem acima desse valor, porém, todos utilizam irrigação e têm custo de produção superior aos praticados na região Centro-Oeste do Brasil (BELTRÃO, 1998, 2003).

Atualmente, no Brasil, a principal região produtora, é a Centro-Oeste, seguida pela Nordeste. Os principais Estados produtores são, pela ordem: Mato Grosso (1.884 mil t de algodão herbáceo em caroço, com produtividade de 4.011 Kg/ha), Bahia, Goiás, São Paulo e Mato Grosso do Sul. Pernambuco ocupa a 15ª colocação nacional na produção de algodão em caroço (2.305 t de algodão herbáceo em caroço, com produtividade média de 618 Kg/ha) (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2006).

A partir de meados da década de 80 a cultura do algodoeiro entrou em crise, que se prolongou por aproximadamente dez anos. Essa crise ocorreu inicialmente devido ao impacto do bicudo (*Anthonomus grandis* Boheman) nos sistemas de produção dos pequenos produtores do Nordeste, porém a principal causa foi a retirada dos subsídios agrícolas por parte do governo e baixos preços do produto (FREIRE; COSTA e ANDRADE, 1999).

A retomada da produção de algodão no Brasil, principalmente com o deslocamento do eixo produtor do Nordeste para o Centro-Oeste e a utilização de

cultivares obtidas em outras regiões e as novas condições ambientais, levou ao agravamento de problemas fitossanitários (CIA et al. 2002).

Dentre as principais doenças do algodoeiro no Brasil, destaca-se a ramulose, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa como uma das mais importantes dentre todas as doenças fúngicas e bacterianas, principalmente no Cerrado (CIA; FUZATTO, 1999).

A doença foi constatada pela primeira vez no Brasil, em 1936, no Município de Rancharia-SP (COSTA; FRAGA JR, 1937) e, atualmente, encontra-se disseminada por todas as regiões do país, onde o algodoeiro é cultivado. Nos Estados de Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e algumas localidades do Nordeste, as plantações de algodão vêm sofrendo sérios problemas devido à incidência da doença, que ocorre também nos Estados de São Paulo e Paraná. Fora do Brasil, foi relatada somente na Venezuela e Paraguai (CIA; SALGADO, 2005).

Os sintomas da doença iniciam-se nas folhas jovens, com o aparecimento de manchas necróticas de coloração pardo-escura, de formato arredondado, quando localizadas entre as nervuras, e alongadas quando ao longo destas, no pecíolo ou na haste principal. As manchas localizadas nas folhas quando aumentam de tamanho possuem forma estrelada e o tecido necrosado rasga-se e destaca-se, originando lesões perfuradas. Em especial as manchas localizadas nas nervuras podem acarretar o crescimento desigual dos tecidos foliares, ocasionando o enrugamento da superfície do limbo. As lesões que ocorrem no pecíolo ou haste principal da planta, quando progridem, podem causar a queda da folha ou quebra do ponteiro. Posteriormente, observam-se ramificações dos galhos, internódios curtos e intumescidos, deixando a

planta com aspecto ramalhudo, sintoma conhecido como ramulose (CIA; MEHTA, 2001; CIA; SALGADO, 2005; LIMA; BATISTA, 1997; PAIVA et al., 2001).

Quando a doença afeta plantas novas, as gemas terminais podem ser novamente infectadas e morrerem, as novas brotações surgidas em decorrência da morte do meristema apical consomem energia da planta para o crescimento vegetativo em detrimento da formação de estruturas reprodutivas (CIA; SALGADO, 2005). Dependendo da suscetibilidade da cultivar, da idade da planta afetada e das condições climáticas, podem ocorrer perdas de 80% ou mais (FREIRE et al., 1997). As características mais afetadas do algodoeiro, em função da doença, são a produtividade, o peso do capulho, o comprimento e finura da fibra e o peso de sementes (CARVALHO et al., 1984).

O patógeno é disseminado, principalmente, por meio de sementes contaminadas, podendo ser veiculado externamente, na forma de conídios, ou internamente, na forma de micélio dormente (LIMA et al., 1985). A infecção das sementes por *C. gossypii* var. *cephalosporioides* está relacionada com o estágio de desenvolvimento da planta por ocasião da infecção e, também, com as condições climáticas favoráveis ao patógeno (LIMA et al., 1985). Este fungo pode sobreviver no solo de uma safra para a outra, sendo também considerado causador de tombamento de pré e pós-emergência de plântulas (WATKINS, 1981). Quando veiculado pela semente ou presente no solo, o inóculo primário causa lesões em algumas plantas que vão servir como fonte de inóculo secundário. Lesões secundárias ocorrem nas plantas adjacentes propagando-se radialmente, formando reboleiras (SANTOS et al., 1994). A partir de um foco inicial da ramulose, a taxa de progresso é de 1m a cada cinco dias, aproximadamente, enquanto as condições

climáticas permanecerem favoráveis, ou seja, com alta pluviosidade, temperatura entre 25 e 30 °C, considerada ótima para o fungo, e boa fertilidade do solo (SANTOS et al., 1994).

A utilização de sementes saudáveis e o tratamento das sementes contaminadas com fungicidas são medidas recomendadas para o controle da ramulose do algodoeiro. Para obtenção de sementes com melhor qualidade sanitária, é necessário que os campos de produção de sementes tenham baixa incidência da doença, principalmente da ramulose tardia (PAIVA et al., 2001). Em São Paulo, campos com mais de 5% de plantas afetadas não são aprovados para produção de sementes (CIA; FUZZATTO, 1999; CIA; SALGADO, 2005).

Nos estádios iniciais da ramulose tardia, recomenda-se, ainda, as seguintes medidas: inspeção freqüente do campo para localização e erradicação das plantas que possam servir como fonte de inóculo; pulverizações preventivas das plantas saudáveis com fungicidas. Complementarmente, deve-se utilizar o plantio com rotação de culturas e queima de restos culturais (CIA; SALGADO, 2005).

O controle químico com a utilização de fungicidas vem sendo bastante utilizado, sendo indicado o uso de oxiclóreto de cobre, captan, carbendazim, thiram, entre outros (AGROFIT, 2006). A maioria dos produtos é recomendado para tratamento de sementes, podendo o oxiclóreto de cobre ser aplicado quando a doença encontra-se na fase inicial de manchas necróticas, não se mostrando eficiente quando a doença encontra-se na fase de indução de superbrotamento (PAIVA et al., 2001). Segundo Cia e Salgado (2005) e Paiva et al. (2001), a utilização de variedades resistentes é a medida de controle mais indicada para a ramulose do algodoeiro.

Nos últimos anos, grande número de cultivares e linhagens de algodoeiro vêm sendo avaliado quanto à resistência à ramulose (LIMA; BATISTA, 1997; LIMA et al., 1996; MEHTA et al., 2005; NASCIMENTO, 2001; SUASSUNA, 2005). Nos primeiros trabalhos realizados no Brasil, dentre as cultivares locais, apenas a Piratininga 086 possuía resistência (COSTA, 1941). Posteriormente, a linhagem HR 21 T 16 foi eleita como fonte de resistência nos trabalhos de melhoramento do algodoeiro. Esta linhagem é proveniente do cruzamento da Texas 16 com a cultivar 542 (LIMA et al., 1984).

Segundo Carvalho et al. (1985), o nível de resistência à ramulose varia com o grau de pilosidade dos genótipos de algodoeiro. Os glabros são mais resistentes que os pilosos. Em trabalho realizado sobre a herança da resistência à ramulose do algodoeiro, Carvalho et al. (1988) evidenciaram que a resistência é controlada por um par de genes, sendo a suscetibilidade parcialmente dominante, com grau de dominância de 0,95 e herdabilidade de 0,51. Segundo Carvalho et al. (1994) ao determinar a herança da resistência de algodão à ramulose, o efeito de fatores extranucleares genéticos não foi detectado e constataram, também, reduzida influência do ambiente na variação fenotípica das cultivares avaliadas.

Atualmente, várias cultivares foram desenvolvidas com alto grau de resistência à ramulose, tais como, BRS Antares, IAC 23, MT 95-122, BRS FACUAL, dentre outras (CIA et al., 2002; FREIRE; FARIAS, 2001; FREIRE et al., 1997, 1999). As cultivares HR 21T16 e HR 102, apesar de serem altamente resistentes à ramulose, não possuem boas qualidades agronômicas (LIMA; VIEIRA, 1999). Outro problema enfrentado na avaliação de genótipos, é que nem sempre a resistência da planta adulta está relacionada com a resistência no estágio de plântula,

com a percentagem do patógeno nas sementes, ou com a percentagem de transmissão semente-plântula (TANAKA; MENTEN, 1992a, 1992b).

Indução de resistência

A resistência induzida é um estado fisiológico de “aumento de capacidade de defesa” elicitado por um estímulo ambiental específico, quando as defesas da planta são potencializadas contra a chegada de um patógeno (VAN LOON; BAKKER e PIETERSE, 1998). Este aumento na resistência é efetivo contra uma ampla faixa de patógenos e parasitas, incluindo fungos, bactérias, vírus, nematóides, plantas parasitas e até mesmo insetos herbívoros (BENHAMOU; NICOLE, 1999; KESSLER; BALDWIN, 2002; MC DOWELL; DANGL, 2000; STICHER; MAUCH-MANI e MÉTRAUX, 1997; VAN LOON; BAKKER e PIETERSE, 1998).

Os primeiros estudos sobre indução de resistência tiveram início em 1933 com os trabalhos de Chester, nos quais ele se referia à resistência induzida como imunidade fisiológica adquirida (VALLAD; GOODMAN, 2004). Posteriormente, Ross (1961), demonstrou que plantas de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) após infecção localizada com o vírus do mosaico do fumo (TMV) e a formação de lesões necróticas nas folhas inferiores, adquiriam resistência sistêmica contra vários patógenos. Na mesma época, segundo Vallad e Goodman (2004), Cruikshank e Mandryk demonstraram que a infecção de plantas de fumo com *Peronospora tabacina* Adam, agente causal do míldio do fumo, levou a um aumento de resistência contra patógenos foliares. Estes estudos foram o marco para o desenvolvimento dos modelos clássicos da resistência induzida em outras plantas na década de 80, tais como pepino (*Cucumis sativus* L.), feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), arroz (*Oryza*

sativa L.) e *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Ficou demonstrado, então, que a resistência induzida existia em diferentes famílias de plantas e era efetiva contra vários patógenos (VALLAD; GOODMAN, 2004).

O tratamento localizado de plantas com patógenos virulentos ou avirulentos que causam lesões necróticas; com certos microrganismos não patogênicos; ou com certos químicos bióticos e abióticos pode resultar na indução local ou sistêmica de resistência de plantas a doenças causadas por patógenos (FRIEDRICH et al., 1996; GÖRLACH et al., 1996; STICHER; MAUCH-MANI e MÉTRAUX, 1997; VAN LOON; BAKKER e PIETERSE, 1998). A resistência induzida por esses tratamentos é geralmente caracterizada pela redução no tamanho e/ou número de lesões que se desenvolvem após a inoculação da planta induzida com um patógeno virulento e algumas vezes, com a reação de hipersensibilidade induzida por um patógeno avirulento (HAMMERSCHMIDT, 1999a; BAYSAL et al., 2005).

Vários autores fazem a distinção entre duas formas de resistência induzida, que são a resistência sistêmica adquirida (RSA) e a resistência sistêmica induzida (RSI). A RSA pode ser desencadeada pela exposição da planta a agentes bióticos, como microrganismos virulentos, avirulentos e não patogênicos, e abióticos, tais como ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA), ou o éster S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7-carbotióico (acibenzolar-S-metil - ASM) (STICHER; MAUCH-MANI e MÉTRAUX, 1997). Até mesmo extratos de plantas (BAYSAL; ZELLER, 2004), raios ultravioleta (UV) (MERCIER et al, 2000), metais pesados, compostos inorgânicos (ZHAO et al., 2005a), baixas ou altas temperaturas, além de várias formas de estresse para a planta são citados como elicitores abióticos (VALLÉLIAN-BINDSCHIEDLER et al., 1998; ZHAO et al., 2005b).

A RSI é potencializada pelas rizobactérias promotoras de crescimento em plantas (RPCP), que ao contrário da RSA, não envolve o acúmulo de PR-proteínas ou ácido salicílico, e sim devido ao aumento dos reguladores de crescimento, ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET) (PIETERSE et al., 1996, 2000, 2002; PIETERSE; VAN LOON, 1999), evidenciando que as duas formas de resistência sistêmica seguem por rotas metabólicas distintas. Em muitos casos, a infecção por patógenos microbianos e o ataque por insetos herbívoros é associada ao aumento na produção desses hormônios e a concomitante ativação de um grupo de genes relacionados à defesa. Além disso, a aplicação exógena desses compostos resulta frequentemente em um aumento no nível de resistência (PIETERSE et al., 2005).

As respostas de defesa que ocorrem nas plantas que sofrem indução refletem os mecanismos geneticamente fixados típicos para cada espécie de planta (VAN LOON, 1997). Em geral, as respostas de defesa nas plantas expressando RSA incluem reação de hipersensibilidade (SIEGRIST; JEBLICK e KAUSS, 1994), produção de fitoalexinas, acúmulo de espécies de oxigênio reativo (RYALS et al., 1996), acúmulo de PR proteínas (ANFOKA; BUCHENAUER, 1997; CHRIST; MÖSINGER, 1989; ENKERLI; GISI e MÖSINGER, 1993), aumento da atividade de várias enzimas relacionadas à defesa (RYALS et al., 1996), processos de lignificação da parede celular (BENHAMOU; BÉLANGER, 1998; SIEGRIST; JEBLICK e KAUSS, 1994) e formação de papilas na parede celular nos sítios de penetração do fungo fitopatogênico (GÖRLACH et al., 1996; STICHER; MAUCH-MANI e MÉTRAUX, 1997).

Dependendo da planta e do elicitador, um período de tempo é necessário para o início da RSA, que corresponde ao tempo necessário para ocorrer o acúmulo de

ácido salicílico (AS) e proteínas relacionadas à patogênese (PR-proteínas) na planta (CAMERON; DIXON e LAMB, 1994; UKNES et al., 1992; WARD et al., 1991).

Em trabalhos realizados por Van Wees et al. (1999) e por Pieterse et al. (2000), não foram observadas mudanças nos níveis de AJ e ET quando plantas foram inoculadas com rizobactérias, sugerindo que a dependência de AJ e ET na RSI é baseada no aumento da sensibilidade a esses hormônios, e não devido ao aumento da produção desses (PIETERSE et al., 2005).

Mecanismos de Resistência

Tem sido demonstrado, em diferentes estudos de interações hospedeiro-patógeno, que a indução da RSA resulta na proteção de plantas contra uma ampla variedade de fitopatógenos e de insetos herbívoros, devido à ativação de diversos mecanismos de resistência. Entre os mecanismos ativados tem sido observada a resposta de hipersensibilidade, resultando na morte localizada de células do hospedeiro no sítio de infecção do patógeno (OROBER; SIEGRIST e BUCHENAUER, 2002) e alterações estruturais, levando ao fortalecimento da parede celular vegetal pelo depósito de calose e lignina (BENHAMOU; BÉLANGER, 1998; HE; HSIAN e WOLYN, 2002) ou pela formação de papila junto à parede celular no sítio de penetração do patógeno (BESSER et al., 2000). Foi detectado o acúmulo de peróxido de hidrogênio (BAYSAL et al., 2005), de fitoalexinas (LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001) e de PR-proteínas (BOKSHI; MORRIS e DEVERALL, 2003; KISHORE; PANDE e PODILE, 2005) e também, o aumento na atividade de várias enzimas, tais como fenilalanina-amônia-liase (PAL) e peroxidase (BOGS et al., 2004; STADINIK; BUCHENAUER, 2000).

A ativação rápida de reações de defesa em associação com a morte celular do hospedeiro é freqüentemente denominada de resposta de hipersensibilidade. A resposta de hipersensibilidade envolve a morte rápida de células da planta hospedeira após o reconhecimento de moléculas sinalizadoras específicas produzidas pelo patógeno, conhecidas como elicitores (AGRIOS, 2005; DE WIT; SPIKMAN, 1982).

A morte da célula infectada e das adjacentes ocorre devido a uma rápida liberação de espécies de oxigênio reativas, iniciando um aumento nas reações oxidativas, aumentando o movimento de íons, principalmente de K^+ e H^+ através da membrana celular; levando ao rompimento da membrana e perda da integridade da célula, ocorre a ligação de fenóis com os componentes da parede celular e enrijecimento da parede celular da planta, a ativação de proteína kinase, e a produção de substâncias antimicrobianas tais como fitoalexinas e PR-proteínas (AGRIOS, 2005; DANGL; DIETRICH e RICHBERG, 1996).

Fitoalexinas são compostos antimicrobianos de baixo peso molecular, acumulados nas plantas após a invasão do patógeno, estímulo químico ou injúrias (AGRIOS 2005; HEATH, 2001). As fitoalexinas são produzidas pelas células sadias adjacentes às infectadas e na sua maioria inibem o crescimento de fungos fitopatogênicos, podendo ser tóxicas também a bactérias, nematóides e outros organismos. A resposta de resistência ocorre quando uma ou mais fitoalexinas atingem uma concentração suficiente capaz de restringir o desenvolvimento do patógeno (KUC, 1995).

Entretanto, segundo Hammerschmidt (1999b), atualmente existem dúvidas se as fitoalexinas realmente desempenham um papel na defesa de plantas ou são apenas uma resposta na infecção. Ainda de acordo com o mesmo autor, Keen em 1981

relatou várias evidências que suportam o papel das fitoalexinas na resistência a doença, tais como a localização e o momento do acúmulo de fitoalexinas em tecido infectado em relação ao desenvolvimento do patógeno; o uso de inibidores metabólicos que bloqueiam a síntese de fitoalexinas aumenta a suscetibilidade do hospedeiro; e a produção de fitoalexinas antes da inoculação aumenta a resistência do tecido da planta. A produção de fitoalexinas após infecção sugere que um produto do patógeno ou da interação planta-patógeno está envolvido no desencadeamento da biossíntese de fitoalexinas (HAMMERSCHMIDT, 1999b).

As espécies de oxigênio reativo, produzidas a partir de uma explosão oxidativa, estão sob o controle de enzimas como NADPH oxidase e peroxidases (WOJTASZEK, 1997). O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e outras espécies de oxigênio ativadas desempenham importantes funções no início das respostas de defesa da planta contra patógenos, incluindo ação antimicrobiana direta, formação de lignina, produção de fitoalexinas e desencadeamento da RSA (BESTWICK; BROWN e MANSFIELD, 1998; LAMB; DIXON, 1997; MEHDY et al., 1996).

A indução da RSA pelo AS é associada ao acúmulo de PR-proteínas, que são proteínas da planta que aumentam de quantidade quando a mesma é afetada por patógenos, insetos e herbívoros, tratada com certos químicos, ou submetida a outro tipo de estresse (VAN LOON, 1997). A maioria das PR-proteínas é encontrada no espaço extracelular ou no vacúolo. As PR-proteínas vacuolares provavelmente vão afetar a reação de defesa após a desorganização celular, enquanto as PR-proteínas extracelulares ficam diretamente em contato com o patógeno antes e/ou durante a penetração do tecido vegetal (STICHER; MAUCH-MANI e MÉTRAUX, 1997).

As PR-proteínas podem agir bloqueando diretamente o desenvolvimento do microrganismo, via ação hidrolítica na parede celular do patógeno ou por outra atividade antimicrobiana (VAN LOON, 1997), e também agir indiretamente na resistência liberando elicitores oligossacarídeos da parede celular de fungos que são detectados pela planta provocando o acúmulo de fitoalexinas (HAMMERSCHMIDT, 1999b, WRÓBEL-KWIATKOWSKA et al., 2004).

As PR-proteínas, a princípio, foram agrupadas em cinco classes (PR-1 a 5) caracterizadas por meio de técnicas bioquímicas e moleculares em fumo (BOL; LINTHORST e CORNELISSEN, 1990). Posteriormente, em 1994, houve uma unificação da nomenclatura para as PR-proteínas, sendo proposto então, o agrupamento em famílias com base em seqüências de aminoácidos, relação serológica e/ou atividade enzimática ou biológica. A partir de então, as PR-proteínas foram agrupadas em 11 famílias (PR-1 a 11), reconhecidas e classificadas para fumo e tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (VAN LOON et al. 1994). Após esta classificação Van Loon e Van Strien (1999) propuseram a inclusão de mais três famílias de PR-proteínas (PR-12 a 14).

As PR-proteínas β -1,3-glucanase (PR-2) e quitinase (PR-3) são capazes de hidrolisar a β -1,3-glucan e a quitina, respectivamente, que são os principais componentes da parede celular de muitos fungos, podendo interagir sinergisticamente (MAUCH; HADWIGER e BOLLER, 1988a,b; ZHU et al., 1994). As β -1,3-glucanases são caracterizadas por uma massa molecular em torno de 35 KDa e as numerosas isoformas diferem quanto à atividade enzimática, propriedades estruturais, localização celular e padrões de regulação (ESQUERRÉ-TUGAYÉ; BOUDART e DUMAS, 2000).

Após ativação da RSA tem sido detectado um aumento da atividade de β -1,3-glucanase em várias plantas, tais como: melão (*Cucumis melo* L.) (BUZI et al., 2004; ROBY; TOPPAN e ESQUERRÉ-TUGAYÉ, 1988); fumo (PAN; YE e KUĆ, 1991), batata (*Solanum tuberosum* L.) (SCHRÖDER; HAHLBROCH e KOMBRINK, 1992), tomate (BENHAMOU; LAFONTAINE e NICOLE, 1994), feijão (DANN et al., 1996), café (*Coffea arabica* L.) (GUZZO; MARTINS, 1996), pepino (STROBEL et al., 1996; ZHAO et al., 2005b), pimenta (*Piper ssp.*) (HWANG et al., 1997), pêsego (*Amygdalus persica* L.) (EL GHAOUTH; WILSON e CALLAHAN, 2003), arroz (BABU et al., 2003; LIN et al., 2005) e cevada (*Hordeum vulgare* L.) (CASTRO; BACH, 2004).

Em algodoeiro, Colson-Hanks e Deverall (2000), ao tratarem apenas as folhas cotiledonares com Acibenzolar-S-metil (ASM), observaram a diminuição da severidade da doença causada por *Alternaria macrospora* (Sacc.) Sacc. e o aumento de β -1,3-glucanase, inclusive nas folhas distais, corroborando os vários relatos de que ASM induz resistência sistêmica. Em trabalho realizado por Ishida et al. (2004a), para controle de *X. axonopodis* pv. *malvacearum*, houve o aumento de β -1,3-glucanase aos 14 dias após aplicação de ASM.

A fenilalanina-amônia-liase (PAL) é um dos marcadores bioquímicos da resistência induzida que é regulada pelo óxido nítrico (DELLEDONE et al., 1998; ZEIER et al., 2004). Esta enzima está envolvida na principal na rota dos fenilpropanóides, na qual ocorre a biossíntese de compostos fenólicos (DIXON; LAMB, 1990; HAHLBROCK; SCHEEL, 1989). A PAL catalisa a conversão de L-fenilalanina para ácido trans-cinâmico no primeiro passo da rota dos fenilpropanóides e regula a produção de precursores para a síntese de lignina e

compostos fenólicos protetores da parede celular, bem como para o AS (NICHOLSON ; HAMMERSCHMIDT, 1992). Esta rota tem sido associada com o início da resistência em plantas (STICHER; MAUCH-MANI e MÉTRAUX, 1997).

As peroxidases também têm sido implicadas nas respostas de hipersensibilidade (BESTWICK; BROWN e MANSFIELD, 1998) e na formação de papilas e polimerização da lignina (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). O aumento na atividade de peroxidase é freqüentemente associado com a incorporação de compostos fenólicos na parede celular durante interações incompatíveis planta-patógeno/elicitador (BAYSAL et al., 2005). As peroxidases também têm sido implicadas nas reações das proteínas associadas à parede celular, envolvendo glicoproteínas ricas em hidroxiprolina ou glicina. Como resultado da reação oxidativa, a parede celular pode se tornar mais rígida e funcionar como barreira física contra patógenos invasores (BRISSON; TENHAKEN e LAMB, 1994; HIRAGA et al., 2001; SCHEEL, 1998).

Estruturas de defesa da parede celular envolvem várias alterações, inclusive morfológicas, devido à infecção da célula pelo patógeno (AGRIOS, 2005). Numerosos estudos citoquímicos têm mostrado que após vários tipos de estresses o polissacarídeo calose é depositado em sítios selecionados na parede celular das plantas. A calose consiste, principalmente, em β -1,3-glucanase linear, que pode obstruir as conexões existentes no protoplasto de células vizinhas, como os plasmodesmas. Este processo ocorre em poucos minutos após injúria mecânica, porém após invasão do patógeno, há uma rápida formação (2 a 3 horas) de papilas ricas em calose nos locais de penetração (KAUSS, 1992). Embora a principal função das papilas seja reparar os danos causados por ferimentos, elas também previnem a

entrada do fungo na célula hospedeira, podendo formar uma espécie de bainha em torno da hifa de penetração (AGRIOS, 2005).

A lignificação tem sido observada em muitas espécies de plantas após a tentativa de infecção por organismos patogênicos, tais como fungos, bactérias, vírus e nematóides, existindo fortes evidências de seja um importante mecanismo para a resistência a doenças (STICHER; MAUCH-MANI e MÉTRAUX, 1997).

A indução da lignina é acompanhada pelo aumento de enzimas chaves da rota dos fenilpropanóides, tais como a PAL, cinamil álcool desidrogenase e peroxidases (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992). O primeiro passo nesta rota é a deaminação da fenilalanina para ácido cinâmico catalizado pela PAL. A PAL fornece os precursores para lignina e para vários produtos da planta derivados do fenilpropanóide envolvidos na resistência (STICHER; MAUCH-MANI e MÉTRAUX, 1997). A lignificação pode contribuir para a resistência por meio do aumento da rigidez da parede celular, dificultando assim a penetração tanto por ação mecânica como por degradação enzimática do patógeno. Pode, também, constituir uma barreira impedindo o livre movimento de nutrientes, em detrimento do patógeno e, ainda, pode se ligar à parede celular do fungo, tornando-a mais rígida e impermeável, retardando assim, o crescimento e absorção de água e nutrientes (MAUCH-MANI ; SLUSARENKO, 1996).

Indutores

O ASM foi o primeiro composto sintético pertencente a uma nova geração de defensivos agrícolas (benzothiadiazoles) eficientes pela ativação de resistência de plantas (FRIEDRICH et al.; 1996; GÖRLACH et al., 1996). Desde 1996, passou a

ser comercializado na Europa para o controle do oídio do trigo (STADNIK; BUCHENAUER, 2000). Atualmente, encontra-se liberado comercialmente em vários países como protetor de culturas anuais sob o nome de Bion® na Europa ou Actigard™ nos Estados Unidos e produzido pela Syngenta Crop Protection (BAYSAL ; TURGUT, C. e MAO, 2005).

O ASM possui pouca atividade antimicrobiana, mas aumenta a resistência de plantas a doenças pela ativação da rota da RSA. A ação do ASM assemelha-se à do AS como mensageiro secundário, porém demonstra ser independente do AS ou de qualquer outra molécula sinal, ativando o processo de sinalização e levando à expressão de genes relacionados a resistência induzida (BENHAMOU; BÉLANGER, 1998; REUVENI; ZAHAVI e COHEN, 2001). O aumento da resistência proporcionado pelo ASM, é explicado pela formação de papilas e está aparentemente associado com aumento da atividade da PAL e o acúmulo de compostos autofluorogênicos no local de penetração do patógeno (STADINIK; BUCHENAUER, 2000).

O ASM é um produto de baixa toxicidade e sistêmico, que é rapidamente absorvido e translocado através da planta (OOSTENDORP et al., 2001). A indução da RSA pelo ASM foi relatada em vários patossistemas, tais como: pêra japonesa (*Pyrus pyrifolia* L.) - *Venturia nashicola* S. Tanaka; S. Yamam. e *Gymnosporangium asiaticum* Miyabe ex G. Yamada; maçã (*Malus domestica* Borkh.) - *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow; espinafre (*Spinacia oleracea* L.) - *Albugo occidentalis* G.W. Wilson; pimentão (*Capsicum annuum* L.) - *Phytophthora capsici* Leonian e *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* (Doidge) Vauterin; tomate - *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi; *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young et al., X.

axonopodis pv. *vesicatoria*, *A. solani* Sorauer e *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* (Smith) Davis; batata - *A. solani*, *Erysiphe cichoracearum* Jacz. e *Fusarium semitectum* Berk.; Ravenal; fumo - *P. syringae* pv. *tabaci* (Wolf; Foster) Young et al., *Peronospora hyoscyami* f.sp. *tabacina* Skalický, *Cercospora nicotiana* Ellis; Everh., *A. alternata* (Fr.) Keissl, *Thanathephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk e *Tomato spotted wilt virus* (TSWV); roseira (*Rosa* spp. L.) - *Diplocarpon rosae* F.A. Wolf; cebola (*Allium cepa* L.) - *X. axonopodis* pv. *allii* Roumagnac et al.; pepino - *Colletotrichum orbiculare* (Berk.; Mont.) Arx; couve-flor (*Brassica oleraceae* var. *botrytis* L.) - *P. parasitica* Tul.; trigo (*Triticum vulgare* L.) - *Blumeria graminis* (DC) Speer f.sp. *tritici* Marchal.; *Septoria* spp. e *Puccinia recondita* Dietel; Holw. (BAYSAL; TURGUT e MAO, 2005; BAYSAL; SOYLU e SOYLU, 2003; BOKSHI; MORRIS e DEVERALL, 2003; COOLS; ISHII, 2002; FAIZE et al., 2004; PRADHANANG et al., 2005; SUO; LEUNG, 2001; VALLAD; GOODMAN, 2004; ZIADI et al., 2001).

Em plantas de algodão, Ishida et al. (2004b), utilizaram ASM para controle de *X. axonopodis* pv. *malvacearum* e obtiveram 57,81% de controle da mancha angular do algodoeiro em relação à testemunha. Por meio de determinação enzimática, Ishida et al. (2004a) verificaram que houve aumento tanto das atividades das enzimas fenilalanina-amônia-liase, peroxidases e β -1,3-glucanases como na deposição de lignina.

Colson-Hanks; Allen e Deverall (2000), avaliando o efeito de ASM no controle de *A. macrospora*, *X. campestris* pv. *malvacearum* e *Verticillium dahliae* Kleb. em algodoeiro, observaram redução na severidade e na desfolha causadas por *A. macrospora* e *X. campestris* pv. *malvacearum*, assim como diminuição na

incidência de murcha provocada por *V. dahliae*. A marcante redução na suscetibilidade de plantas de algodão a *A. macrospora* foi também verificada por Colson-Hanks e Deverall (2000), assim como um sensível aumento na quantidade de β -1,3-glucanase produzida após indução com ASM.

O AJ e o metil jasmonato (MJ), normalmente referidos como jasmonatos, ocorrem naturalmente como reguladores de crescimento em plantas e desempenham uma importante função como molécula sinal na resposta de defesa de plantas contra infecções por fitopatógenos (TRIPATHI; DUBEY, 2004). A aplicação exógena de MJ tem sido considerada como eficiente na indução de metabólitos secundários nas células das plantas, resultando na expressão de um grupo de genes de defesa e induzindo resistência de plantas à patógenos (EPPLÉ; APEL e BOHLMANN, 1997; KOZLOWSKI; BUCHALA e MÉTRAUX, 1999). Segundo Melan et al. (1993), os jasmonatos interferem em vários processos fisiológicos da planta, incluindo a indução de genes que codificam para polipeptídios específicos das folhas, PAL, inibidores de protease, chalcone sintase e proteínas da parede celular.

Agro-Mos[®] é um elicitor biótico formulado a base de mananoligossacarídeo fosforilado derivado da parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (Hansen) (OLIVEIRA; DANTAS e GURGEL, 2004). Quando testado para controle de podridões causadas por *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon; Maubl. e *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz; Sacc. em frutos de manga (*Mangifera indica* L.), Agro-Mos[®] reduziu a severidade da doença, e elevou os valores de firmeza dos frutos quando comparados com as testemunhas inoculadas (DANTAS et al., 2004).

Apesar do silício (Si) não ser considerado um elemento essencial para o crescimento de plantas, seu papel conferindo resistência a doenças em diversas culturas, vem despertando grande interesse, principalmente a partir da década de 90 (LIANG, 1999; LIANG et al., 2003; POZZA; POZZA e BOTELHO, 2004). Este elemento é o segundo mais abundante na crosta terrestre, apenas superado pelo oxigênio, e é encontrado na solução do solo na forma monomérica ou como ácido monossilícico (H_4SiO_4), prontamente absorvido pelas plantas (POZZA; POZZA e BOTELHO, 2004).

Muitas plantas são capazes de absorver Si, porém dependendo da espécie, a quantidade de Si acumulada na biomassa pode variar de 10 a até mais de 100 g/Kg. As Dicotiledôneas não são consideradas boas acumuladoras de Si, pois a concentração encontrada é menor que 1 g de Si/Kg de biomassa (peso seco) (EPSTEIN, 1999).

Há várias evidências associando a presença de Si com a resistência de plantas contra vários fungos fitopatogênicos, tais como *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun; S. Takam. (MENZIES et al., 1991) e *Pythium* spp. (CHÉRIF et al., 1992a, 1992b; CHÉRIF; ASSELIN e BÉLANGER, 1994) em pepino; *Pyricularia grisea* Sacc. em arroz (DATNOFF; DEREN e SNYDER, 1997; SEEBOLD et al., 2000, 2001, 2004); *B. graminis* f.sp. *hordei* Marchal. em cevada (CARVER; ZEYEN e AHLSTRAND, 1987) e *B. graminis* f.sp. *tritici* em trigo (BÉLANGER; BENHAMOU e MENZIES, 2003). Entretanto, os mecanismos pelos quais o Si fornece proteção contra fungos fitopatogênicos ainda não estão claros (EPSTEIN, 1994; SEEBOLD et al., 2000).

Alguns autores acreditam que o Si age como uma barreira física na parede celular, prevenindo a penetração do fungo no tecido hospedeiro (BOWEN; MENZIES e EHRET, 1992; CARVER; ZEYEN e AHLSTRAND, 1987; SAMUELS et al., 1991a, 1991b), enquanto outros sugerem que o Si está relacionado à reações específicas de defesa da planta (BÉLANGER; BENHAMOU e MENZIES, 2003; CHÉRIF; ASSELIN e BÉLANGER, 1994; CHÉRIF et al., 1992a, 1992b; FAWÉ et al., 1998; RODRIGUES et al., 2003, 2004a).

No patossistema arroz-brusone, considerado modelo para os estudos envolvendo Si, o aumento da resistência do arroz está associado com a densidade de células da epiderme silicificadas ou com a deposição e polimerização do ácido salicílico abaixo da cutícula formando uma camada dupla cutícula-sílica, porém, não houve evidências de que a hifa do fungo não tenha ultrapassado a parede celular fortificada pela deposição de Si (RODRIGUES, 2004b).

Em estudos estruturais e citoquímicos da interação *Magnaporthe grisea* (T.T. Hebert) M.E. Barr - arroz com a aplicação de Si, houve evidências de que o aumento na resistência foi devido ao acúmulo de compostos fenólicos ou fitoalexinas (RODRIGUES et al., 2001).

Existem ainda, inúmeros outros relatos na literatura mostrando uma redução na intensidade de importantes doenças em gramíneas e hortaliças com o uso de Si. Em trabalho realizado com *P. xanthii* em pepino, observou-se que o Si estava envolvido na resistência devido ao aumento da quantidade da atividade antifúngica dentro da planta, e isto foi atribuído a presença de fitoalexinas (FAWÉ et al., 1998). Mais recentemente foi relatado que as células da epiderme de plantas tratadas com Si reagiam especificamente à invasão de *B. graminis* f.sp. *tritici* com formação de

papilas, produção de calose e liberação de compostos fenólicos (BÉLANGER; BENHAMOUR e MENZIES, 2003; RODRIGUES et al., 2004a). Também foi observado o aumento na atividade de peroxidase, polifenoloxidase e quitinase em plantas de pepino de cultivos hidropônicos, infectadas com *Pythium* spp. e que haviam sido recebido aplicação de Si (CHÉRIF; ASSELIN e BÉLANGER, 1994).

Custo fisiológico da Resistência

O fenômeno da indução de resistência vem sendo estudado há várias décadas e consiste em uma interessante alternativa para o controle de fitopatógenos devido à eficiência e amplo espectro de ação. No entanto, a utilização de indutores nem sempre se traduz em benefícios para a produção, visto que, a ativação da resistência demanda um custo de energia por parte da planta.

O conceito de custo da resistência induzida implica em uma diminuição no desempenho da planta que teve o sistema de defesa ativado em comparação com outra planta de fenótipo menos resistente, quando são confrontadas sob condições limitantes que impedem a resistência de apresentar algum efeito benéfico (HEIL, 2001a).

Este conceito tem sido bem desenvolvido para resistência contra insetos herbívoros (HERMS; MATTSON, 1992; SIMMS; FRITZ, 1990; SIMMS; RAUSHER, 1987; STRAUSS et al, 2002), mas raramente tem sido aplicado para resistência sistêmica a patógenos (DIETRICH; PLOSS e HEIL, 2004; HEIL, 2001b).

Segundo Heil e Baldwin (2002), o aumento do custo pode surgir de cinco diferentes formas, tais como: (1) custo do desenvolvimento pode ocorrer se uma grande quantidade de recursos é transferida para a resposta de defesa da planta,

quando seriam necessários para o desenvolvimento desta. Tais recursos ficam indisponíveis para processos relevantes do desenvolvimento da planta, como crescimento e reprodução; (2) custo constitutivo da resistência induzida, visto que a planta deve ter rotas de detecção de ferimentos, precursores de defesa e vesículas de armazenamento, que são necessários para a alocação constitutiva de energia e recursos; (3) custo de autotoxicidade alguns compostos de defesa são tóxicos para a própria planta e sua expressão constitutiva pode significar uma sobrecarga metabólica; (4) o custo ecológico ou ambiental que resulta de um conjunto de interações da planta com o ambiente, pois a resistência dirigida contra um herbívoro ou patógeno pode ter um efeito negativo em insetos simbióticos, como os polinizadores ou microrganismos como micorrizas e bactérias nodulantes; (5) resistência contra um grupo de inimigos pode causar desvantagem para a planta quando é atacada por outro grupo.

O questionamento de que a resistência induzida a patógenos causa ou não relevantes custos ainda está em discussão, porém há vários relatos confirmando o efeito negativo da resistência induzida no desempenho da planta, principalmente sob condições limitantes como a deficiência de nitrogênio. Segundo Dietrich, et al. (2004), o nitrogênio é um dos principais fatores limitantes do crescimento da planta e é fortemente afetado na expressão da resistência tanto constitutiva quanto induzida.

Tanto o AS como AJ são hormônios vegetais envolvidos em processos de desenvolvimento da planta, tais como formação de flores e frutos, e vários efeitos relevantes do aumento dos níveis de AJ e AS podem resultar em mudanças nessas funções devido ao papel de defesa (HEIL, 2001a).

A maioria dos trabalhos avaliando o custo da resistência induzida por AJ está relacionada com herbívoros, visto que os danos causados por estes induzem resistência a partir da rota do AJ. Vários estudos realizados avaliando o custo de resistência a herbívoros identificaram a redução no número de flores (THALER, 1999), ou atraso no florescimento, frutificação, ou ainda no amadurecimento de frutos (AGRAWAL; STRAUSS e STOUT, 1999), quando as plantas foram tratadas com AJ ou metil-jasmonato (MeJA) para induzir resistência.

Em relação ao custo da resistência a doenças em plantas induzidas pelo AS, alguns trabalhos vêm sendo realizados, principalmente utilizando o ASM como indutor.

Hoffland et al. (1996), avaliaram 15 cultivares de rabanete (*Raphanus sativus* L.) quanto à taxa de crescimento e à resistência a *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *raphani* Kendric e Snyder e verificaram uma forte correlação negativa entre taxa de crescimento e resistência, sendo observado que as folhas que possuíam crescimento mais lento nas cultivares resistentes, também possuíam mais material na parede celular.

Em experimentos realizados por Heil et al. (2000), plantas de trigo provenientes de sementes tratadas com ASM, cultivadas hidroponicamente em soluções com diferentes níveis de nitrogênio e não inoculadas com patógeno, tinham menor biomassa e crescimento do que a testemunha não tratada. Neste mesmo trabalho foi conduzido um experimento em campo e aproximadamente um mês após o plantio foi realizado o tratamento com ASM e diferentes níveis de nitrogênio. As testemunhas cresceram mais rápido, bem como apresentaram maior biomassa da raiz. As plantas tratadas cultivadas em níveis médio e alto de nutrientes produziram

menos espigas do que a testemunha correspondente, enquanto as cultivadas na maior concentração de nitrogênio possuíam o número de espigas e de espiguetas por espiga aproximadamente duas vezes maior do que a testemunha.

Sementes de melão quando tratadas com ASM e MeJA possuíam resistência contra *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm e apenas ASM proporcionou proteção contra *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, porém foi observado que as sementes tratadas com os indutores químicos tiveram a germinação afetada, assim como diminuição no crescimento das plântulas. Este efeito foi atribuído ao custo da transferência de processos metabólicos envolvidos no crescimento da planta para a síntese de compostos relacionados à defesa da planta (BUZI et al., 2004).

Plantas de *A. thaliana* cultivadas sob diferentes concentrações de nitrogênio foram tratadas com ASM e a atividade de quitinase, quitosanase e peroxidase foram quantificadas oito dias após a indução. Foi verificado que a atividade das enzimas foi significativamente afetada pela indução, suprimento de nitrogênio e tempo após indução (DIETRICH; PLOSS e HEIL, 2004). Posteriormente, a influência do nitrogênio e do tempo de cultivo na produção de sementes em plantas de *A. thaliana* tratadas com ASM foi estudada e observou-se que uma semana após a indução, as plantas tratadas estavam menores que as testemunhas sob quatro regimes de nitrogênio. As plantas tratadas também produziram menos sementes que as testemunhas em todas as condições de nitrogênio, mas esta diferença foi significativa apenas para o nível intermediário de nitrogênio (DIETRICH; PLOSS e HEIL, 2005).

Segundo Di Piero (2004), de maneira geral, o efeito negativo na produtividade fica claro em situações nas quais o indutor é utilizado repetidas vezes e/ou em doses mais elevadas, principalmente na ausência do patógeno. Mesmo que o

limiar de danos de uma cultura com relação a uma determinada doença seja atingido, o manejo inadequado dos indutores pode causar mais prejuízos do que benefícios à produção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRAWAL, A.A.; STRAUSS, S.Y.; STOUT, M.J. Costs of induced responses and tolerance to herbivory in male and female fitness components of wild radish. **Evolution**, Lancaster, v.53, n.4, p.1093-1104, 1999.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**, 5th ed, Amsterdan: Elsevier Academic Press, 2005, 922p.

AGROFIT. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2005. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.Br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 13/03/2006.

ANFOKA, G.; BUCHENAUER, H. Systemic acquired resistance in tomato against *Phytophthora infestans* by pre-inoculation with tobacco necrosis virus. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.50, n.2, p.85-101, 1997.

BABU, R.M.; SAJEENA, A.; SAMUNDEESWARI, A.V.; SREEDHAR, A.; VIDHYASEKERAN, P.; REDDY, M.S. Induction of bacterial blight (*Xanthomonas*

oryzae pv. *oryzae*) resistance in rice by treatment with acibenzolar-S-methyl. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.143, n.3, p.333-340, 2003.

BAYSAL, Ö.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defense-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, Oxford, v.52, n.6, p.747-753, 2003.

BAYSAL, Ö; GÜRSOY, Y.Z.; ÖRNEK, H.; DURU, A. Induction of oxidants in tomato leaves treated with DL- β -Amino butyric acid (BABA) and infected with *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrech, v.112, n.4, p.361-369, 2005.

BAYSAL, Ö; TURGUT, C.; MAO, G. Acibenzolar-S-methyl induced resistance to *Phytophthora capsici* in pepper leaves. **Biologia Plantarum**, Praha, v.49, n.4, p.599-604, 2005.

BAYSAL, Ö; ZELLER, W. Extract of *Hedera helix* induces resistance on apple rootstock M26 similar to acibenzolar-S-methyl against fire blight (*erwinia amylovora*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.65, n.4, p.305-315, 2004.

BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). **Phytopathology**, Saint Paul, v.93, n.4, p.402-412, 2003.

BELTRÃO, N.E.M. A cultura do algodão no próximo milênio: tendências e perspectivas. **Fibras e Óleos**, Campina Grande, n.27, p. 5. 1998.

BELTRÃO, N.E.M. Em busca da auto-suficiência. **Revista Brasileira de Agropecuária**, São Paulo, n.18, p.12-15, 2003.

BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R.R. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomato. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.118, n.4, p.1203-1212, 1998.

BENHAMOU, N.; LAFONTAINE, P.J.; NICOLE, M. Induction of systemic resistance of *Fusarium* crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. **Phytopathology**, Saint Paul, v.84, n.12, p.1432-1444, 1994.

BENHAMOU, N.; NICOLE, M. Cell biology of plant immunization against microbial infection: the potencial of induced resistance in controlling plant diseases. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.37, n.10, p.703-719, 1999.

BESSER, K.; JAROSH, B.; LANGEN, G.; KOGEL., K.H. Expression analysis of genes induced in barley after chemical activation reveals distinct disease resistance pathways. **Molecular Plant Pathology**, Bristol, v.1, n.5, p.277-286, 2000.

BESTWICK, C.S.; BROWN, I.R.; MANSFIELD, J.W. Localized changes in peroxidase activity accompany hydrogen peroxide generation during the development of a non-host hypersensitive reaction in lettuce. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.118, n.3, p.1067-1078, 1998.

BOGS, J.; RICHTER, K; KIM, W-S.; JOCK, S.; GEIDER, K. Alternative methods to describe virulence of *Erwinia amylovora* and host-plant resistance against fireblight. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, n.1, p.80-89, 2004.

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

BOL, J.F.; LINTHORST, H.J.M.; CORNELISSEN, B.J.C. Plant pathogenesis-related proteins induced by virus infection. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.28, p.113-138, 1990.

BOWEN, P.; MENZIES, J.; EHRET, D. Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.117, n.6, p.906-912, 1992.

BRISSON, L.F.; TENHAKEN, R.; LAMB, C.J. Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v.6, n.12, 1703-1712, 1994.

BUZI, A.; CHILOSI, G.; DE SILLO, D.; MAGRO, P. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-S-methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.152, n.1, p.34-42, 2004.

CAMERON, R.K.; DIXON, R.A.; LAMB, C.J. Biologically induced systemic acquired resistance in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Journal**, Oxford, v.5, n.5, p.715-725, 1994.

CARDOSO, E.G. Subprodutos do algodão como alimento animal. In: EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. p.278-296.

CARVALHO, L.P. O gênero *Gossypium* e suas espécies cultivadas e silvestres. In: BELTRÃO (Org.). **O agronegócio do algodão no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia, 1999. v.1, cap.8, p.231-251.

CARVALHO, L.P.; CAVALCANTI, F.R.; LIMA, E.F.; SANTOS, E.O. Influência da ramulose nas características de fibra e produção do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.3, p.593-598, 1984.

CARVALHO, L.P.; LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; MOREIRA, J.A.N. Herança da resistência à ramulose do algodoeiro (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.13, n.1, p.10-15, 1988.

CARVALHO, L.P.; LIMA, E.F.; RAMALHO, F.S.; LUKEFAHR, M.J.; CARVALHO, J.M.F.C. Influência da pilosidade do algodoeiro na expressão de sintomas da ramulose. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, n.3, p.649-654, 1985.

CARVER, T.L.W.; ZEYEN, R.J.; AHLSTRAND, G.G. The relationship between insoluble silicon and success or failure of attempted primary penetration by powdery mildew (*Erysiphe graminis*) germlings on barley. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.31, n.1, p.133-148, 1987.

CASTRO, O.L.; BACH, E.E. Increased production of β -1,3-glucanase and proteins in *Bipolaris sorokiniana* pathosystem treated using commercial xanthan gum. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v.42, n.2, p.165-169, 2004.

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

CHÉRIF, M.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon-induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.41, n.6, p.411-425, 1992a.

CHÉRIF, M.; MENZIES, J.G.; BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R.R. Studies of silicon distribution in wounded and *Pythium ultimum* infected cucumber plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.41, n. 5, p.371-385, 1992b.

CHRIST, U.; MÖSINGER, E. Pathogenesis-related proteins of tomato: I. Induction by *Phytophthora infestans* and other biotic and abiotic inducers and correlations with resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.35, n.1, p.53-65, 1989.

CIA, E.; FUZATTO, M.G.; PIZZINATTO, M.A.; BORTOLETTO, N. Uma escala para classificação da resistência de cultivares a doenças do algodoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.28, n.1,p.28-34, 2002.

CIA, E.; FUZATTO, M.G. Manejo de doenças na cultura do algodão. In: CIA, E.; FREIRE, E.C.; SANTOS, W.J. (Ed.) **Cultura do algodoeiro**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato- Potafós, 1999. p.121-131.

CIA, E.; MEHTA, Y.R. Doenças do algodoeiro. In: MORESCO, E.; YUYAMA, M.M.; CAMARGO, T.V.; MEHTA, Y.R. (Eds.) **Manual de identificação e manejo das doenças do algodoeiro**. Cuiabá: FACUAL, 2001, p.15-45.

CIA, E.; SALGADO, C.L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.(Ed.) **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, cap.8, 2005. p.42-52.

COLSON-HANKS, E.S.; ALLEN, S.J.; DEVERALL, B.J. Effect of 2,6-dichloroisonicotinic acid or benzothiadiazole on *Alternaria* leaf spot, bacterial blight and *Verticillium* wilt in cotton under field conditions. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, v.29, n.3, p.170-177, 2000.

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

COOLS, H.J.; ISHII, H. Pre-treatment of cucumber plants with acibenzolar-S-methyl systemically primes a phenylalanine ammonia lyase gene (PAL) for enhanced expression upon fungal pathogen attack. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.61, n.5, p.273-280, 2002.

COSTA, A.S.; **Investigações sobre a ramulose**: relatório. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, Seção Algodão, 1941. 42p. (IAC. Relatório, 1012).

COSTA, A.S.; FRAGA JR, C.G. Superbrotamento ou ramulose do algodoeiro. Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 1937. 15p. (Boletim Técnico, 29)

DANGL, J.L.; DIETRICH, R.A.; RICHBERG, M.H. Death don't have no mercy: Cell death programs in plant-microbe interactions. **The Plant Cell**, Rockville, v.8, n.10, 1793-1807, 1996.

DANN, E.K.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J.P.; DEVERALL, B.J. The effect of pathogen inoculation or chemical treatment on activities of chitinase and β -1,3-glucanase and accumulation of salicylic acid in leaves of green bean, *Phaseolus vulgaris* L. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.49, n.5, p.307-319, 1996.

DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA, S.M.A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R.S.B.; SILVA, R.L.X. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.3, p.314-319, 2004.

DATNOFF, L.E.; DEREN, C.W.; SNYDER, G.H. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. **Crop Protection**, Guildford, v.16, n.7, p.525-531, 1997.

DE WIT, P.J.G.M.; SPIKMAN, G. Evidence for the occurrence of race and cultivar specific elicitors or necrosis in intercellular fluids of compatible interactions of *Cladosporium fulvum* and tomato. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 21, n.1, p.1-12, 1982.

DELLEDONE, M.; XIA, Y.; DIXON, R.A.; LAMB, C. Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. **Nature**, London, v.394, n.6693, p.585-588, 1998.

DI PIERO, R.M. Indução de resistência e a produtividade das culturas. In: II REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS E IV SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 2004, Lavras. **Anais...** São Paulo: Resende, M.L.V.-UFLA, p.80-82.

DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Constitutive and induced resistance to pathogens in *Arabidopsis thaliana* depends on nitrogen supply. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.27, n.7, p.896-906, 2004.

DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. Growth responses and fitness costs after induction of pathogen resistance depend on environmental conditions. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.28, n.2, p.211-222, 2005.

DIXON, A.R.; LAMB, C.J. Molecular communication in interaction between plants and microbial pathogens. **Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.41, p.339-367, 1990.

EL GHAOUTH, A.; WILSON, C.L; CALLAHAN, A.M. Induction of chitinase, β -1,3-glucanase, and phenylalanine ammonia lyase in peach fruit by UV-C treatment. **Phytopathology**, Saint Paul, v.93, n.3, p.349-355, 2003.

ENKERLI, J. GISI, U.; MÖSINGER, E. Systemic acquired resistance to *Phytophthora infestans* in tomato and the role of pathogenesis related proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.43, n.3, p.161-171, 1993.

EPPLE, P.; APEL, K.; BOHLMANN, H. Overexpression of an endogenous thionin enhances resistance of *Arabidopsis* against *Fusarium oxysporum*. **The Plant Cell**, v.9, n.4, p.509-520, 1997.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.50, p.641-664, 1999.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, Washington, v.91, n.1, p.11-17, 1994.

ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M.T.; BOUDART, G.; DUMAS, B. Cell wall degrading enzymes, inhibitory proteins, and oligosaccharides participate in the molecular dialogue between plants pathogens. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.38, n.2, p.157-163, 2000.

FAIZE, M.; FAIZE, L.; KOIKE, N.; ISHIZAKA, M.; ISHII, H. Acibenzolar-S-methyl-induced resistance to Japanese pear scab is associated with potentiation of multiple defense responses. **Phytopathology**, Saint Paul, v.94, n.6, p.604-612, 2004.

FAWE, A.; ABOU ZAID, M.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, Saint paul, v.88, n.5, p.396-401, 1998.

FREIRE, E.C.; COSTA, J.N.; ANDRADE, F.P. **Recursos genéticos e melhoramento do algodão no Nordeste do Brasil**. In: Queiróz, M. A. de; Goedert, C. O.; Ramos, S.R.R. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste Brasileiro. Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999a. Disponível em: <<http://www.cpatia.embrapa.br>>. Acesso em: 15 fev. 2006.

FREIRE, E.C.; FARIAS, F.J.C.; AGUIAR, P.H.; ARAÚJO, A.E.; ARANTES, E.M. **Comportamento de novas cultivares e linhagens com relação à doenças no Centro-Oeste, Safra 1998/99**. Campina Grande:EMBRAPA-CNPA, 1999. 7p. (Comunicado Técnico, 99).

FREIRE, E.C.; FARIAS, F.J.C.; Cultivares de algodão para o Centro-Oeste. In: EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. cap.9, p.159-180

FREIRE, E.C.; SOARES, J.J.; FARIAS, F.J.C.; ARANTES, E.M.; ANDRADE, F.P.; PARO, H.; LACA-BUENDIA, J.P. **Cultura do algodoeiro no Estado de Mato Grosso**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1997. 65p. (Circular Técnica, 23).

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

GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUFBEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **The Plant cell**, Rockville, v.8, n.4, p.629-643, 1996.

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, n.9/10, p.449-454, 1996.

HAHLBROCK, K.; SCHEEL, D. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. **Annual Review of Plant Physiological Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.40, p.347-364, 1989.

HAMMERSCHIMIDT, R. Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.55, n.2, p.77-84, 1999a.

HAMMERSCHIMIDT, R. Phytoalexins: What have we learned after 60 years? **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.37, p.285-306, 1999.

HE, C.Y.; HSIAN,T.; WOLYN, D.J.; Induction of systemic disease resistance and pathogen defense responses in *Asparagus officinalis* inoculated with nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. **Plant Pathology**, Oxford, v.51, n.2, p.225-230, 2002.

HEATH, M.C. Pathogenicity factors and resistance mechanisms. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.58, n.4, p.147-148, 2001.

HEIL, M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens – a promising field for ecological research. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, Jena, v. 4, n.2, p.65-79, 2001a.

HEIL, M. The ecological concept of costs of induced systemic resistance (IRS). **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, n.1, p.137-146, 2001b.

HEIL, M.; BALDWIN, I.T. Fitness costs of induced resistance: emerging experimental support for a slippery concept. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.7, n.2, p.61-67, 2002.

HEIL, M.; HILPERT, A.; KAISER, W.; LINSENMAIR, K.E. Reduced growth and seed set following chemical induction of pathogen defence: does systemic acquired resistance (SAR) incur allocation costs? **The Journal of Ecology**, Oxford, v.88, n.4, p.645-654, 2000.

HERMS, D.A.; MATTSON, W.J. The dilemma of plants: to grow or to defend. **The Quarterly Review of Biology**, New York, v.67, n.3, p.283-335, 1992.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v.42, n.5, p.462-468, 2001.

HOFFLAND, E.; NIEMANN, G.J.; VAN PELT, J.A.; PUREVEEN, J.B.M.; EIJKEL, G.B.; BOON, J.J.; LAMBERS, H. Relative growth rate correlates negatively with pathogen resistance in radish: the role of plant chemistry. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.19, n.11, p.1281-1290, 1996.

HWANG, B.K.; SUNWOO, J.Y.; KIM, Y.J.; KIM, B.S. Accumulation of β -1,3-glucanase and chitinase isoforms, and salicylic acid in the DL- β -amino-n-butyric acid-induced resistance response of pepper stems to *Phytophthora capsici*.

Physiological and Molecular Plant Pathology, London, v.51, n. 5, p.305-322, 1997.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção agrícola municipal**. Rio de Janeiro: IBGE. Disponível em:<<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp>> Acesso em 02 out. 2005.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; OLIVEIRA, D.L.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A.; CASTRO, A.M.S.; ZACARONI, A.B. Resistência induzida por acibenzolar-S-metil (ASM) e rizobactérias no controle da mancha-angular (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* - Xam) do algodoeiro. In: II REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS E IV SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 2004, Lavras, **Anais...** Lavras: Resende, M.L.V.-UFLA, 2004a, p. 113.

ISHIDA, A.K.N.; SOUZA, R.M.; RESENDE, M.L.V.; CAVALCANTI, F.R.; OLIVEIRA, D.L.; POZZA, E.A.; ZACARONI, A.B. Atividade das enzimas flialanina amônia-liases, β -1,3-glucanases e peroxidases e deposição de lignina em plantas de algodão tratadas com acibenzolar-S-metil (ASM) e um isolado de rizobactéria e desafiadas contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam). In:II REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS E IV SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 2004, Lavras, **Anais...** Lavras: Resende, M.L.V.-UFLA, 2004b, p.114.

KAUSS, H. Callose and callose syntase. In: GURR, S.J.; MCPHERSON, M.J.; BOWLES, D.J.(Ed.). **Molecular Plant Pathology: a practical approach**. New York: Oxford University Press, New York, 1992, v.2, cap.1, p.1-8.

KESSLER, A.; BALDWIN, I.T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.53, p.299-328, 2002.

KISHORE, G.K.; PANDE, S.; PODILE, A.R. Chitin-supplemented foliar application of *Serratia marcescens* GPS 5 improves control of late leaf spot disease of groundnut by activating defense-related enzymes. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.153, n.3, p.169-173, 2005.

KOZLOWSKI, G.; BUCHALA, A.; MÉTRAUX, J.P. Methyl jasmonate protects Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst.] seedlings against *Pythium ultimum* Trow. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.55, n.1, p.53-58, 1999.

KUĆ, J. Phytoalexins, stress metabolism, and disease resistance in plants. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v.33, p.275-297, 1995.

LAMB, C.J.; DIXON, R.A. The oxidative burst in plant disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.48, p.251-275, 1997.

LATUNDE-DADA, A.O.; LUCAS, J.A. The plant defense activator acibenzolar-S-methyl primes cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] seedlings for rapid induction of resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.58, n.5, p.199-208, 2001.

LIANG, Y.C. Effects of silicon on enzyme activity, and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. **Plant and Soil**, The Hague, v.209, n.2, p.217-224, 1999.

LIANG, Y.C.; CHEN, Q.; ZHANG, W.H.; DING, R.X. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.160, n.10, p.1157-1164, 2003.

LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S. **Avaliação e seleção de linhagens de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch.) visando resistência à ramulose**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1997. 11p. (Comunicado Técnico, 57).

LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; BATISTA, F.A.S.; SANTOS, J.W.; CARVALHO, L.P. Seleção recorrente para resistência à ramulose do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L. var. *latifolium* Hutch). **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.31, n.2, p.101-104, 1996.

LIMA, E.F.; CARVALHO, J.M.F.C.; CARVALHO, L.P.; COSTA, J.N. Transporte e transmissibilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, através de sementes do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.10, n.1, p.105-115, 1985.

LIMA, E.F.; CARVALHO, L.P.; SANTOS, E.O.; CARVALHO, J.M.F.C. Avaliação de germoplasma de algodoeiro para resistência à ramulose causada por *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.9, n.3, p.561-565, 1984.

LIMA, E.F.; VIEIRA, R.M. Melhoramento do algodoeiro para resistência às doenças. In: BELTRÃO (Org.). **O agronegócio do algodão no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para transferência de tecnologia, 1999. v.1, cap.11, p.295-314.

LIN, W.; HU, X.; ZHANG, W.; ROGERS, W.J.; CAI, W. Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.162, n.8, p.937-944, 2005.

MAUCH, F.; HADWIGER, L.A.; BOLLER, T. Antifungal hydrolases in pea tissue. I. Purification and characterization of two chitinases and two β -1,3-glucanases differentially regulated during development and in response to fungal infection. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.87, n.2, p.325-333, 1988a.

MAUCH, F.; HADWIGER, L.A.; BOLLER, T. Antifungal hydrolases in pea tissue. II. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and β -1,3-glucanase. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.88, n.3, p.936-942, 1988b.

MAUCH-MANI, B.; SLUSARENKO, A.J. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica*. **The Plant Cell**, Rockville, v.8, n. 2, p.203-212, 1996.

MCDOWELL, J.M.; DANGL, J.L. Signal transduction in the plant immune response. **Trends in Biochemical Sciences**, Amsterdam, v. 25, n.2, p.79-82, 2000.

MEHDY, M.C.; SHARMA, Y.K.; SATHASIVAN, K.; BAYS, N.W. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.110, n.2, p.365-374, 1996.

MEHTA, Y.R.; ZANDONÁ, C.; BIBANCO, K.R.; ALMEIDA, W.P.; TEIXEIRA, E.A.; CUNHA, H.C.; ERIVALDO, J. Resposta diferencial de cultivares de algodoeiro a *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, n.2, p. 142-145, 2005.

MELAN, M.A.; DONG, X.; ENDARA, M.E.; DAVIS, K.R.; AUSUBEL, F.M.; PATARMAN, T.K. An *Arabidopsis thaliana* lipoxygenase gene can be induced by pathogens, abscisic acid and methyl jasmonate. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.101, n.2, p. 441-450, 1993.

MENZIES, J.; BOWEN, P.; EHRET, D.; GLASS, A.D.M. Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.112, n.6, p.902-905, 1997.

MENZIES, J.; EHRET, D.; GLASS, A.D.M.; HELMER, T.; KOCH, S.; SEYWERD, F. The effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* (Schlect. Fr.) Poll. on *Cucumis sativus* L. **Phytopathology**, Saint Paul, v.81, n.1, p.84-88, 1991.

MERCIER, J.; ROUSSEL, D.; CHARLES, M.T.; ARUL, J. Systemic and local responses associated with UV- and pathogen-induced resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrot. **Phytopathology**, Saint Paul, v.90, n.9, p.981-986, 2000.

NASCIMENTO, J.F. Resistência do algodoeiro e variabilidade de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. 2001. 53f. Tese (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.30, p.369-389, 1992.

OLIVEIRA, S.M.A.; DANTAS, S.A.F.; GURGEL, L.M.S. Indução de resistência em doenças pós-colheita em frutas e hortaliças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 12, p.343-371, 2004.

OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.107, n.1, p.19-28, 2001.

OROBER, M.; SIEGRIST, J.; BUCHENAUER, H.; Mechanisms of phosphate-induced disease resistance in cucumber. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.108, n.4, p.345-353, 2002.

PAIVA, F.A.; ASMUS, G.L.; ARAÚJO, A.E. Doenças. In: EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. cap.13, p.245-267.

PAN, S.Q.; YE, X.S.; KUĆ, J. Association of β -1,3-glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mould in tobacco induced by stem injection with *Peronospora tabacina* or leaf inoculation with *tobacco mosaic virus*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.39, n.1, 25-39, 1991.

PIETERSE, C.M.J.; VAN LOON, L.C. Salicylic acid-independent plant defense pathways. **Trends in Plant Science**, Oxford, v.4, n.2, p.52-58, 1999.

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT, J.A.; TON, J.; PARCHMANN, S.; MUELLER, M.J.; BUCHALA, A.J.; MÉTRAUX, J.P.; VAN LOON, L.C. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 57, n.3, p.123-134, 2000.

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT, J.A.; VAN WEES, S.C.M.; TON, J.; VERHAGEN, B.W.M.; LÉON-KLOOSTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENT, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN JUNIOR, A.; RESENDE, M.L.V.; VAN LOON, L.C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 13, p.277-295, 2005.

PIETERSE, C.M.J.; VAN WEES, S.C.M.; HOFFLAND, E.; VAN PELT, J.A.; VAN LOON, L.C. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. **The Plant Cell**, Rockville, v.8, n.8, p.1225-1237, 1996.

PIETERSE, C.M.J.; VAN WEES, S.C.M.; TON, J.; VAN PELT, J.A.; VAN LOON, L.C. Signalling in rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Biology**, Stuttgart, v.4, n.5, p.535-544, 2002.

POZZA, A.A.; POZZA, E.A.; BOTELHO, D.M.S. O silício no controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.12, p.373-402, 2004.

PRADHANANG, P.M.; JI, P.; MOMOL, M.T.; OLSON, S.M. Application of acibenzolar-S-methyl enhances host resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum*. **Plant Disease**, Saint Paul, v.89, n.9, p.989-993, 2005.

REUVENI, M.; ZAHAVI, T.; COHEN, Y. Controlling downy mildew (*Plasmopora viticola*) in field-grown grapevine by β -aminobutyric acid (BABA). **Phytoparasitica**, Bet Dagan , v.29, n.2, p.125-133, 2001.

RICHETTI, A.; MELO FILHO, G.A. Aspectos socioeconômicos do algodoeiro. In: EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Algodão: tecnologia de produção**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. cap.1, p.13-34.

ROBY, D.; TOPPAN, A.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M.T. Systemic induction of chitinase activity and resistance in melon plants upon fungal infection or elicitor treatment. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.33, n.3, p. 409-417, 1988.

RODRIGUES, F.A. Mecanismos de resistência de plantas a patógenos mediados pelo silício. In: II REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS E IV SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS

DE PLANTAS, 2004, Lavras. **Anais...** Lavras: Resende, M.L.V.-UFLA, 2004b. p.75-79.

RODRIGUES, F.A. Silicon enhanced the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. **Phytopathology**, Saint Paul, v.94, n.2, p.177-183, 2004a.

RODRIGUES, F.A.; BENHAMOU, N.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; BÉLANGER, R.R. Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. **Phytopathology**, Saint Paul, v.93, n.5, p.535-545, 2003.

RODRIGUES, F.A.; DATNOFF, L.E.; KORNDÖRFER, G.H.; SEEBOLD, K.W.; RUSH, M.C. Effect of silicon and host resistance on sheath blight development in rice. **Plant Disease**, Saint Paul, v.85, n.8, p.827-832, 2001.

ROSS, A.F. Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. **Virology**, New York, v.14, n. 3, p.329-339, 1961.

RYALS, J.A.; NEUENSCHWANDER, U.H.; WILLITS, M.G.; MOLINA, A.; STEINER, H-J; HUNT, M.D. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v.8, n.10, p.1809-1819, 1996.

SAMUELS, A.L.; GLASS, A.D.M.; EHRER, D.L.; MENZIES, J.G. Distribution of silicon in cucumber leaves during infection by powdery mildew fungus

(*Sphaerotheca fuliginea*). **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.69, n.1, p.140-192, 1991a.

SAMUELS, A.L.; GLASS, A.D.M.; EHRER, D.L.; MENZIES, J.G. Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v.14, n.4, p.485-492, 1991b.

SANTOS, G.R.; ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MAFFIA, L.A.; VIEIRA, J.M. Progresso e gradiente da ramulose do algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.19, n.3, p.390-393, 1994.

SCHEEL, D. Resistance response physiology and signal transduction. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.1, n.1, p.305-310, 1998.

SCHRÖDER, M.; HAHLBROCH, K.; KOMBRINK, E.; Temporal and spatial pattern of β -1,3-glucanase and chitinase induction in potato leaves infected by *Phytophthora infestans*. **Plant Journal**, Oxford, v.2, n.2, p.161-172, 1992.

SEEBOLD, K.W.; DATNOFF, L.E.; CORREA-VICTORIA, F.J.; KUCHARAK, T.A.; SNYDER, G.H. Effect of silicon rate and host resistance on blast, scald and yield of upland rice. **Plant Disease**, Saint Paul, v.84, n.8, p.871-876, 2000.

SEEBOLD, K.W.; DATNOFF, L.E.; CORREA-VICTORIA, F.J.; KUCHARAK, T.A.; SNYDER, G.H. Effect of silicon and fungicides on the control of leaf and neck blast in upland rice. **Plant Disease**, Saint Paul, v.88, n.3, p.253-258, 2004.

SEEBOLD, K.W.; KUCHARAK, T.A.; DATNOFF, L.E.; CORREA-VICTORIA, F.J.; MARCHETTI, M.A. The influence of silicon on components of resistance to blast in susceptible, partially resistance, and resistant cultivars of rice. **Phytopathology**, Saint Paul, v.91, n.1, p.63-69, 2001.

SIEGRIST, J.; JEBLICK, W.; KAUSS, H. Defense responses in infected and elicited cucumber (*Cucumis sativus* L.) hypocotyls segments exhibiting acquired resistance. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.105, n.4, p.1365-1374, 1994.

SIEGRIST, J.; GLENEWINKEL, D.; KOLLE, C.; SCHMIDTKE, M. Chemically induced resistance in green bean against bacterial and fungal pathogens. **Journal of Plant Disease and Protection**, v. 104, n.3, p.599-610, 1997.

SIMMS, E.L.; FRITZ, R.S. The ecology and evolution of host-plant resistance to insects. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v.5, n.11, p.356-360, 1990.

SIMMS, E.L.; RAUSHER, M.D. Costs and benefits of plant resistance to herbivory. **The American Naturalist**, Chicago, v.130, n.5, p.570-581, 1987.

STADNICK, 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**, Minneapolis, v.57, n.1, p.25-34, 2000.

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

STRAUSS, S.Y.; RUDGERS, J.A.; LAU, J.A.; IRWIN, R.E. Direct and ecological costs of resistance to herbivory. **Trends in Ecology and evolution**, Amsterdam, v.17, n.6, p.278-285, 2002.

STROBEL, N.E.; JI, C.; GOPALAN, S.; KUĆ, J.A.; HE, S.Y. Induction of systemic acquired resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 61 HrpZ_{Pss} protein. **The Plant Journal**, Oxford, v.9, n.4, p.431-440, 1996.

SUASSUNA, N.D Caracterização de populações de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, controle químico e resistência em algodoeiro. 2005. 105f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

SUO, Y.; LEUNG, D.W.M. Elevation of extracelular β -1,3-glucanase and chitinase activities in rose in response to treatment with acibenzolar-S-methyl and infection by *D. rosae*. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v.158, n.8, 971-976, 2001.

TANAKA, M.A.S.; MENTEM, J.O.M. Patogenicidade de *Colletotrichum gossypii* e *c. gossypii* var. *cephalosporioides* a sementes e plântulas de algodoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.17, n.3, p.268-272, 1992a.

TANAKA, M.A.S.; MENTEM, J.O.M. Relação entre a resistência do algodoeiro à ramulose e a transmissão de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* pelas sementes. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.18, n.3/4, p.227-234, 1992b.

THALER, J.S. Induced resistance in agricultural crops: Effect of jasmonic acid on herbivory and yield in tomato plants. **Environmental Entomology**, College Park, v.28, n.2, p.30-37, 1999.

TRIPATHI, P.; DUBEY, N.K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.32, n.3, p.235-245, 2004.

UKNES, S.; MAUCH-MANI, B.; MOYER, M.; POTTER, S.; WILLIAMS, S.; DINCHER, S.; CHANDLER, D.; SLUSARENKO, A.; WARD, E.; RYALS, J. Acquired resistance in *Arabidopsis*. **The Plant Cell**, Rockville, v.4, n.6, p.645-656, 1992.

VALLAD, G.E.; GOODMAN, R.M. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop Science**, Madison, v.44, n.6, p.1920-1934, 2004.

VALLÉLIAN-BINDSCHEDLER, L.; SCHWEIZER, P.; MÖSINGER, E.; MÉTRAUX, J.P. Heat-induced resistance in barley to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei*) is associated with a burst of active oxygen species. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 52, n.3, p.185-199, 1998.

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

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

VAN LOON, L.C.; PIERPOINT, W.S.; BOLLER, T.; CONEJERO, V. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v.12, n.3, p.245-264, 1994.

VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analyses of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, n.2, p.85-97, 1999.

VAN WEES, S.C.M.; LUIJENDIJK, M.; SMOORENBURG, I.; VAN LOON, L.C.; PIETERSE, C.M.J. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* is not associated with a direct effect on expression of known defense-related genes but stimulates the expression of jasmonate-inducible gene *Atvsp* upon challenge. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v.41, n.3, p.537-549, 1999.

WARD, E.R.; UKNES, S.J.; WILLIAMS, S.C.; DINCHER, S.S.; WIEDERHOLD, D.L.; ALEXANDER, D.C.; AHL-GOY, P.; MÉTRAUX, J.P.; RYALS, J.A. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v.3, n.10, p.1085-1094, 1991.

WATKINS, G.M. (Ed.) **Compendium of cotton diseases**. Saint Paul: APS, 1981. 87p.

WOJTASZEK, P. The oxidative burst: A plant's early response against infection. **Biochemical Journal**, London, v.322, n.3, p.681-692, 1997.

WRÓBEL-KWIATKOWSKA, M.; LORENC-KUKULA, K.; STARZYCKI, M.; OSZMIAŃSKI, J.; KEPCZYŃSKA, E.; SZOPA, J. Expression of β -1,3-glucanase in flax causes increased resistance to fungi. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 65, n.5, p.245-256, 2004.

ZEIER, J. DELLEDONNE, M.; MISHINA, T.; SEVERI, E.; SONODA, M.; LAMB, C. Genetic elucidation of nitric oxide signaling in incompatible plant-pathogen interactions. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.136, n.1, p.2875-2886, 2004.

ZHAO, H.; ZHAO, H.; WANG, B.; WANG, J. Effect of local stress induction on resistance-related enzymes in cucumber seedling. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v.43, n.1, p.37-42, 2005b.

ZHAO, H.; ZHAO, H.; WANG, J.; WANG, B. Stress stimulation induced resistance of plant. **Colloids and surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v.43, n.3/4, p.174-178, 2005a.

ZHU, Q.; MAHER, E.A.; MASOUD, S.; DIXON, R.A.; LAMB, C.J. Enhanced protection against fungal attack by constitutive co-expression of chitinase and glucanases genes in transgenic tobacco. **Nature Biotechnology**, New York, v.12, n.8, p.807-812, 1994.

ZIADI, S.; BARBEDETTE, S.; GODARD, J.F.; MONOT, C.; LE CORRE, D.; SILUE, D. Production of pathogenesis-related proteins in the cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) –downy mildew (*Peronospora parasitica*) pathosystem treated with acibenzolar-S-methyl. **Plant Pathology**, Oxford, v.50, n.5, p.579-586, 2001.

Capítulo II

*RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE ALGODOEIRO À
RAMULOSE BASEADA EM COMPONENTES
EPIDEMIOLÓGICOS*

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

A ramulose, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* é uma das principais doenças do algodoeiro no Brasil. A resistência de 34 linhagens de algodoeiro foram avaliada em casa de vegetação. As plantas foram inoculadas com uma suspensão de $5,3 \times 10^5$ conídios/mL e avaliadas a intervalos de quatro dias durante 24 dias. Foram determinados os componentes epidemiológicos, índice de doença inicial (IDI), índice de doença final (IDF), taxa de progresso da doença (TPD) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Sintomas da doença foram observados em todas as linhagens e foram constatadas diferenças significativas entre os genótipos quando considerados o número de agrupamentos nos diferentes componentes epidemiológicos. A linhagem CNPA GO 2002 – 7997 altamente suscetível à doença, com os maiores IDF, TPD e AACPD, enquanto CNPA GO 2002 – 3778, destacou-se com os menores valores de TPD e AACPD e CNPA GO 2001 – 3031 com o menor valor de IDF. Foram constatadas correlações significativas ($P=0,05$) entre as variáveis IDI, IDF e AACPD, no entanto, apenas IDF e AACPD propiciaram elevada correlação. Quando considerado o conjunto dos componentes epidemiológicos, a análise da distância Euclidiana por UPGMA permitiu a separação dos genótipos em dois grupos, um dos quais, formado apenas pela linhagem CNPA GO 2002 – 7997, e o outro grupo pelas demais linhagens.

Palavras-chave adicionais: *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Gossypium hirsutum*, melhoramento de plantas a doenças.

ABSTRACT

Barbosa, M.A.G.; Laranjeira, D.; Coelho, R.S.B.; Morello, C.L. Resistance of cotton lines to ramulosis based on epidemiological components. *Summa Phytopathologica*

The ramulosis caused by *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* is an important disease of cotton in Brazil. The resistance of 34 lines were evaluated under greenhouse conditions. The plants were inoculated with a 5.3×10^5 conidia/mL suspension and evaluated every four days during 24 days. The epidemiological components, index of the initial disease (IID), index of the final disease (IFD), progress disease rate (PDR) and area under the disease progress curve (AUDPC) were determined. All lines showed disease symptoms and presented significant differences among genotypes when considered the number of groups in the different epidemiological components. The line CNPA GO 2002 – 7997 showed high susceptibility, with the highest IFD, PDR and AUDPC, meanwhile CNPA GO 2002 – 3778 had the lowest PDR and AUDPC and CNPA GO 2001 – 3031 with the lowest of IFD. Significant correlations ($P=0,05$) were observed among the variables IID, IFD and AUDPC. However, only IFD and AUDPC propitiated high correlation. When considering all the epidemiological components, the analysis of the Euclidian distance by UPGMA allowed the separation of genotypes into two groups, one constituted by the genotype CNPA GO 2002 – 7997, and a second group formed by all the other genotypes.

Additional Keywords: *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, *Gossypium hirsutum*, plant breeding for disease resistance.

1 A cultura do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das mais importantes no
2 Brasil tanto pelo volume e valor da produção como pela importância social, devido ao
3 grande número de empregos que gera direta e indiretamente (27).

4 Após o período de 1985 a 1997, quando ocorreu a crise do algodão no Brasil,
5 ocasionada pela retirada dos subsídios por parte do governo e aos baixos preços do
6 produto no mercado internacional, houve uma retomada da produção no país,
7 principalmente com os novos cultivos na Região Centro-Oeste, a qual por possuir
8 condições ambientais diferentes das do Nordeste e permanecer utilizando genótipos
9 obtidos em outras regiões, sofreu um agravamento de problemas fitossanitários (9),
10 destacando-se então a ramulose, que se tornou uma das principais doenças do
11 algodoeiro no Brasil.

12 Dependendo da suscetibilidade da cultivar, da idade da planta afetada e das
13 condições climáticas, a ramulose pode ocasionar perdas de 80% ou mais da produção de
14 algodão (14). As características mais afetadas do algodoeiro, em função da doença são a
15 produtividade, o peso do capulho, o comprimento e finura da fibra e o peso de sementes
16 (4). Esta doença encontra-se disseminada por todas as regiões do país, onde o
17 algodoeiro é cultivado.

18 Os sintomas da doença iniciam-se nas folhas jovens, com o aparecimento de
19 manchas necróticas de coloração pardo-escura, de formato arredondado, que ao
20 aumentarem de tamanho assumem forma estrelada. O tecido necrosado pode rasgar-se e
21 destacar-se, originando lesões perfuradas. Quando as manchas estão localizadas sobre as
22 nervuras, no pecíolo ou na haste principal são alongadas e quando progridem, podem
23 causar a queda da folha ou quebra do ponteiro. Posteriormente, observam-se

1 ramificações dos galhos, internódios curtos e intumescidos, deixando a planta com
2 aspecto ramalhudo, sintoma conhecido como ramulose (10, 11).

3 O melhoramento do algodoeiro foi iniciado no Nordeste em 1923, porém as
4 cultivares introduzidas possuíam, em sua maioria, sérios problemas de suscetibilidade a
5 doenças, principalmente ramulose e viroses (12). Desde a década de 40 têm sido
6 realizados estudos com o objetivo de obter cultivares resistentes à ramulose causada
7 pelo fungo *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa (25).

8 A identificação de genótipos resistentes a ramulose vem sendo realizada em
9 vários trabalhos (3, 5, 19, 20, 21, 23, 25, 31) sendo algumas dessas cultivares
10 recomendadas para a região Centro-Oeste, tais como BRS ITA 96, BRS FACUAL, BRS
11 Antares, BRS 197, BRS Aroeira e BRS Sucupira (13).

12 Os estudos sobre reações de genótipos de algodoeiro a *C. gossypii* var.
13 *cephalosporioides* têm sido realizados principalmente quanto a incidência e severidade
14 da doença, com base no índice de doença (6, 8, 20, 25) e média de notas atribuídas por
15 meio de escalas (1, 14, 16). No entanto, poucos trabalhos vêm sendo realizados com
16 base na taxa de progresso e na área abaixo da curva de progresso da doença.

17 Devido a ramulose ter atingido níveis quase epidêmicos em algumas áreas de
18 produção, a busca por novas fontes de resistência a essa doença tem sido intensificada
19 como solução para o seu controle, visto que o processo de desenvolvimento e
20 recomendação de cultivares é dinâmico e contínuo (12) e a comparação de epidemias,
21 baseada em componentes epidemiológicos da doença, constitui uma importante
22 ferramenta para análise quantitativa da resistência de genótipos às doenças de plantas
23 (17).

1 Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a resistência de
2 genótipos de algodoeiro a *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, com base em
3 componentes epidemiológicos da doença, em condições de casa de vegetação.

4 5 **MATERIAL E MÉTODOS**

6 Foram avaliadas 34 linhagens de algodoeiro (gerações F₅ e F₆), procedentes da
7 Embrapa Algodão, em condições de casa de vegetação, em relação a *C. gossypii* var.
8 *cephalosporioides*, com base em componentes epidemiológicos da doença.

9 Foi utilizado o isolado Cgc 287, obtido de algodoeiro cultivar BRS Aroeira,
10 exibindo sintomas da doença, proveniente do Município de Montvidiu – GO. Para
11 instalação do experimento, sementes deslintadas foram desinfestadas com hipoclorito de
12 sódio a 1,5% e semeadas em vasos plásticos, com capacidade de 2,8 L, contendo
13 substrato formado por três partes de solo e uma parte de húmus esterilizado com
14 brometo de metila (Bromex[®]). Foram mantidas quatro plantas/vaso e inoculadas por
15 aspersão 25 dias após a emergência com uma suspensão de *C. gossypii* var.
16 *cephalosporioides* na concentração de $5,3 \times 10^5$ conídios/mL. As plantas foram
17 submetidas à câmara úmida por um período de 72 horas.

18 O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco
19 repetições, sendo a unidade experimental constituída por um vaso com quatro plantas.

20 As avaliações foram realizadas a intervalos de quatro dias a partir da inoculação,
21 durante 24 dias, determinando-se os seguintes componentes epidemiológicos da
22 ramulose: a) índice de doença inicial (IDI), aos 29 dias após a emergência, calculado de
23 acordo com McKinney (22), pela fórmula $ID = \sum (\text{grau da escala} \times \text{freqüência}) \times 100/n^{\circ}$
24 total de unidades \times grau máximo da escala, utilizando-se os dados de severidade da
25 doença, estimada com o auxílio de escala de notas descritiva variando de 1 a 4 (7); b)

1 índice de doença final (IDF), aos 45 dias após a emergência, calculado da mesma forma
2 que o IDI; c) taxa de progresso da doença (TPD), estimada pelo parâmetro b da equação
3 de regressão linear simples. O modelo linear foi escolhido com base no maior
4 coeficiente de determinação da regressão (R^2) para reciprocidade entre valores
5 observados e previstos de incidência da doença, menor quadrado médio do resíduo e
6 ausência de tendências indesejáveis no gráfico de dispersão de resíduos para a maioria
7 das curvas; d) área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculada pela
8 expressão: $AACPD = \sum (y_i + y_{i+1})/2 \cdot d_{ti}$, onde y_i e y_{i+1} são os valores de severidade
9 observados em duas avaliações consecutivas e d_{ti} o intervalo entre as avaliações (30).

10 As análises foram conduzidas em duas etapas: inicialmente, foi realizada a
11 análise univariada, considerando cada variável separadamente. Posteriormente, os dados
12 foram submetidos à análise multivariada, considerando as variáveis em conjunto. Para a
13 análise univariada, os dados foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ e submetidos à análise
14 de variância, sendo as médias comparadas pelo teste de agrupamento Scott-Knott
15 ($P=0,05$). Adicionalmente, foi avaliada a correlação entre as variáveis pela análise de
16 correlação de Pearson ($P=0,05$). Estas análises foram efetuadas com o auxílio do
17 programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas, Universidade Federal de
18 Viçosa, Viçosa – MG, 2003). Considerando o conjunto de variáveis para genótipos de
19 algodoeiro – análise multivariada, empregou-se a análise de agrupamento baseado nos
20 níveis de similaridade utilizando a distância Euclidiana estimada com base no logaritmo
21 de UPGMA. Esta análise foi efetuada com o auxílio do programa STATISTICA for
22 Windows (StatSoft Inc., Tulsa – OK, USA, 2000).

23 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

1 não só em relação a ramulose mas também a outras doenças, como genótipo potencial
2 para lançamento como cultivar.

3 O IDF variou de 18,75% a 51,25% e os genótipos foram distribuídos em três
4 grupos pelo teste de Scott-Knott (Tabela 1). O maior IDF foi apresentado pela linhagem
5 CNPA GO 2002 – 7997, que diferiu significativamente dos demais genótipos,
6 demonstrando assim, uma alta suscetibilidade a ramulose. Os baixos IDF observados no
7 presente trabalho, podem ter ocorrido devido às condições ambientais na casa de
8 vegetação durante a condução do experimento, com alta temperatura ($35 \pm 7^\circ\text{C}$) e baixa
9 umidade relativa do ar ($72 \pm 5\%$), sendo desfavorável ao desenvolvimento da doença.
10 Em estudo realizado sobre a fisiologia do fungo, Carvalho (2), utilizando isolados
11 coletados em regiões algodoeiras do Estado de Goiás, verificou que a melhor
12 temperatura para crescimento de *C. gossypii* var. *cephalosporioides* é a de 28°C , e que
13 abaixo de 15°C e acima de 33°C , o crescimento foi acentuadamente reduzido. Santos et
14 al. (29), analisando o progresso e o gradiente da ramulose em condições de campo, no
15 Estado de Minas Gerais, observaram que houve um aumento da doença no período em
16 que a umidade relativa do ar atingiu 90% e a temperatura foi de 18°C , não sendo
17 observado aumento da incidência da doença na época em que as chuvas cessaram e a
18 temperatura mínima caiu para $12,8^\circ\text{C}$. Nascimento (25), avaliando a resistência de
19 genótipos de algodoeiro à ramulose em condições de campo, observou que o ID em
20 todos os genótipos testados aumentou com o passar do tempo até os 135 dias após a
21 emergência, e que a umidade relativa do ar permaneceu acima de 75% e temperatura
22 máxima em torno de 30°C e a mínima em torno de 20°C , evidenciando que estas
23 variáveis climáticas são importantes na severidade da doença. Condições de temperatura
24 diferentes do ótimo para o desenvolvimento do patógeno levam à redução da taxa de

1 desenvolvimento da doença, principalmente devido a um decréscimo no número de
2 novas infecções e diminuição do inóculo, e o patógeno, que já se encontra no tecido
3 infectado, continua seu desenvolvimento lentamente até que condições favoráveis de
4 temperatura voltem a ocorrer (28, 33). A umidade é necessária para que a maioria dos
5 fungos de parte aérea complete todos os estágios de infecção, sendo particularmente
6 necessária para a esporulação e germinação de esporos de vários fungos (15).

7 A taxa de progresso da doença (TPD) variou significativamente entre os
8 genótipos, sendo distribuídos em dois grupos de similaridade. A TPD variou de 0,0134
9 (CNPA GO 2002 – 7997) a 0,0034 (CNPA GO 2002 – 3778) (Tabela 1). Valores
10 baixos de TPD implicam em maior tempo para que a doença alcance níveis epidêmicos,
11 caracterizando desta forma, o comportamento de plantas com alta resistência horizontal
12 (26).

13 Os valores da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) variaram
14 entre os genótipos com valores extremos de 360,62 para CNPA GO 2002 – 3778 (grupo
15 de similaridade B) a 811,87 para CNPA GO 2002 – 7997 (grupo de similaridade A)
16 indicando diferenças quanto à resistência entre os genótipos (Tabela 1). Estes resultados
17 assemelham-se com os obtidos por Lanza et al. (18) ao avaliar diferentes genótipos de
18 algodoeiro para resistência à ramulose. Segundo estes autores, a AACPD variou de
19 305,97 a 1883,2, e foram separados em três grupos pelo teste de Scott Knott, sendo o
20 grupo considerado resistente com AACPD variando de 305, 97 a 395,85, enquanto o
21 grupo dos genótipos suscetíveis variou de 1095,62 a 1883,2. A AACPD é considerada
22 como o melhor índice para medir a efetividade de fungicidas e resistência de plantas a
23 patógenos por usar todos os dados disponíveis das diferentes avaliações e não ser

1 afetada por transformações que possam influenciar a taxa de desenvolvimento da
2 doença (32).

3 Dentre as linhagens avaliadas quanto à resistência à ramulose do algodoeiro,
4 algumas merecem destaque, tais como CNPA GO 2002 – 3778, presente no grupo de
5 maior resistência à ramulose, sempre com valores extremos de TPD e AACPD e a
6 linhagem CNPA GO 2002 – 7997 que possui alta suscetibilidade à ramulose com maior
7 IDF.

8 Foram constatadas correlações significativas ($P=0,05$) entre as variáveis IDI,
9 IDF, TPD e AACPD (Tabela 2). A única correlação em nível muito alto ocorreu entre o
10 IDF e AACPD, indicando a utilização de uma dessas variáveis na avaliação da
11 resistência a ramulose em algodoeiro. Correlações significativas verificaram-se em
12 relação ao IDI e TPD, IDF e TPD e IDI e AACPD, embora a correlação entre TPD e
13 AACPD não tenha sido significativa. Embora o IDI tenha sido correlacionado com IDF
14 e AACPD, deve ser destacado que esta variável não foi eficiente em caracterizar o
15 comportamento dos genótipos quanto à resistência ou suscetibilidade à ramulose. E a
16 correlação negativa entre TPD e IDI provavelmente ocorreu devido à resistência da
17 planta adulta nem sempre estar relacionada com a resistência no estágio de plântula
18 (Tanaka; Menten, 1992)

19 **Inserir Tabela 2**

20 Com base no conjunto dos componentes epidemiológicos da ramulose do
21 algodoeiro, a análise da distância Euclidiana por UPGMA permitiu a distinção de dois
22 grupos de similaridade entre os genótipos, quando considerado 50% da distância total
23 verificada (Figura 1). Um grupo foi formado somente pela linhagem CNPA GO 2002 -
24 7997, e o segundo grupo pelas demais linhagens. Estes resultados demonstram a

1 existência de variabilidade entre os genótipos em relação à ramulose, considerando os
2 componentes epidemiológicos e a alta suscetibilidade da linhagem CNPA GO 2002 –
3 7997.

4 **Inserir Figura 1**

5 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 6 1. Andrade, D.F.A.A.; Lamas, F.M.; Fortuna, P.A. Comportamento de
7 cultivares/linhagens de algodoeiro frente à ocorrência de doenças em Chapadão
8 do Sul, MS, Safra 1998/99. In: Congresso Brasileiro de Algodão, 2., 1999,
9 Ribeirão Preto. Anais. Campina Grande: Embrapa – CNPA, 1999. p. 458-460.
- 10 2. Carvalho, I. Aspectos fisiológicos do fungo “*Colletotrichum gossypii* South.
11 var. *cephalosporioides* Costa”. Revista da Sociedade Brasileira de
12 Fitopatologia, Brasília, v.4, n.1, p.1-2, 1971.
- 13 3. Carvalho, L.P.; Carvalho, J.M.F.C.; Lima, E.F.; Cavalcante, F.B. Influência da
14 concentração de esporos da patogenicidade de *Colletotrichum gossypii* South.
15 var. *cephalosporioides* A.S. Costa e avaliação da resistência de cultivares e
16 linhagens de algodoeiro herbáceo à ramulose. Fitopatologia Brasileira, Brasília,
17 v.6, n.3, p.395-402, 1981.
- 18 4. Carvalho, L.P.; Cavalcanti, F.R.; Lima, E.F.; Santos, E.O. Influência da
19 ramulose nas características de fibra e produção do algodoeiro. Fitopatologia
20 Brasileira, Brasília, v.9, n.3, p.593-598, 1984.
- 21 5. Carvalho, L.P.; Lima, E.F.; Ramalho, F.S.; Lukefahr, M.J.; Carvalho, J.M.F.C.
22 Influência da pilosidade do algodoeiro na expressão de sintomas da ramulose.
23 Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.10, n.3, p.649-654, 1985.

- 1 6. Cassetari Neto, D.; Machado, R.S.S. Comportamento de diferentes genótipos
2 de algodoeiro quanto à susceptibilidade a doenças. In: Moresco, E.; Yuyama,
3 M.M.; Camargo, T.V.; Mehta, Y.R. (Eds.) Manual de identificação e manejo
4 das doenças do algodoeiro. Cuiabá: FACTUAL , 2001, p.115-119.
- 5 7. Cia, E.; Fuzatto, M.G.; Gridi-Papp, I.L.; Soave, J. Avaliação da intensidade da
6 ramulose do algodoeiro através de inoculação artificial. In: Reunião Nacional
7 do Algodão, 2., 1982, Salvador. Resumos. Campina Grande: Embrapa –
8 CNPA, 1982. p.241.
- 9 8. Cia, E.; Fuzatto, M.G.; Pizzinato, M.A.; Pettinelli Jr., A.; Paulo, E.M.;
10 Zimback, L.; Silva, M.A.; Bortoletto, N.; Vasconcelos, A.S.A. Comportamento
11 de novas linhagens na presença de doenças que ocorrem na cotonicultura da
12 região meridional do Brasil. In: Congresso Brasileiro de Algodão, 2., 1999,
13 Ribeirão Preto. Anais. Campina Grande: Embrapa – CNPA, 1999. p. 441-443.
- 14 9. Cia, E.; Fuzatto, M.G.; Pizzinato, M.A.; Bortoletto, N. Uma escala para
15 classificação da resistência de cultivares a doenças do algodoeiro. Summa
16 Phytopathologica, Jaguariúna, v.28, n.1, p.28-34, 2002.
- 17 10. Cia, E.; Mehta, Y.R. Doenças do algodoeiro. In: Moresco, E.; Yuyama, M.M.;
18 Camargo, T.V.; Mehta, Y.R. (Eds.) Manual de identificação e manejo das
19 doenças do algodoeiro. Cuiabá: FACTUAL , 2001, p.15-45.
- 20 11. Cia, E.; Salgado, C.L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: Kimati, H.;
21 Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamim Filho, A.; Camargo, L.E.A.(Ed.)
22 Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4 ed. São Paulo:
23 Agronômica Ceres, v.2, cap.8, 2005. p.42-52.

- 1 12. Freire, E.C.; Costa, J.N.; Andrade, F.P. Recursos genéticos e melhoramento do
2 algodão no Nordeste do Brasil. In: Queiróz, M. A. de; Goedert, C. O.; Ramos,
3 S.R.R. (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste
4 brasileiro. Petrolina, PE: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa
5 Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999. Disponível em:
6 <<http://www.cpatia.embrapa.br>>. Acesso em: 15 fev. 2006.
- 7 13. Freire, E.C.; Farias, F.J.C. Cultivares de algodão para o Centro-Oeste. In:
8 Embrapa Agropecuária Oeste. Algodão: tecnologia de produção. Dourados:
9 Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. cap.9, p.159-180.
- 10 14. Freire, E.C.; Farias, F.J.C.; Aguiar, P.H.; Araújo, A.E. Comportamento de
11 novas cultivares e linhagens com relação a doenças no centro-oeste – Safra
12 1998/99. In: Congresso Brasileiro de Algodão, 2., 1999, Ribeirão Preto. Anais.
13 Campina Grande: Embrapa – CNPA, 1999. p. 454-457.
- 14 15. Fry, W.E. Principles of plant disease management, New York: Academic Press,
15 1982. cap. 5, p.83-103.
- 16 16. Fuzatto, M.G.; Cia, E.; Chiavegato, E.J.; Pizzinatto, M.A.; Erismann, N.M.;
17 Zimback, L. Variabilidade genética e potencial de seleção para resistência à
18 ramulose em cultivares e linhagens avançadas de algodoeiro. In: Congresso
19 Brasileiro de Algodão, 2., 1999, Ribeirão Preto. Anais. Campina Grande:
20 Embrapa – CNPA, 1999. p. 473-475.
- 21 17. Kranz, J. Comparative epidemiology of plant diseases. Berlin: Springer-Verlag,
22 2002. 206p.
- 23 18. Lanza, M.A.; Fallieri, J.; Guimarães, F.B.; Reis, E.I.; Silva, P.J. Avaliação do
24 progresso da ramulose do algodoeiro. In: Congresso Brasileiro de Algodão, 2.,

- 1 1999, Ribeirão Preto. Anais. Campina Grande: Embrapa – CNPA, 1999. p.
2 485-487.
- 3 19. Lima, E.F.; Batista, F.A.S. Avaliação e seleção de linhagens de algodoeiro
4 (*Gossypium hirsutum* L. r. *latifolium* Hutch.) visando resistência à ramulose.
5 Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1997. 11p. (Comunicado Técnico, 57).
- 6 20. Lima, E.F.; Carvalho, J.M.F.C.; Batista, F.A.S.; Santos, J.W.; Carvalho, L.P.
7 Seleção recorrente para resistência à ramulose do algodoeiro (*Gossypium*
8 *hirsutum* L. var. *latifolium* Hutch). Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília,
9 v.31, n.2, p.101-104, 1996.
- 10 21. Lima, E.F.; Carvalho, L.P.; Santos, E.O.; Carvalho, J.M.F.C. Avaliação de
11 germoplasma de algodoeiro para resistência à ramulose causada por
12 *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. Fitopatologia Brasileira,
13 Brasília, v.9, n.3, p.561-565, 1984.
- 14 22. McKinney, H.H. Influence of soil temperature and moisture on infection of
15 wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. Journal of Agricultural
16 Research, Washington, v.26, n.5, p.195-219, 1923.
- 17 23. Mehta, Y.R.; Zandoná, C.; Bibanco, K.R.; Almeida, W.P.; Teixeira, E.A.;
18 Cunha, H.C.; Erivaldo, J. Resposta diferencial de cultivares de algodoeiro a
19 *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. Summa Phytopathologica,
20 Botucatu, v.31, n.2, p.142-145, 2005.
- 21 24. Morello, C.L.; Suassuna, N.D.; Freire, E.C.; Santos, J.W.; Bezerra, W.;
22 Assunção, J.H.; Fernandes, J.I.; Andrade, F.P.; Guilherme, R.; Leite, M.C.L.;
23 Barbosa, K.A. Comportamento produtivo e sanitário de linhagens de algodoeiro
24 (*Gossypium hirsutum* L.) desenvolvidas para condições de cerrado.In:

- 1 Seminário do Algodão em Goiás-GOIÁSFIBRA, 3., 2004, Goiânia.
2 Melhoramento genético: oral. Goiânia: Embrapa Algodão/Fundação
3 GO/Fialgo/Agopa, 2004. 1 CD-ROM.
- 4 25. Nascimento, J.F. Resistência do algodoeiro e variabilidade de *Colletotrichum*
5 *gossypii* var. *cephalosporioides*. 2001. 53f. Tese (Mestrado em Fitopatologia) –
6 Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- 7 26. Parlevliet, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic
8 development. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v.17, p.203-222,
9 1979.
- 10 27. Richetti, A.; Melo Filho, G.A. Aspectos socioeconômicos do algodoeiro. In:
11 Embrapa Agropecuária Oeste. Algodão: tecnologia de produção. Dourados:
12 Embrapa Agropecuária Oeste, 2001. cap.1, p.13-34.
- 13 28. Rotem, J. Climatic and weather influences on epidemics. In: Horsfal, J.G.;
14 Cowlings, E.B. (Ed.) Plant Disease: An advanced treatise. New York:
15 Academic Press, 1978. v.2, cap.7, p.317-334.
- 16 29. Santos, G.R.; Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Maffia, L.A.; Vieira, J.M. Progresso
17 e gradiente da ramulose do algodoeiro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.19,
18 n.3, p.390-393, 1994.
- 19 30. Shaner, G.; Finney, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression
20 of slow-mildewing resistance in knox wheat. Phytopathology, St. Paul, v.67,
21 n.8, p.1051-1056, 1977.
- 22 31. Suassuna, N.D Caracterização de populações de *Colletotrichum gossypii* var.
23 *cephalosporioides*, controle químico e resistência em algodoeiro. 2005. 105f.
24 Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

- 1 32. Waggoner, P.E. Progress curves of foliar diseases: Their interpretation and use.
2 In: Leonard, K.J.; Fry, W.E. (Ed.) Plant Disease Epidemiology: Population
3 dynamics and management. New York: Macmilliam Publishing Company,
4 1986, v.1, cap.1, p.3-37.
- 5 33. Zadoks, J.C.; Schein, R.D. Epidemiology and plant disease management.
6 Oxford: University Press, 1979. 427p.
- 7
8
9
10

1 **Tabela 1.** Reação de genótipos de algodoeiro a *Colletotrichum gossypii* var.
 2 *cephalosporioides*, baseada nos componentes epidemiológicos da ramulose: índice de
 3 doença inicial (IDI), índice de doença final (IDF), taxa de progresso da doença (TPD) e
 4 área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).
 5

Genótipos	IDI (%)¹	IDF (%)²	TPD³	AACPD⁴
CNPA GO 2000 – 1167	12,50 a ⁵	32,50 b	0,0070 b	637,50 a
CNPA GO 2000 – 1021	5,00 b	25,00 c	0,0066 b	489,37 b
CNPA GO 2000 – 999	15,00 a	28,75 c	0,0046 b	658,75 a
CNPA GO 2000 – 1156	7,50 a	26,25 c	0,0062 b	473,12 b
CNPA GO 2000 – 1256	6,25 a	27,50 c	0,0076 b	564,37 b
CNPA GO 2000 – 1093	5,00 b	23,75 c	0,0074 b	490,62 b
CNPA GO 2001 – 2984	5,00 b	22,50 c	0,0064 b	463,75 b
CNPA GO 2001 – 1463	1,25 b	23,75 c	0,0080 a	475,00 b
CNPA GO 2001 – 2161	12,50 a	30,00 c	0,0058 b	687,50 a
CNPA GO 2001 – 3033	7,50 a	30,00 c	0,0068 b	553,12 b
CNPA GO 2001 – 3031	2,50 b	18,75 c	0,0058 b	400,00 b
CNPA GO 2001 – 22	8,75 a	27,50 c	0,0064 b	614,37 a
CNPA GO 2001 – 2214	11,25 a	28,75 c	0,0052 b	683,12 a
CNPA GO 2002 – 7984	5,00 b	30,00 c	0,0080 a	645,00 a
CNPA GO 2002 – 2418	10,00 a	26,25 c	0,0056 b	659,37 a
CNPA GO 2002 – 1689	2,50 b	23,75 c	0,0078 a	447,50 b
CNPA GO 2002 – 3131	5,00 a	23,75 c	0,0056 b	498,12 b
CNPA GO 2002 – 6225	1,25 b	23,75 c	0,0086 a	469,37 b

CNPA GO 2002 – 140	1,25 b	28,75 c	0,0092 a	593,12 a
CNPA GO 2002 – 1691	2,50 b	30,00 c	0,0098 a	549,37 b
CNPA GO 2002 – 3537	2,50 b	25,00 c	0,0080 a	456,87 b
CNPA GO 2002 – 3778	7,50 a	20,00 c	0,0034 b	360,62 b
CNPA GO 2002 – 8022	2,50 b	33,75 b	0,0100 a	625,62 a
CNPA GO 2002 – 7315	2,50 b	23,75 c	0,0068 b	501,25 b
CNPA GO 2002 – 5494	11,25 a	32,50 b	0,0068 b	712,50 a
CNPA GO 2002 – 6013	8,75 a	40,00 b	0,0094 a	716,25 a
CNPA GO 2002 – 6886	6,25 a	23,75 c	0,0058 b	485,62 b
CNPA GO 2002 – 4785	5,00 b	27,50 c	0,0070 b	458,12 b
CNPA GO 2002 – 6007	12,50 a	33,75 b	0,0068 b	633,12 a
CNPA GO 2002 – 6006	10,00 a	28,75 c	0,0074 b	681,87 a
CNPA GO 2002 – 2043	1,25 b	28,75 c	0,0084 a	543,12 b
CNPA GO 2002 – 8463	6,25 a	36,25 b	0,0100 a	721,87 a
CNPA GO 2002 – 7997	8,75 a	51,25 a	0,0134 a	811,87 a
CNPA GO 2002 – 4979	6,25 a	36,25 b	0,0094 a	676,87 a
C. V. (%)	55,25	11,31	0,24	10,89

1 ¹Índice de doença inicial (IDI) avaliado aos 29 dias após a emergência, calculado de
2 acordo com McKinney (22) pela fórmula $ID = \sum (\text{grau da escala} \times \text{freqüência}) \times 100/n^{\circ}$
3 total de unidades x grau máximo da escala, utilizando-se os dados de severidade da
4 doença, estimada com o auxílio de escala de notas descritiva modificado de Cia et al.
5 (7) variando de 0 a 4.

6 ²Índice de doença final (IDF) aos 45 dias após a emergência, calculado da mesma forma
7 que o IDI.

8 ³Taxa de progresso da doença, estimada pelo parâmetro *b* da equação de regressão
9 linear simples, tendo a proporção da severidade diária da doença como variável
10 dependente e o tempo em dias após a inoculação como variável independente.

11 ⁴Área abaixo da curva de progresso da doença, calculada conforme Shaner & Finney
12 (30).

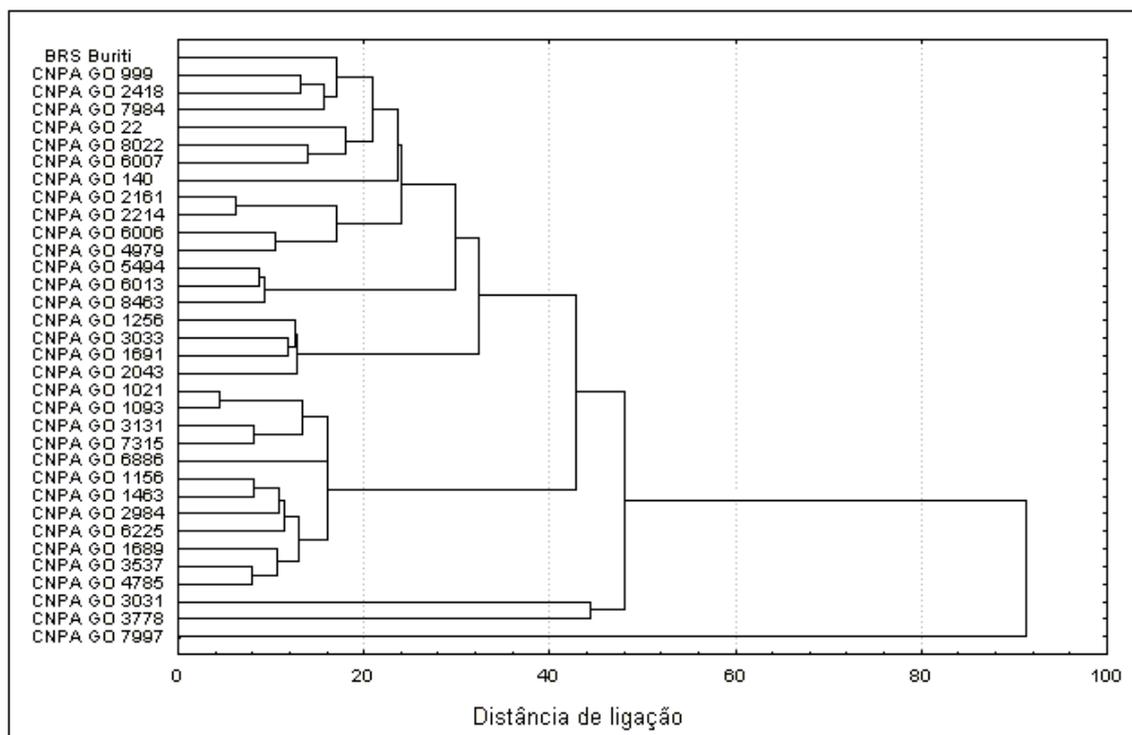
1 ⁵Dados originais. Para efeito de análise, todos os dados foram transformados em
 2 $\sqrt{x + 0,5}$. Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente
 3 (P=0,05) entre si pelo teste de Scott-Knott.

4 **Tabela 2.** Coeficientes de correlações entre os componentes epidemiológicos da
 5 ramulose do algodoeiro: índice de doença inicial (IDI) avaliado aos quatro
 6 dias após a inoculação do patógeno, índice de doença final (IDF) avaliado
 7 aos vinte dias após a inoculação do patógeno, taxa de progresso da doença
 8 (TPD) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

	IDF	TPD	AACPD
IDI	0,32*	- 0,51*	0,61*
IDF		0,59*	0,74*
TPD			0,19

10 *Coeficientes de correlação de Pearson significativos a 5% de probabilidade

11



1

2 **Figura 1.** Agrupamento de 34 genótipos de algodoeiro, baseado na análise de distância

3 Euclidiana por UPGMA, considerando os componentes epidemiológicos da

4 ramulose do algodoeiro: índice de doença inicial (IDI) avaliado aos quatro

5 dias após a inoculação do patógeno, índice de doença final (IDF) avaliado

6 aos vinte dias após a inoculação do patógeno, taxa de progresso da doença

7 (TPD) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).

8

Capítulo III

***RESISTÊNCIA INDUZIDA À RAMULOSE DO ALGODOEIRO E
ATIVIDADE DE ENZIMAS ENVOLVIDAS NA RESPOSTA DE
DEFESA DA PLANTA***

RESUMO

Barbosa, M.A.G.; Coelho, R.S.B.; Laranjeira, D.; Bezerra Neto, E.; Santana, A.A.
Resistência induzida à ramulose do algodoeiro e atividade de enzimas envolvidas na
resposta de defesa da planta. *Summa Phytopathologica*

O algodão é o produto de maior importância econômica do grupo das fibras, porém a produção pode ser seriamente reduzida pela ramulose, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. Devido à falta de medidas de controle eficientes para esta doença, avaliou-se o efeito de indutores de resistência na redução da severidade da ramulose, bem como a atividade de enzimas envolvidas na resposta de defesa da planta. Foram utilizadas duas linhagens de algodoeiro, CNPA GO 2000 - 1256, como padrão de resistência intermediária, e CNPA GO 2002 – 7997, como padrão de suscetibilidade e três indutores, acibenzolar-S-metil (ASM), Agro-Mós® (AM) e silicato de sódio (Si), aplicados aos 10 e 15 dias após a emergência das plantas (DAE). ASM e AM foram pulverizados nas dosagens de 50 mg i.a.L⁻¹ e 1 ml p.c. L⁻¹, respectivamente, enquanto Si foi aplicado por incorporação do produto na concentração de 0,16 g de Si/ Kg de substrato. O patógeno foi inoculado 20 DAE e as avaliações realizadas a intervalos de quatro dias, durante 20 dias. Foram determinados o índice de doença (ID), a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e percentagem de controle (PC). O efeito de diferentes dosagens de ASM (0 mg i.a. L⁻¹, 50 mg i.a. L⁻¹, 100 mg i.a. L⁻¹ e 150 mg i.a. L⁻¹) e AM (0 mL p.c. L⁻¹, 1 mL p.c. L⁻¹, 2 mL p.c. L⁻¹ e 3 mL p.c. L⁻¹), aos 10 DAE também foram avaliadas em um segundo experimento. Foram determinadas as atividades das enzimas de β-1,3-glucanase, peroxidase, fenilalanina amônia liase (PAL). A época de aplicação dos produtos não influenciou na eficiência do controle. A linhagem CNPA GO 2000 – 1256 apresentou

1 menor ID para todos os indutores em relação à testemunha. A variável AACPD não
2 apresentou interação entre época, cultivar e indutor, embora todos os indutores tenham
3 diferido significativamente da testemunha. De maneira geral, não houve diferença
4 significativa entre dosagens de indutores e testemunha. Foi verificada atividade enzimática
5 de β -1,3-glucanase e peroxidase aos 10 dias após a indução, destacando-se o tratamento
6 ASM-D₃ para ambas as enzimas. CNPA GO 2002 – 7997 apresentou considerável aumento
7 na atividade de β -1,3-glucanase quando tratadas com os indutores, enquanto na atividade de
8 peroxidase apenas ASM- D₁ para CNPA GO 2002 – 7997 e ASM- D₃ para CNPA GO 2000
9 – 1256 diferiram da testemunha, aumentando significativamente a atividade enzimática.
10 Não houve aumento na atividade de PAL.

11 Palavras-chave adicionais: acibenzolar-S-metil, Agro-Mós®, Silício, β -1,3-glucanase,
12 peroxidase.

13

14 ABSTRACT

15 Barbosa, M.A.G.; Coelho, R.S.B.; Laranjeira, D.; Bezerra Neto, E.; Santana, A.A. Induced
16 resistance to cotton ramulosis and enzymatic activity involved in the plant defense
17 responses. *Summa Phytopathologica*

18 Cotton is the higher economically important vegetal fiber producer, however yield
19 can be seriously reduced by ramulosis, caused by the fungus *Colletotrichum gossypii* var.
20 *cephalosporioides* and to manage this disease there's no recommended efficient practice
21 available. In the present work, the effect of resistance inducers was tested for the reduction
22 of ramulosis severity, as well as the activity of enzymes involved in the plant defense
23 responses. Two cotton lines, CNPA GO 2000 – 1256 and CNPA GO 2002 – 7997, the

1 intermediate and fully susceptible standards, respectively and three disease resistance
2 inducers, acibenzolar-S-methyl (ASM), Agro-Mós® (AM) and sodium silicate (Si), sprayed
3 at 10 and 15 days after plant emergence (DAE). ASM and AM were delivered at doses of
4 50 mg a.i. L⁻¹ and 1 ml c.p. L⁻¹, respectively, while treatment with Si was performed by
5 mixing the product at 0.16 g of Si/ Kg to the substrate. The pathogen was inoculated 20
6 DAE and evaluations performed at four-day-intervals, during 20 days. It was determined the
7 disease index (DI), area under the disease progress curve (AUDPC) and percent control
8 (PC). The effect of different doses of ASM (0 mg a.i. L⁻¹, 50 mg a.i. L⁻¹, 100 mg a.i. L⁻¹
9 and 150 mg a.i. L⁻¹) and AM (0 mL c.p. L⁻¹, 1 mL c.p. L⁻¹, 2 mL c.p. L⁻¹ and 3 mL c.p. L⁻¹
10), at 10 DAE they were assessed in a second experiment. It was determined the activities of
11 the enzymes β-1,3-glucanase, peroxidase, phenylalanine-ammonia-lyase (PAL). The
12 treatment period of products did not have an effect on the control efficacy. Line CNPA GO
13 2000 – 1256 displayed lower DI for all disease resistance inducers compared to the control.
14 The variable AUDPC did not present interaction between period, cultivar and inducer,
15 although all inducers were significantly different from control. In general, no significantly
16 difference could be detected among doses and control. It was verified the activity of β-1,3-
17 glucanase and peroxidase at 10 DAE, specially for ASM- D₃ for both analyzed enzymes.
18 CNPA GO 2002 – 7997 showed considerable increase in β-1,3-glucanase, while in the
19 peroxidase activities only ASM- D₁ to CNPA GO 2002 – 7997 and ASM- D₃ to CNPA GO
20 2000 – 1656 showed significantly difference from control and increased enzymatic activity.
21 No increase in PAL activity could be detected.
22 Additional keywords: acibenzolar-S-methyl, Agro-Mós®, Silicon, β-1,3-glucanase,
23 peroxidase.

1 _____
2 O algodão (*Gossypium hirsutum* r. *latifolium*) é o produto de maior importância
3 econômica do grupo das fibras, porém a produção pode ser seriamente reduzida pela
4 ramulose, causada pelo fungo *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa.
5 Esta doença caracteriza-se pelo aparecimento de manchas necróticas de coloração pardo-
6 escura, de formato arredondado ou alongado que ao aumentar de tamanho apresentam uma
7 forma estrelada e o tecido necrosado rasga-se e se perde, originando lesões perfuradas. As
8 lesões que ocorrem no pecíolo ou haste principal da planta, quando progredirem, podem
9 causar a queda da folha ou quebra do ponteiro. Posteriormente, observam-se ramificações
10 dos galhos, internódios curtos e intumescidos, deixando a planta com aspecto ramalhudo,
11 sintoma conhecido como ramulose (7).

12 Nos últimos anos, grande número de cultivares e linhagens de algodoeiro vem sendo
13 avaliado quanto à resistência à ramulose, porém, nem sempre o alto grau de resistência a
14 esta doença, está associado a boas qualidades agronômicas, (18). Por outro lado, a
15 resistência da planta adulta pode não estar relacionada à resistência no estágio de plântula, à
16 percentagem do patógeno nas sementes ou, ainda, com a percentagem de transmissão
17 semente-plântula (25).

18 Quando a planta não expressa resistência a determinados patógenos, pode ter os
19 mecanismos de resistência ativados por meio de indução, sendo, neste caso, denominada
20 resistência induzida (RI). A RI é um estado fisiológico de “aumento de capacidade de
21 defesa” elicitado por estímulo ambiental específico, quando as defesas da planta são
22 potencializadas contra a infecção de um patógeno e é efetivo contra uma ampla faixa de
23 fitopatógenos (29).

1 Em geral, as respostas de defesa nas plantas expressando RI em relação a doenças
2 fúngicas incluem reação de hipersensibilidade, produção de fitoalexinas, acúmulo de
3 espécies de oxigênio reativo, acúmulo de PR proteínas, aumento da atividade de várias
4 enzimas relacionadas à defesa, processos de lignificação da parede celular e formação de
5 papilas na parede celular nos sítios de penetração do fungo fitopatogênico. (1, 24)

6 Dentre as PR-proteínas ativadas pelos indutores encontram-se as hidrolases β -1,3-
7 glucanase e quitinase, que promovem a desorganização da parede celular dos patógenos
8 (33), e as peroxidases e fenilalanina amônia liase (PAL) que estão diretamente envolvidas
9 no processo de lignificação da parede celular (24).

10 Vários químicos têm sido considerados pelo seu potencial para induzir respostas de
11 defesa em plantas, dentre eles, o acibenzolar-S-methyl (ASM) foi desenvolvido como uma
12 nova classe de protetores de plantas que não possui atividade anti-microbiana, mas aumenta
13 a resistência da planta a doenças (14) pela ativação de mecanismos de defesa. Vários
14 trabalhos têm demonstrado a eficiência de ASM como indutor de resistência a doenças em
15 plantas (1, 9, 13).

16 Em diversos trabalhos tem sido evidenciado que a aplicação de silício (Si) em
17 plantas está relacionada à redução da severidade no ataque de fungos (11, 21). Os
18 mecanismos pelos quais o Si protege as plantas contra os patógenos ainda são pouco
19 entendidos (21), porém, a indução de resistência parece ser o principal mecanismo,
20 elicitando reações bioquímicas de defesa, incluindo o acúmulo de lignina, compostos
21 fenólicos, e PR-proteínas, tais como peroxidase e quitinase, nas plantas infectadas (3).

1 O indutor Agro-Mós® que é um mananoligossacarídeo fosforilado derivado da
2 parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (Hansen), Improcrop Brasil, tem
3 demonstrado eficiência no controle de doenças (10), porém, tem sido pouco estudado.

4 Este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito de ASM, Si e Agro-Mós® na
5 redução da severidade da ramulose em algodoeiro e determinar se as enzimas β -1,3-
6 glucanase, peroxidase e PAL foram expressas em resposta a infecção com *C. gossypii* var.
7 *cephalosporioides*.

8 MATERIAL E MÉTODOS

9 Efeito de indutores e de diferentes épocas de aplicação em algodoeiro inoculado com 10 *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*

11 Para instalação do experimento em condições de casa de vegetação, sementes
12 deslintadas das linhagens de algodoeiro, CNPA GO 2000 - 1256, de resistência
13 intermediária, e CNPA GO 2002 – 7997, suscetível a *C. gossypii* var. *cephalosporioides*,
14 cedidas pela Embrapa Algodão foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1,5% e
15 semeadas em vasos plásticos, com capacidade de 2,8 L, contendo substrato formado por
16 três partes de solo e uma parte de húmus esterilizado com brometo de metila (Bromex®),
17 mantendo-se quatro plantas/vaso.

18 Os indutores utilizados foram: ASM (Novartis Crop Protection), Agro-Mós® e
19 silicato de sódio (Vetec). A aplicação dos indutores foi realizada por pulverização em duas
20 épocas: aos 10 e aos 15 dias após a emergência (DAE) das plantas, nas dosagens de 50 mg
21 i.a. L⁻¹ e 1 mL. L⁻¹ de ASM e do Agro-Mós®, respectivamente. O silicato de sódio foi
22 incorporado ao solo na quantidade de 0,16 g de Si/Kg de solo.

1 A inoculação do patógeno foi realizada aos 20 DAE das plantas com o isolado Cgc
2 287, proveniente do Município de Montvidiu – GO, por meio de pulverização na
3 concentração de $7,6 \times 10^5$ /mL. Após a inoculação as plantas foram submetidas a câmara
4 úmida por um período de 72 horas.

5 O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial
6 $2 \times 2 \times 4$, sendo duas linhagens, duas épocas de aplicação dos indutores e três indutores, com
7 cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída por quatro plantas/vaso, e a
8 testemunha inoculada apenas com o patógeno.

9 As avaliações foram realizadas a intervalos de quatro dias, contados a partir da
10 inoculação até 20 dias após, determinando-se: a) o índice de doença (ID), aos 40 dias após a
11 emergência, calculado de acordo com McKinney (20), pela fórmula $ID = \frac{\sum (\text{grau da escala} \times \text{freqüência}) \times 100}{n^{\circ} \text{ total de unidades} \times \text{grau máximo da escala}}$, utilizando-se os dados de
12 severidade da doença, estimada com o auxílio de escala de notas descritiva variando de 1 a
13 5 (6), b) a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculada pela
14 expressão: $AACPD = \sum (y_i + y_{i+1})/2 \cdot d_{ti}$, onde y_i e y_{i+1} são os valores de severidade
15 observados em duas avaliações consecutivas e d_{ti} o intervalo entre as avaliações (22) e c) a
16 percentagem de controle da doença.

18 Os dados foram transformados em $\sqrt{x+0,5}$ e submetidos à análise de variância,
19 sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan ($P=0,05$). As análises foram efetuadas
20 com o programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas, Universidade federal
21 de Viçosa, Viçosa – MG, 2003).

1 **Efeito de diferentes dosagens de indutores em algodoeiro inoculado com**
2 ***Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides***

3 Foram testadas diferentes dosagens dos indutores ASM (0 mg i.a. L⁻¹, 50 mg i.a. L⁻¹,
4 100 mg i.a. L⁻¹ e 150 mg i.a. L⁻¹), e Agro-Mós® (0 mL p.c. L⁻¹, 1 mL p.c. L⁻¹, 2 mL p.c. L⁻¹
5 e 3 mL p.c. L⁻¹), aos 10 dias após a emergência das plantas. As linhagens e o patógeno
6 utilizados, foram os mesmos do primeiro experimento.

7 O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial
8 2x7, sendo duas linhagens de algodoeiro, dois indutores em três dosagens cada, mais a
9 testemunha. Foram utilizadas cinco repetições, sendo a unidade experimental constituída
10 por um vaso com quatro plantas.

11 As avaliações e análise estatística foram realizadas da mesma forma que o de efeito
12 de indutores e épocas de aplicação, com exceção da percentagem de controle que só foi
13 calculada com base no ID.

14 **Determinação da Atividade Enzimática**

15 Foram coletadas amostras das linhagens CNPA GO 2000 – 1256 e CNPA GO 2002
16 – 7997, tratadas com ASM nas dosagens de 50 mg i.a. L⁻¹, 100 mg i.a. L⁻¹ e 150 mg i.a. L⁻¹
17 e Agro-Mós® nas dosagens de 1 mL p.c. L⁻¹, 2 mL p.c. L⁻¹ e 3 mL p.c. L⁻¹. As coletas
18 foram realizadas aos cinco e dez dias após a aplicação dos indutores, sendo esta última
19 coleta realizada algumas horas antes da inoculação do patógeno.

20 Amostras de 1,0 g de folhas correspondentes a cada tratamento foram maceradas em
21 almofariz com nitrogênio líquido com 1% (v/v) de polivinilpirrolidone (PVP) e 5,0 mL de
22 tampão acetato de sódio (0,1 M, pH 5,0) e 1 mL de EDTA (1 mM). Os extratos foram
23 centrifugados a 10.000 g por 10 minutos a 4 °C e o sobrenadante foi transferido para tubos

1 de Eppendorff e armazenados a -80°C (9). Os sobrenadantes foram utilizados para
2 avaliação de β -1,3-glucanase, peroxidase, PAL e teor de proteína solúvel.

3 **Atividade de β -1,3-glucanase (E.C. 3.2.1.29) e Peroxidase (E.C. 1.11.1.7)**

4 A determinação de β -1,3-glucanase foi realizada de acordo com Dantas et al. (10).
5 A estimativa da atividade de peroxidase foi feita com base na avaliação do Δ de
6 absorvância proporcionado com oxidação do guaiacol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$) em presença de peróxido
7 de hidrogênio (9). Para o desenvolvimento da reação, foram transferidos para uma cubeta
8 espectrofotométrica, 50 μL de guaiacol (0,02 M), 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (0,38
9 M) e 2,0 mL de tampão fosfato (0,2 M/pH 5,8). A mistura foi levemente agitada e utilizada
10 para calibrar o espectrofotômetro. Em seguida, foi adicionado 50 μL do extrato enzimático,
11 agitado suavemente e realizada a leitura no comprimento de onda de 470 nm, por um
12 período de um minuto, com intervalo de 10 segundos.

13 **Atividade de Fenilalanina Amônia Liase (E.C. 4.3.1.5)**

14 A atividade da PAL foi avaliada com base na diferença de absorvância resultante da
15 conversão da fenilalanina em ácido transcinâmico (15). Para tanto, foram transferidos para
16 tubos de ensaio, 1,5 mL de cada extrato enzimático, 1,0 mL do tampão de extração e 0,5
17 mL de fenilalanina ($49,6 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) ou água destilada para a prova em “branco”. A mistura
18 foi incubada a 40°C por uma hora, e posteriormente, interrompida com banho de gelo. As
19 leituras espectrofotométricas foram realizadas a 290 nm.

20 **Determinação de Proteína Solúvel**

21 O teor de proteína solúvel foi determinado colorimetricamente pelo método descrito
22 por Bradford (4). Para esta determinação foram pipetados para tubos de ensaio, 200 μL do
23 extrato enzimático e 2,0 mL do reagente “coomassie brilliant blue” (CBB), agitados

1 suavemente e realizada a leitura em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 595 nm.
2 As resultados das leituras das amostras correspondentes aos extratos enzimáticos foram
3 convertidas em concentração de proteína solúvel, por comparação com as leituras de
4 soluções padrões de albumina de soro bovino (BSA) nas concentrações de 0; 25; 50; 100;
5 150 e 200 mg . L⁻¹. O reagente CBB foi preparado com 0,10 g de “coomassie brilliant blue”
6 G-250 dissolvido em 50 mL de álcool etílico absoluto. Em seguida, foram acrescentados
7 100 mL de ácido ortofosfórico (d = 1,71 g. mL⁻¹) e 850 mL de água destilada.

8 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

9 **Efeito de indutores e de diferentes épocas de aplicação em algodoeiro inoculado com** 10 *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*.

11 Houve interação para ID entre indutores e linhagens avaliadas, no entanto, a época
12 de aplicação dos produtos não influenciou na eficiência de controle do patógeno. Estudos
13 demonstram que a máxima resposta da planta à indução ocorre alguns dias após a aplicação
14 do produto. Godard et al. (13) observaram a ocorrência máxima de indução dois dias após o
15 tratamento com ASM, independente da dosagem utilizada. Baysal et al. (1) constataram que
16 o tempo entre o tratamento inicial com ASM e a inoculação do patógeno *Clavibacter*
17 *michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis em tomate, influenciou a eficiência de
18 ASM, apesar de todos os intervalos de tempo avaliados reduzirem significativamente o ID
19 em comparação com as testemunhas. Segundo estes autores, o melhor controle da doença
20 foi obtido três dias antes da inoculação, apesar de tratamentos realizados após a inoculação
21 do patógeno também terem sido eficientes.

22 É possível que a resistência em algodoeiro seja ativada rapidamente e permaneça
23 estável, portanto, não sendo observadas diferenças em relação às épocas. Para Uknes et al.

1 (27), cada interação patógeno–hospedeiro deve possuir um período de tempo próprio,
2 necessário para a sinalização e a conseqüente ativação de genes de defesa da planta,
3 relacionados à resistência induzida.

4 Entre as linhagens foram verificadas reduções mais acentuadas no ID de
5 CNPA GO 2000 – 1256, quando tratada com os indutores (Tabela 1). Os melhores
6 resultados obtidos nesta linhagem deve-se, provavelmente, aos mecanismos de defesa já
7 existentes na planta que são potencializados com a ação dos indutores, pois segundo Van
8 Loon (28), as respostas de defesa que ocorrem nas plantas que sofrem indução refletem os
9 mecanismos geneticamente fixados para cada espécie de planta.

10 **Inserir Tabela 1**

11 Para a variável AACPD não houve interação significativa entre época, cultivar e
12 indutores, apenas as cultivares diferiram entre si quando submetidas ao teste T (dados não
13 mostrados). Os indutores diferiram significativamente em relação à testemunha (Tabela 1).

14 A indução de resistência em algodoeiro tem sido pouco estudada e trabalhos
15 avaliando a eficiência de indutores e os mecanismos de resistência no patossistema
16 Algodoeiro - *C. gossypii* var. *cephalosporioides* inexistem. Ishida et al. (17) utilizaram
17 ASM para controle de *Xhantomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Smith) Vauterin et al.,
18 e obtiveram 57,81% de controle da mancha angular do algodoeiro em relação à testemunha,
19 enquanto Colson-Hanks et al. (8), observaram redução na severidade e na desfolha
20 causadas por *Alternaria macrospora* (Sacc.) Sacc. e *X. campestris* pv. *malvacearum*, assim
21 como diminuição na incidência de murcha provocada por *Verticium dahliae* Kleb.

22 **Efeito de diferentes dosagens de indutores em algodoeiro inoculado com**
23 ***Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides***

1 Na avaliação da severidade da ramulose nas duas linhagens tratadas com ASM e
2 AM em diferentes dosagens, houve interação entre linhagens e indutores tanto para ID
3 como para AACPD (Tabela 2). De maneira geral, apenas os tratamentos com AM diferiram
4 significativamente da testemunha e de ASM, no entanto, provocando aumento no ID e
5 AACPD. Na linhagem CNPA GO 2002 – 7997 AM nas dosagens D₁ e D₂ (1 mL p.c. L⁻¹ e 2
6 mL p.c. L⁻¹, respectivamente) diferiram significativamente quanto ao ID dos tratamentos
7 com ASM nas três dosagens utilizadas, apesar de não diferir da testemunha, enquanto em
8 relação a AACPD, AM nas três dosagens (1 mL p.c. L⁻¹, 2 mL p.c. L⁻¹ e 3 mL p.c. L⁻¹)
9 testadas diferiu dos tratamentos com ASM e da testemunha. Nenhum dos tratamentos
10 diferiram entre si quanto ao ID na linhagem CNPA GO 2000 – 1256, enquanto na AACPD
11 apenas ASM-D₃ (150 mg i.a.L⁻¹) diferiu significativamente de AM nas dosagens D₂ e D₃.

12 **Inserir Tabela 2**

13 O incremento da doença provocado por AM e os baixos níveis de controle
14 proporcionado por ASM verificados neste experimento provavelmente ocorreu devido às
15 interações entre ambiente-patógeno-hospedeiro/elicitador, pois a avaliação do efeito de
16 diferentes dosagens dos indutores sobre a ramulose, ocorreu nos meses de julho/agosto,
17 quando a temperatura (28 °C ± 4) não era tão alta como por ocasião da condução do
18 primeiro experimento (30 °C ± 5) realizado nos meses de março/abril. Segundo Walters
19 (30), a indução de resistência é amplamente afetada pelo ambiente, porém poucos estudos
20 têm sido realizados nesta área.

21 Possivelmente, as baixas percentagens de controle obtidas neste trabalho, podem ter
22 ocorrido também em consequência da realização de uma única aplicação dos produtos, pois

1 segundo Spadaro et al. (23), para ASM mostrar eficiência é necessária mais de uma
2 aplicação.

3 **Determinação da Atividade Enzimática**

4 Foi verificada atividade enzimática de β -1,3-glucanase e peroxidase aos 10 dias
5 após a indução, não havendo, entretanto, alteração na atividade de PAL. Houve interação
6 significativa entre linhagem e indutores para as três enzimas avaliadas (Tabela 3).

7 A atividade de β -1,3-glucanase foi sensivelmente maior na linhagem CNPA GO
8 2002 – 7997, na qual todos os indutores diferiram significativamente da testemunha,
9 embora não tenham diferido entre si, enquanto em CNPA GO 2000 - 1256 não houve
10 diferença significativa entre os tratamentos. Tem sido detectado aumento da atividade de β -
11 1,3-glucanase em várias plantas após ativação da resistência (2, 5, 19, 32). Em algodoeiro,
12 Colson-Hanks e Deverall (8), ao tratar apenas as folhas cotiledonares com Acibenzolar-S-
13 metil (ASM), observaram a diminuição da severidade da doença causada por *Alternaria*
14 *macrospora* e o aumento de β -1,3-glucanase, inclusive nas folhas distais, corroborando os
15 vários relatos de que ASM induz resistência sistêmica. Em trabalho realizado por Ishida et
16 al. (16), para controle de *X. axonopodis* pv. *malvacearum*, houve o aumento de β -1,3-
17 glucanase aos 14 dias após aplicação de ASM.

18 A relação entre resistência sistêmica e hidrolases, como β -1,3-glucanase (PR-2) e
19 quitinases (PR-3), é baseada no fato de que β -1,3-glucana e quitina são os maiores
20 componentes da parede celular de muitos fungos e que essas enzimas podem hidrolizar a
21 parede celular desses patógenos *in vitro* (33). Também foi observado em mamão tratado
22 com ASM, o aumento da atividade de β -1,3-glucanase, assim como o acúmulo de RNAm
23 de dois genes que codificam para PR-1 (34). Tuzun et al. (26) sugerem que as plantas

1 induzidas ficam sensibilizadas e respondem mais rapidamente à infecção, e que β -1,3-
2 glucanase é um componente da resposta de defesa da planta por restringir o
3 desenvolvimento do patógeno no tecido foliar.

4 A atividade de peroxidase não apresentou diferença significativa entre as linhagens,
5 exceto ASM-D₃ que apresentou maior atividade em CNPA GO 2000 - 1256. Dentre os
6 indutores, ASM-D₁ na linhagem CNPA GO 2000 – 7997 e ASM-D₃ na linhagem CNPA
7 GO 2000 – 1256 diferiam significativamente dos demais tratamentos. Baysal et al. (1)
8 encontraram alta correlação entre resistência induzida por ASM e atividade de peroxidase
9 em plântulas de tomate inoculadas com *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, sendo a
10 maior atividade desta enzima verificada oito dias após a indução. Aumentos na atividade de
11 peroxidase são freqüentemente associados com elevação nos níveis de compostos fenólicos
12 na parede celular durante interações incompatíveis planta-patógeno/elicitador (2).

13 Para a atividade de PAL, apenas AM-D2 mostrou menor atividade na
14 linhagem CNPA GO 2000 – 7997, não sendo verificadas diferenças significativas entre os
15 demais tratamentos avaliados. Trabalhos relatam que a atividade de PAL aumentou
16 consideravelmente após seis e sete dias em folhas de pimentão e pêra japonesa,
17 respectivamente, tratadas com ASM (2, 12). A PAL é um dos marcadores bioquímicos da
18 resistência induzida (31) e está associada com o início da resistência em plantas (24). A não
19 alteração nas concentrações de PAL quando comparadas com as testemunhas, nas duas
20 linhagens utilizadas, pode ter ocorrido devido ao período de tempo decorrido após a
21 indução ou mesmo não produção desta enzima.

22 A utilização de ASM como indutor de resistência em algodoeiro à ramulose pode
23 ser uma opção para o controle desta doença, porém, deve estar associada a outras medidas

1 de controle, tais como a utilização de cultivares de resistência moderada e controle químico
2 convencional.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 4 1. Baysal, Ö.; Soyulu, E.M.; Soyulu, S. Induction of defense-related enzymes and resistance
5 by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker
6 caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. Plant Pathology, Oxford,
7 v.52, n.6, p.747-753, 2003.
- 8 2. Baysal, Ö; Turgut, C.; Mao, G. Acibenzolar-S-methyl induced resistance to
9 *Phytophthora capsici* in pepper leaves. Biologia Plantarum, Praha, v.49, n.4, p.599-604,
10 2005.
- 11 3. Bi, Y.; Tian, S.P.; Guo, Y.R.; Ge, Y.H.; Qin, G.Z. Sodium silicate reduces postharvest
12 decay on Hami melons: induced resistance and fungistatic effects. Plant Disease, St.
13 Paul, v.90, n.3, p.279-283, 2006.
- 14 4. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram
15 quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical
16 Biochemistry, New York, v.72, n. 1/2 , p.248-254, 1976.
- 17 5. Buzi, A.; Chilosi, G.; DE Sillo, D.; MAGRO, P. Induction of resistance in melon to
18 *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-
19 S-methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid. Journal of Phytopathology,
20 Berlin, v.152, n.1, p.34-42, 2004.
- 21 6. Cia, E.; Fuzatto, M.G.; Gridi-Papp, I.L.; Soave, J. Avaliação da intensidade da ramulose
22 do algodoeiro através de inoculação artificial. In: Reunião Nacional do Algodão, 2.,
23 1982, Salvador. Resumos. Campina Grande: Embrapa – CNPA, 1982. p.241.

- 1 7. Cia, E.; Salgado, C.L. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: Kimati, H.; Amorim,
2 L.; Rezende, J.A.M.; Bergamim Filho, A.; Camargo, L.E.A.(Ed.) Manual de
3 Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2,
4 cap.8, 2005. p.42-52.
- 5 8. Colson-Hanks, E.S.; Allen, S.J.; Deverall, B.J. Effect of 2,6-dichloroisonicotinic acid or
6 benzothiadiazole on *Alternaria* leaf spot, bacterial blight and *Verticillium* wilt in cotton
7 under field conditions. *Australasian Plant Pathology*, Collingwood, v.29, n.3, p.170-
8 177, 2000.
- 9 9. Dann, E.K.; Deverall, B.J. Activation of systemic disease resistance in pea by an
10 avirulent bacterium or a benzothiadiazole, but not a fungal leaf spot pathogen. *Plant*
11 *Pathology*, London, v.49, n.3, p.324-332, 2000.
- 12 10. Dantas, S.A.F.; Oliveira, S.M.A.; Bezerra Neto, E.; Coelho, R.S.B.; Silva, R.L.X
13 Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. *Summa*
14 *Phytopathologica*, Botucatu, v.30, n.3, p.314-319, 2004.
- 15 11. Datnoff, L.E.; Deren, C.W.; Snyder, G.H. Silicon fertilization for disease management
16 of rice in Florida. *Crop Protection*, Guildford, v.16, n.7, p.525-531, 1997.
- 17 12. Faize, M.; Faize, L.; Koike, N.; Ishizaka, M.; Ishii, H. Acibenzolar-S-methyl-induced
18 resistance to Japanese pear scab is associated with potentiation of multiple defense
19 responses. *Phytopathology*, Saint Paul, v.94, n.6, p.604-612, 2004.
- 20 13. Godard, J.F.; Ziadi, S.; Monot, C.; Le Corre, D.; Silué, D. Benzothiadiazole (BTH)
21 induces resistance in cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) to downy mildew of
22 crucifers caused by *Peronospora parasitica*. *Crop Protection*, Guildford, v.18, n.6,
23 p.397-405, 1999.

- 1 14. Görlach, J.; Volrath, S.; Knaufbeiter, G.; Hengy, G.; Beckhove, U.; Kogel, K.H.;
2 Oostendorp, M.; Staub, T.; Ward, E.; Kessmann, H.; Ryals, J. Benzothiadiazole, a novel
3 class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease
4 resistance in wheat. *The Plant cell*, Rockville, v.8, n.4, p.629-643, 1996.
- 5 15. Hyodo, H.; Kuroda, H.; Yang, S.F. Induction of phenylalanina ammonia-lyase and
6 increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting
7 caused by ethylene. *Plant Physiology*, v.62, n. 1, p.31-35, 1978.
- 8 16. Ishida, A.K.N.; Souza, R.M.; Resende, M.L.V.; Cavalcanti, F.R.; Oliveira, D.L.; Pozza,
9 E.A.; Zacaroni, A.B. Atividade das enzimas flialanina amônia-liases, β -1,3-glucanases
10 e peroxidases e deposição de lignina em plantas de algodão tratadas com acibenzolar-S-
11 metil (ASM) e um isolado de rizobactéria e desafiadas contra *Xanthomonas axonopodis*
12 pv. *malvacearum* (Xam). In:II Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em
13 Plantas e IV Simpósio de Controle de Doenças de Plantas, 2004, Lavras, Anais...
14 Lavras: Resende, M.L.V.-UFLA, 2004, p.114.
- 15 17. Ishida, A.K.N.; Souza, R.M.; Resende, M.L.V.; Cavalcanti, F.R.; Oliveira, D.L.; Pozza,
16 E.A.; Zacaroni, A.B. Atividade das enzimas flialanina amônia-liases, β -1,3-glucanases
17 e peroxidases e deposição de lignina em plantas de algodão tratadas com acibenzolar-S-
18 metil (ASM) e um isolado de rizobactéria e desafiadas contra *Xanthomonas axonopodis*
19 pv. *malvacearum* (Xam). In:II Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em
20 Plantas e IV Simpósio de Controle de Doenças de Plantas, 2004, Lavras, Anais...
21 Lavras: Resende, M.L.V.-UFLA, 2004, p.114.

- 1 18. Lima, E.F.; Vieira, R.M. Melhoramento do algodoeiro para resistência às doenças. In:
2 Beltrão (Org.). O agronegócio do algodão no Brasil. Brasília: Embrapa Comunicação
3 para transferência de tecnologia, 1999. v.1, cap.11, p.295-314.
- 4 19. Lin, W.; Hu, X.; Zhang, W.; Rogers, W.J.; Cai, W. Hydrogen peroxide mediates defence
5 responses induced by chitosans of different molecular weights in rice. *Journal of Plant*
6 *Physiology*, Stuttgart, v.162, n.8, p.937-944, 2005.
- 7 20. McKinney, H.H. Influence os soil temperature ans moisture on infection of wheat
8 seedlings by *Helminthosporium sativum*. *Journal of Agricultural Research*, Washington,
9 v.26, n.5, p.195-219, 1923.
- 10 21. Seebold, K.W.; Datnoff, L.E.; Correa-Victoria, F.J.; Kucharek, T.A.; Snyder, G.H.
11 Effect of silicon rate and host resistance on blast, scald and yield of upland rice. *Plant*
12 *Disease*, Saint Paul, v.84, n.8, p.871-876, 2000.
- 13 22. Shaner, G.; Finney, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-
14 mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology*, St. Paul, v.67, n.8, p.1051-1056,
15 1977.
- 16 23. Spadaro, D.; Garibaldi, A.; Gullino, M.L.; Control of *Penicillium expansum* and
17 *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrole agent with hot water dipping and
18 acibenzolar-S-methyl, baking soda, or ethanol application. *Postharvest Biology and*
19 *Technology*, v. 33, n.2, p.141-151, 2004.
- 20 24. Sticher, L.; Mauch-Mani, B.; Métraux, J.P.; Systemic acquired resistance. *Annual*
21 *Review of Phytopathology*, Palo Alto, v.35, p.235-270, 1997.

- 1 25. Tanaka, M.A.S.; Mentem, J.O.M. Patogenicidade de *Colletotrichum gossypii* e *c.*
2 *gossypii* var. *cephalosporioides* a sementes e plântulas de algodoeiro. Fitopatologia
3 Brasileira, Brasília, v.17, n.3, p.268-272, 1992.
- 4 26. Tuzun, S.; Rao, N.M.; Vogeli, U.; Schardl, C.L.; Kuć, J. Induced systemic resistance to
5 blue mold: early induction and accumulation of β -1,3-glucanase, chitinase, and other
6 pathogenesis-related proteins (b-proteins) in immunized tabacco. Phytopathology, St.
7 Paul, Vol. 79, n. 9, p. 979-983, 1989.
- 8 27. Uknes, S.; Vernoij, B.; Morris, S.; Chandler, D.; Steiner, H.; Specker, n.; Hunt, M.;
9 Neuenschwander, U.; Lawton, K.; Starret, M.; Friedrich, L.; Weimann, K.; Negrotto,
10 D.; Görlach, J.; Lanahan, M.; Salmeron, J.; Ward, E.; Kessmann, H.; Ryals, J.
11 Reduction of risk for growers: methods for the development of disease-resistance crops.
12 New Phytologist, Cambridge, v.133, n.1, p.3-10, 1996.
- 13 28. Van Loon, L.C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related
14 proteins. European Journal of Plant Pathology, Dordrecht, v.103, n.9, p.753-765, 1997.
- 15 29. Van Loon, L.C.; Bakker, P.A.H.M.; Pieterse, C.M.J. Systemic resistance induced by
16 rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology, Palo Alto, v.36, p.453-483,
17 1998.
- 18 30. Walters, D.; Walsh, D.; Newton, A.; Lyon, G. Induced resistance for plant disease
19 control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. Phytopathology, St. Paul, v.95,
20 n.12, p.1368-1373, 2005.
- 21 31. Zeier, J. Delledonne, M.; Mishina, T.; Severi, E.; Sonoda, M.; Lamb, C. Genetic
22 elucidation of nitric oxide signaling in incompatible plant-pathogen interactions. Plant
23 Physiology, Minneapolis, v.136, n.1, p.2875-2886, 2004.

- 1 32. Zhao, H.; Zhao, H.; Wang, B.; Wang, J. Effect of local stress induction on resistance-
2 related enzymes in cucumber seeding. *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*,
3 Amsterdam, v.43, n.1, p.37-42, 2005.
- 4 33. Zhu, Q.; Maher, E.A.; Masoud, S.; Dixon, R.A.; Lamb, C.J. Enhanced protection
5 against fungal attack by constitutive co-expression of chitinase and glucanases genes in
6 transgenic tobacco. *Nature Biotechnology*, New York, v.12, n.8, p.807-812, 1994.
- 7 34. Zhu, Y.J.; Qiu, X.; Moore, P.H.; Borth, W.; Hu, J.; Ferreira, S.; Albert, H.H. Systemic
8 acquired resistance induced by BTH in papaya. *Physiological and Molecular Plant
9 Pathology*, v.63, n. 5, p.237-248, 2003.
- 10

1 **Tabela 1.** Severidade da ramulose do algodoeiro, em duas linhagens tratadas com indutores
 2 de resistência, através de índice de doença (ID) e da área abaixo da curva de progresso da
 3 doença (AACPD), aos 40 dias após a emergência.

Indutor	ID (%) ¹		AACPD
	CNPA GO 2002 – 7997	CNPA GO 2002 – 1256	
ASM ²	36,88 ³ aA	12,50 bB	255,00 bc
AM	23,75 bA	13,12 bB	211,25 c
Silício	24,38 bA	16,88 bB	286,25 b
Testemunha	38,75 aA	32,50 aA	385,00 a
C.V.(%)	21,0		20,72

5 ¹ Houve interação entre os indutores e as linhagens

6 ² ASM = acibenzolar-S-metil; AM = Agro-Mós[®]

7 ³ Dados originais. Para efeito de análise, todos os dados foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.
 8 Médias seguidas por letra minúscula na mesma coluna e letra maiúscula na mesma linha
 9 não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (P=0,05).

10

11

12

13

14

1 **Tabela 2.** Severidade da ramulose do algodoeiro, em duas linhagens tratadas com indutores
 2 de resistência em diferentes dosagens, através de índice de doença (ID), área abaixo da
 3 curva de progresso da doença (AACPD) e efeito sobre a percentagem de controle, aos 40
 4 dias após a emergência.

Tratamento	Linhagens			
	CNPA GO 2002 – 7997		CNPA GO 2000 – 1256	
	ID (%)	AACPD	ID (%)	AACPD
ASM-D ₁ ¹	22,32 ² cA	374,07 bA	25,00 bcA	340,14 bcdA
ASM-D ₂	21,43 cA	368,71 bA	24,11 bcA	316,93 cdA
ASM-D ₃	23,21 cA	343,71 bA	13,39 dcB	216,93 dB
AM-D ₁	41,96 abA	645,50 aA	27,68 abcB	409,79 abcdB
AM-D ₂	43,75 abA	691,93 aA	34,82 abcA	527,64 abcB
AM-D ₃	36,61 abcA	638,36 aA	34,82 abcA	520,50 abcA
Testemunha	29,46 bcA	363,36 bA	37,50 abcA	447,29 abcdA
C.V.(%)	29,33	25,21		

6 ¹ASM = acibenzolar-S-metil; D₁ = 50 mg i.a. L⁻¹, D₂ = 100 mg i.a. L⁻¹ e D₃ = 150 mg i.a.
 7 L⁻¹; AM = Agro-Mós®; D₁ = 1 ml p.c.L⁻¹, D₂ = 2 ml p.c.L⁻¹ e D₃ = 3 ml p.c.L⁻¹

8 ² Para a mesma variável, na mesma coluna médias seguidas por letra minúscula e na
 9 mesma linha médias seguidas por mesma letra maiúscula não diferem estatisticamente
 10 entre si pelo teste de Duncan (P=0,05).

11

12

13

14

15

1 **Tabela 3.** Atividade de β -1,3 glucanase e peroxidase aos 10 dias após a indução e
 2 fenilalanina amônia liase (PAL) aos cinco dias após a indução com acibenzolar-S-metil
 3 (ASM) e Agro-Mós[®] (AM) em plantas de algodoeiro.

Atividade enzimática	Tratamento	Linhagens	
		CNPA GO 2002 7997	CNPA GO 2000 1256
β -1,3-glucanase	ASM-D ₁ ¹	36,94 abA	27,21 abA
	ASM-D ₂	30,54 bA	13,30 bB
	ASM-D ₃	50,04 abA	19,91 abB
	AM-D ₁	43,40 abA	15,09 bbB
	AM-D ₂	42,02 abA	19,74 abB
	AM-D ₃	37,41 abA	17,42 abB
	Testemunha	18,31 cA	19,85 abA
	C.V.(%)	15,03	
Peroxidase	ASM-D ₁	0,22 aA	0,16 abcA
	ASM-D ₂	0,12 bcA	0,1 bcdA
	ASM-D ₃	0,11 bcA	0,17 abA
	AM-D ₁	0,12 bcA	0,06 cdB
	AM-D ₂	0,09 bcA	0,07 cdA
	AM-D ₃	0,06 cA	0,06 cdA
	Testemunha	0,12 bcA	0,04 dcB
	C.V.(%)	3,63	

	ASM-D ₁	3,19abA	2,74abA
	ASM-D ₂	3,47abA	2,76abA
	ASM-D ₃	2,49bA	3,04abA
PAL	AM-D ₁	2,78abA	2,78abA
	AM-D ₂	1,73cB	2,48abA
	AM-D ₃	2,94abA	2,47abA
	Testemunha	2,73abA	2,22bbA
C.V.(%)		9,09	

1 ¹ASM = acibenzolar-S-metil; D₁ = 50 mg i.a. L⁻¹, D₂ = 100 mg i.a. L⁻¹ e D₃ = 150 mg i.a.
2 L⁻¹; AM = Agro-Mós[®]; D₁ = 1 ml p.c.L⁻¹, D₂ = 2 ml p.c.L⁻¹ e D₃ = 3 ml p.c.L⁻¹

3 ²Dados originais. Para efeito de análise, todos os dados foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$.

4 Médias seguidas por letra minúscula na mesma coluna e letra maiúscula na mesma linha
5 não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (P=0,05).

6

7

Capítulo IV

**CUSTO FISIOLÓGICO
DA RESISTÊNCIA INDUZIDA EM ALGODOEIRO SOB
DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO**

1 **Custo fisiológico da resistência induzida em algodoeiro sob diferentes**
2 **níveis de nitrogênio**

3
4 Maria Angélica Guimarães Barbosa¹, Delson Laranjeira², Rildo Sartori Barbosa
5 Coelho³

6 ¹Universidade Federal do Pará - UFPA. Campus de Altamira – Colegiado de Ciências
7 Agrárias, CEP 68372-040, Altamira, PA, Brasil, E-mail: angelguim@yahoo.com.br

8 ²Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE. Departamento de Agronomia –
9 Fitossanidade, CEP 52171-900, Recife, PE, Brasil

10 ³Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária - IPA. Sede, CEP 50761-000,
11 Recife, PE, Brasil

12 Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal Rural
13 de Pernambuco. Bolsista CNPq

14 Data de chegada: Aceito para publicação em:

15 Autor para correspondência: Maria Angélica Guimarães Barbosa

16 _____

17 **RESUMO**

18 Barbosa, M.A.G.; Laranjeira, D.; Coelho, R.S.B. Custo fisiológico da resistência
19 induzida em algodoeiro sob diferentes níveis de nitrogênio. *Summa Phytopathologica*

20
21 A indução de resistência pelo uso de indutores químicos tem resultado algumas
22 vezes em custo fisiológico para a planta. A resistência induzida em algodoeiro foi

1 avaliada quanto ao custo fisiológico em uma linhagem suscetível a *Colletotrichum*
2 *gossypii* var. *cephalosporioides* (CNPA GO 2002 – 7997) que foi cultivada em
3 substratos com dois níveis de nitrogênio e receberam duas aplicações dos indutores
4 acibenzolar-S-metil (ASM), ácido jasmônico (AJ) e Agro-Mós[®] (AM). As plantas
5 foram avaliadas quanto à altura (AP), comprimento de internódio (CI), biomassa fresca
6 da parte aérea (BFPA), biomassa fresca da raiz (BFR), biomassa seca da parte aérea
7 (BSPA) e biomassa seca da raiz (BSR). Também foi determinada a atividade das
8 enzimas fenilalanina amônia liase (PAL) e peroxidase. As plantas tratadas com ASM
9 apresentaram alto custo fisiológico com acentuada redução na AP, BFPA e BSPA,
10 enquanto as tratadas com AJ mostraram aumento significativo no BFPA e BSPA, além
11 de não diferirem significativamente na AP e CI. No substrato suplementado com
12 nitrogênio, todos os indutores diferiram da testemunha quanto ao comprimento de
13 internódio, apesar de não diferirem entre si, enquanto no substrato sem nitrogênio
14 apenas ASM e AM apresentaram diferença significativa entre si. Foram constatadas
15 correlações significativas ($P=0,05$) para a maioria das variáveis analisadas sendo as
16 maiores correlações verificadas entre BFPA e BSPA (0,94), CI e AP (0,74), BFPA e AP
17 (0,70) e BSPA e AP (0,70). ASM induziu a menor atividade de PAL, diferindo
18 significativamente dos demais tratamentos. A maior atividade de peroxidase foi
19 verificada em ASM, que diferiu significativamente da testemunha, no entanto, AM e AJ
20 apresentaram atividade para esta enzima menor que a testemunha, não ficando
21 confirmada a indução de resistência nesses dois tratamentos.

22 Palavras-chave adicionais: acibenzolar-S-metil, ácido jasmônico, Agro-Mós[®],
23 fenilalanina amônia liase e peroxidase.

24

ABSTRACT

Barbosa, M.A.G.; Laranjeira, D.; Coelho, R.S.B. Physiological cost of induced resistance in cotton under different levels of nitrogen. *Summa Phytopathologica*

The resistance induction by the use of chemical inducers has resulted sometimes in physiological cost for the plant. The induced resistance in cotton was evaluated for the physiological cost in a cultivar susceptible to *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* (CNPA GO 2002 – 7997), which was grown in substrates fertilized with two different levels of nitrogen and treated with two sprays of the disease resistance inducers acibenzolar-S-methyl (ASM), jasmonic acid (JA) and Agro-Mós® (AM). Plants were assessed for plant height (PH), internode length (IL), shoot fresh weight (SFW), root fresh weight (RFW), shoot dry weight (SDW) and root dry weight (RDW). It was also determined the activity of enzymes: phenylalanine-ammonia-lyase (PAL) and peroxidase (POX). Plants treated with ASM displayed high physiological cost with noticed reduction in PH, SFW and SDW, while those treated with JA showed a significant increase in SFW and SDW, and did not significantly interfere in PH and IL. In the potting mix supplemented with nitrogen, plants treated with any disease resistance inducer were different from the control for the tested variables, although they were not significantly different, while in potting mix without nitrogen, only ASM and AM were themselves significantly different. It was observed significant correlation ($P=0,05$) for most analyzed variables where the higher ones were verified for SFW and SDW (0.94), IL and PH (0.74), SFW and PH (0.70) and SDW and PH (0.70). ASM presented the lower PAL activity, significantly different from the other treatments. The higher activity of POX was verified in ASM, which was significantly different from the

1 control however AM and JA showed activity for these enzymes lower than the control,
2 not being confirmed the induction of resistance for plants treated with those compounds.
3 Additional key words: acibenzolar-S-methyl, jasmonic acid, Agro-Mós[®], phenilalanine-
4 ammonia-lyase and peroxidase.

6 Os desafios para o controle de doenças de plantas no século XXI são muitos,
7 pois, atualmente, a utilização de controle químico tem sido vista com restrições devido
8 aos problemas que ocasiona ao meio ambiente, alto custo e risco potencial de
9 surgimento de populações de patógenos resistentes ao produto. A utilização de
10 cultivares resistentes é o método de controle mais recomendado porém, em inúmeras
11 culturas, a resistência está associada a características agronômicas indesejáveis ou é de
12 curta durabilidade devido ao aparecimento de populações virulentas do patógeno.
13 Devido a esses fatores, a resistência induzida surgiu como importante alternativa para
14 controle de fitopatógenos. Baseada na ativação dos mecanismos de defesa naturais das
15 plantas, esta estratégia de controle é econômica e eficiente contra ampla gama de
16 patógenos (16, 17, 23). No entanto, a utilização de indutores nem sempre resulta em
17 benefícios na produção, visto que a ativação da resistência demanda custo de energia
18 por parte da planta (8, 24). Há evidências de custo fisiológico da resistência em plantas
19 contra herbívoros, porém ainda não foi esclarecido se a resistência induzida a patógenos
20 causa ou não custos fisiológicos relevantes à planta. (8).

21 O custo fisiológico da resistência é o efeito negativo resultante da expressão da
22 resistência sob condições em que não seria necessária, como na ausência do patógeno
23 (8). Esses efeitos negativos podem surgir prejudicando interações simbióticas com
24 microrganismos benéficos às plantas, como as micorrizas; interferindo na resistência a

1 insetos, mesmo tornando a planta mais resistente a patógenos; e pode desviar
2 metabólitos e energia utilizados no crescimento e outros processos importantes para a
3 planta, além das reações de defesa (11).

4 A “teoria do custo da defesa” surgiu a partir das correlações negativas entre taxa
5 de crescimento máximo de plantas e a concentração de compostos secundários
6 relacionados à defesa a fatores bióticos, tais como, celulose, hemicelulose, terpenóides e
7 compostos fenólicos (13).

8 Tanto o ácido salicílico (AS) como o ácido jasmônico (AJ), dois importantes
9 compostos de rotas metabólicas distintas da resistência induzida, são hormônios
10 vegetais envolvidos em processos de desenvolvimento da planta, tais como formação de
11 flores e frutos, e vários efeitos relevantes no aumento dos níveis de AJ e AS podem
12 resultar em mudanças nessas funções devido ao papel de defesa (10).

13 Atualmente, pouco se conhece sobre a influência do genótipo e das condições
14 ambientais na expressão da resistência induzida (24). Interações entre estresse abiótico e
15 resistência estão apenas começando a ser investigados. Dietrich et al. (8), avaliando
16 produção de sementes em plantas tratadas com indutores de resistência e submetidas a
17 condições ambientais limitantes, tais como baixo suprimento de nitrogênio, estresse
18 hídrico e competição com outras plantas, observaram que houve custo fisiológico em
19 alguns casos e em outros não, podendo até ocorrer aumento na produção de sementes
20 nas plantas tratadas com indutores quando comparadas com plantas não tratadas,
21 dependendo das combinações dos fatores ambientais.

22 Segundo Dietrich et al. (7), o nitrogênio é um dos principais fatores que limitam
23 o crescimento da planta e afeta fortemente a expressão da resistência tanto constitutiva
24 como induzida.

1 Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o custo fisiológico da
2 resistência induzida em algodoeiro, cultivado sob diferentes concentrações de
3 nitrogênio.

4 **MATERIAL E MÉTODOS**

5 O experimento foi conduzido em casa de vegetação, onde sementes de algodão,
6 linhagem CNPA GO 2002 – 7997, procedente da Embrapa Algodão e suscetível a
7 *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* Costa, foram semeadas em vasos
8 plásticos, com capacidade de 2,8 L, contendo substrato constituído por três partes de
9 solo (pH = 6,4; P = 4 mg/dm³; K = 0,88 c/mol_c/dm³; Ca = 3,10 c/mol_c/dm³) e uma parte
10 de húmus, esterilizado com brometo de metila. Foram utilizados dois tratamentos com
11 nitrogênio: o substrato sem adubação (N = 0,07%) e com a suplementação de 0,06g de
12 uréia/ vaso, feita de acordo com recomendação baseada em análise do substrato (9).

13 Os indutores acibenzolar-S-metil (ASM), AJ e Agro-Mós® (AM), foram
14 aplicados aos 15 e aos 25 dias após a emergência das plantas, por pulverização foliar,
15 nas dosagens de 100 mg i.a.L⁻¹, 20 µL p.c.L⁻¹ e 2 mL p.c.L⁻¹, respectivamente.

16 O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em arranjo fatorial
17 2x4 representado por dois níveis de nitrogênio, três indutores e a testemunha
18 pulverizada com água, com cinco repetições, sendo cada unidade amostral constituída
19 por quatro plantas.

20 **Custo fisiológico da indução de resistência**

21 Aos 45 dias após a emergência, as plantas foram avaliadas quanto à altura (AP),
22 comprimento de internódio (CI), biomassa fresca da parte aérea (BFPA), biomassa
23 fresca da raiz (BFR), biomassa seca da parte aérea (BSPA) e biomassa seca da raiz
24 (BSR). A AP foi medida com auxílio de uma régua, da superfície do solo até a parte

1 mais alta da planta, enquanto o CI foi determinado pela distância entre as folhas
2 cotiledonares e o primeiro par de folhas definitivas. O BFPA e o BFR foram
3 quantificados após a retirada das plantas dos vasos, separado o sistema radicular da
4 parte aérea na região de transição entre a raiz e o colo da planta e pesados
5 separadamente em balança com duas casas decimais. O BSPA e BSR foram
6 determinados após as plantas serem colocadas em sacos de papel e submetidos à
7 secagem em estufa a 37°C. A pesagem foi realizada a medida em que as plantas eram
8 retiradas da estufa e alcançavam a temperatura ambiente.

9 Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas
10 pelo teste de Duncan (P=0,05). Adicionalmente, foi avaliada a correlação entre as
11 variáveis pela análise de correlação de Pearson (P=0,05). Estas análises foram efetuadas
12 com o auxílio do programa SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas,
13 Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, 2003).

14 **Determinação enzimática**

15 Amostras de 1,0 g de folhas correspondentes a cada tratamento, coletadas aos 45
16 dias após a emergência das plantas, foram maceradas em almofariz com nitrogênio
17 líquido com 1% (v/v) de polivinilpirrolidone (PVP) e 5,0 mL de tampão acetato de
18 sódio (0,1 M, pH 5,0) e 1 mL de EDTA (1 mM). Os extratos foram centrifugados a
19 10.000 g por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi transferido para tubos de
20 Eppendorff e armazenados a -80°C (6) para posterior determinação de peroxidase e
21 fenilalanina amônia liase.

22 **Atividade de Peroxidase (E.C. 1.11.1.7)**

23 A estimativa da atividade de peroxidase foi feita com base na avaliação do Δ de
24 absorvância proporcionado com oxidação do guaiacol (C₃H₈O₂) em presença de

1 peróxido de hidrogênio (6). Para o desenvolvimento da reação, foram pipetados para
2 uma cubeta espectrofotométrica, 50 µL de guaiacol (0,02 M), 0,5 mL de peróxido de
3 hidrogênio (0,38 M) e 2,0 mL de tampão fosfato (0,2 M/pH 5,8). A mistura foi
4 levemente agitada e utilizada para zerar o espectrofotômetro. Em seguida, foi
5 adicionado 50 µL do extrato enzimático, agitado suavemente e realizada a leitura no
6 comprimento de onda de 470 nm, por um período de um minuto, com intervalos de 10
7 segundos.

8 Os dados foram transformados em $\sqrt{x + 0,5}$ e submetidos à análise de variância,
9 sendo as médias comparadas pelo teste de Duncan (P=0,05) pelo programa SAEG.

10 **Atividade de Fenilalanina Amônia Liase (E.C. 4.3.1.5)**

11 A atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) foi avaliada com base na
12 diferença de absorvância resultante da conversão da fenilalanina em ácido
13 transcinâmico (14). Para isto, foram pipetados para tubos de ensaio, 1,5 mL de cada
14 extrato enzimático, 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina (49,6
15 mg.mL⁻¹) ou água destilada para a prova em “branco”. A mistura foi incubada a 40°C
16 por uma hora, e a atividade enzimática foi interrompida com banho de gelo. As leituras
17 espectrofotométricas foram realizadas no comprimento de onda de 290 nm.

18 Adicionalmente, foi avaliada a correlação entre as variáveis pela análise de
19 correlação de Pearson (P=0,05). Estas análises foram efetuadas com o auxílio do
20 programa SAEG.

21 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

22 **Custo fisiológico da indução de resistência**

23 Houve interação entre os indutores e os diferentes níveis de nitrogênio,
24 apenas para CI (Tabela 1). Ao observar os dados do comportamento dos indutores nos

1 dois substratos utilizados, percebe-se que apenas AM apresentou diferença significativa
2 entre os substratos sem e com nitrogênio, com maior CI no segundo tratamento.
3 Analisando a interação entre substrato sem nitrogênio e indutores, observa-se que houve
4 diferença significativa apenas entre ASM e AM sendo que o último apresentou maior
5 CI. No substrato com nitrogênio não houve diferença significativa entre os indutores,
6 apesar de todos os tratamentos terem diferido significativamente da testemunha. Em
7 trabalho avaliando a resposta de *Arabidopsis* à aplicação de ASM, sob a influência de
8 diferentes concentrações de nitrogênio e sob condição de competição entre plantas, foi
9 observado que as plantas tratadas cresceram mais lentamente na primeira semana após a
10 aplicação do indutor de resistência. Entretanto, após este período, as plantas
11 compensavam o atraso no crescimento e desenvolviam mais rápido que as plantas não
12 tratadas, apesar de continuarem menores que as testemunhas, principalmente em
13 condições de baixas concentrações de nitrogênio. Nos tratamentos com maiores
14 concentrações de nitrogênio as plantas induzidas tornaram-se maiores que as
15 testemunhas duas a três semanas após o tratamento (8). Segundo os mesmos autores, a
16 diminuição ou não na produção de sementes em relação à testemunha, dependeu das
17 condições de cultivo.

18 Houve diferença significativa entre os tratamentos e as testemunhas,
19 independente dos níveis de nitrogênio no substrato, para as variáveis AP, BFPA e BSPA
20 (Tabela 1). As plantas tratadas com ASM apresentaram menor AP, BFPA e BSPA,
21 diferindo significativamente da testemunha. Entretanto, o tratamento com AJ não diferiu
22 significativamente da testemunha quando avaliados AP e CI em substrato não
23 suplementado com nitrogênio, porém apresentou maior BFPA e BSPA, quando

1 comparados com a testemunha, diferindo significativamente desta e dos demais
2 indutores.

3 O efeito do custo fisiológico de ASM em plantas, tem sido relatado em alguns
4 trabalhos (4, 8, 12, 15). Segundo Heil et al. (12), plantas de trigo tratadas com ASM
5 apresentaram menor ganho em biomassa e menor número de espiguetas e sementes
6 quando comparadas com plantas não tratadas. Este efeito foi mais pronunciado nas
7 plantas submetidas a baixos níveis de nitrogênio. Segundo os mesmos autores, as
8 diferenças entre as plantas tratadas e não tratadas, possivelmente, ocorreram devido à
9 competição metabólica entre os processos envolvidos no crescimento da planta e na
10 síntese de compostos de defesa. Buzi et al. (4) observaram que sementes de melão
11 tratadas com ASM germinavam mais lentamente que as não tratadas. Em estudo sobre a
12 influência do custo fisiológico de ASM em feijão, Iriti & Faoro (15) não encontraram
13 alterações quanto aos padrões eletroforéticos de proteínas das sementes, entre plantas
14 tratadas e não tratadas, nem diferença significativa entre a produção de sementes,
15 concluindo então, que a resistência induzida por ASM não provoca custos fisiológicos
16 expressivos em feijão.

17 Em relação aos resultados obtidos pela indução de resistência com AJ neste
18 trabalho não concordam com os observados por outros autores. Segundo Buzi et al. (4),
19 plantas de melão tratadas com metil jasmonato apresentaram pronunciado atraso na
20 germinação. Estes autores também observaram que os tratamentos químicos com
21 indutores tiveram efeito negativo nas plântulas e taxa de crescimento de raiz. A
22 aplicação de AJ também provocou atraso na frutificação e menor quantidade de
23 sementes em tomate (20). A influência negativa de metil jasmonato na germinação e
24 crescimento das plantas é correlacionada com a inibição da síntese de polissacarídeos da

1 parede celular (18). É possível que o aumento no BFPA e no BSPA, e a não diferença
2 entre AP e CI entre as plantas tratadas com AJ e as testemunhas, deva-se às diferenças
3 entre as espécies de plantas testadas neste trabalho e as demais, visto que, não há dados
4 sobre a influência do AJ em algodoeiro.

5 Foram constatadas correlações significativas ($P=0,05$) para a maioria das
6 variáveis analisadas (Tabela 2). As maiores correlações foram verificadas entre BFPA e
7 BSPA (0,94), CI e AP (0,74), BFPA e AP (0,70) e BSPA e AP (0,70), indicando que
8 qualquer uma dessas medidas de crescimento podem ser utilizadas para quantificar o
9 custo fisiológico em algodoeiro. As únicas correlações não significativas foram as
10 verificadas entre as variáveis CI e BFR, CI e BSR, e AP e BSR. De acordo com
11 Benincasa (3), as medidas de crescimento são bastante precisas, principalmente as que
12 envolvem a parte aérea da planta, que além da facilidade para a coleta de dados são
13 úteis para avaliar o crescimento e inferir a contribuição de diferentes processos
14 fisiológicos sobre comportamento vegetal.

15 **Determinação enzimática**

16 Foi verificada interação entre os substratos testados e a atividade da PAL,
17 no entanto, apenas ASM diferiu significativamente nos substratos testados, com menor
18 atividade no tratamento sem adição de nitrogênio (Tabela 3). No substrato com adição
19 de nitrogênio não houve diferença significativa entre os indutores e a testemunha. É
20 provável que não tenha havido diferença na atividade de PAL entre a testemunha e as
21 plantas tratadas com os indutores, e a menor atividade nas plantas induzidas com ASM
22 no substrato sem nitrogênio, devido ao período em que foi realizada a coleta para
23 determinação enzimática, ou seja, aos 20 dias após a aplicação do indutor. A PAL está
24 envolvida no primeiro passo da síntese dos propanóides e cataliza a conversão da

1 fenilalanina em ácido-transcinâmico, que irá resultar em compostos como flavonóides,
2 fitoalexinas e, principalmente, lignina, que confere maior resistência à parede celular
3 das plantas aos patógenos (19). De acordo com Chen et al., (5), o pico da atividade de
4 PAL ocorre entre 24 e 48 horas no máximo após a indução. Quando as atividades de
5 enzimas relacionadas à defesa da planta foram avaliadas, foi verificado que as enzimas
6 constitutivas e as induzidas por ASM foram significativamente mais baixas sob
7 condições limitantes de nitrogênio (8).

8 Na atividade de peroxidase não foi verificada interação entre os substratos e os
9 indutores, observando-se apenas diferenças significativas entre os indutores (Figura 3
10 B). Estes resultados contrariam os encontrados por Dietrich et al. (7) que observaram
11 efeito significativo na redução da atividade de peroxidase quando plantas de *A. thaliana*
12 foram cultivadas em condições de baixas concentrações de nitrogênio.

13 A maior atividade de peroxidase foi produzida por ASM, que diferiu de todos os
14 demais tratamentos. Os tratamentos com AM e AJ apresentaram as menores atividades
15 da enzima, não diferindo entre si, e diferindo significativamente da testemunha. A
16 peroxidase é uma enzima relacionada com o mecanismo de defesa da planta e o
17 aumento na atividade desta enzima é frequentemente associado com a incorporação
18 progressiva de compostos fenólicos na parede celular durante interações incompatíveis
19 elicitor/planta-patógeno (1). Vários autores relatam o aumento na atividade de
20 peroxidase com a utilização de indutores, servindo desta forma como marcador de
21 resistência induzida (1, 2, 4, 8, 22, 21).

22 Foi observado custo fisiológico observado foi no tratamento com ASM, que teve
23 a indução de resistência confirmada com o aumento da atividade de peroxidase. Os
24 tratamentos com AM e AJ não expressaram atividade da PAL e peroxidase em

1 algodoeiro, impossibilitando assim, a análise de custo fisiológico em relação a estes
2 indutores.

3 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 4 1. Baysal, Ö.; Soyulu, E.M.; Soyulu, S. Induction of defense-related enzymes and
5 resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against
6 bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. Plant
7 Pathology, Oxford, v.52, n.6, p.747-753, 2003.
- 8 2. Baysal, Ö; Turgut, C.; Mao, G. Acibenzolar-S-methyl induced resistance to
9 *Phytophthora capsici* in pepper leaves. Biologia Plantarum, Praha, v.49, n.4, p.599-604,
10 2005.
- 11 3. Benincasa, M.M.P. Análise de crescimento de plantas (noções básicas). 2 ed.
12 Jaboticabal: FUNEP. 2003. 41p.
- 13 4. Buzi, A.; Chilosi, G.; De Sillo, D.; Magro, P. Induction of resistance in melon to
14 *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatments with acibenzolar-
15 S-methyl and methyl jasmonate but not with salicylic acid. Journal of Phytopathology,
16 Berlin, v.152, n.1, p.34-42, 2004.
- 17 5. Chen, Y.; Shin, J.; Liu, Z. Effect of light on peroxidase and lignin synthesis in
18 mungbean hypocotyls. Plant Physiology and Biochemistry, New Delhi, v.40, n.1, p.33-
19 39,2002.
- 20 6. Dann, E.K.; Deverall, B.J. Activation of systemic disease resistance in pea by an
21 avirulent bacterium or a benzothiadiazole, but not a fungal leaf spot pathogen. Plant
22 Pathology, London, v.49, n.3, p.324-332, 2000.
-

- 1 7. Dietrich, R.; Ploss, K.; Heil, M. Constitutive and induced resistance to pathogens in
2 *Arabidopsis thaliana* depends on nitrogen supply. *Plant, Cell and Environment*, Oxford,
3 v.27, n.7, p.896-906, 2004.
- 4 8. Dietrich, R.; Ploss, K.; Heil, M. Growth responses and fitness costs after induction of
5 pathogen resistance depend on environmental conditions. *Plant, Cell and Environment*,
6 Oxford, v.28, n.2, p.211-222, 2005.
- 7 9. EMBRAPA – Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária. Manual de métodos de
8 Análise de Solos. 2 Ed. Centro nacional de Pesquisa do Solo. Rio de Janeiro, 1997, 21p.
- 9 10. Heil, M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens – a promising field
10 for ecological research. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*,
11 Jena, v. 4, n.2, p.65-79, 2001.
- 12 11. Heil, M.; Baldwin, I.T. Fitness costs of induced resistance: emerging experimental
13 support for a slippery concept. *Trends in Plant Science*, Oxford, v.7, n.2, p.61-67, 2002.
- 14 12. Heil, M.; Hilpert, A.; Kaiser, W.; Linsenmair, K.E. Reduced growth and seed set
15 following chemical induction of pathogen defence: does systemic acquired resistance
16 (SAR) incur allocation costs? *The Journal of Ecology*, Oxford, v.88, n.4, p.645-654,
17 2000.
- 18 13. Hoffland, E.; Niemann, G.J.; Van Pelt, J.A.; Pureveen, J.B.M.; Eijkel, G.B.; Boon,
19 J.J.; Lambers, H. Relative growth rate correlates negatively with pathogen resistance in
20 radish: the role of plant chemistry. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, v.19, n.11,
21 p.1281-1290, 1996.
- 22 14. Hyodo, H.; Kuroda, H.; Yang, S.F. Induction of phenylalanina ammonia-lyase and
23 increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting
24 caused by ethylene. *Plant Physiology*, v.62, n. 1, p.31-35, 1978.
-

- 1 15. Iriti, M.; Faoro, F. Does benzothiadiazole-induced resistance increase fitness cost in
2 bean? *Journal of Plant Pathology, Bari*, v.85,n. 4, p.265-270, 2003.
- 3 16. Kessler, A.; Baldwin, I.T. Plant responses to insect herbivory: the emerging
4 molecular analysis. *Annual Review of Plant Biology, Palo Alto*, v.53, p.299-328, 2002.
- 5 17. McDowell, J.M.; Dangl, J.L. Signal transduction in the plant immune response.
6 *Trends in Biochemical Sciences, Amsterdam*, v. 25, n.2, p.79-82, 2000.
- 7 18. Miyamoto, K.; Oka, M.; Ueda, J. Update on the possible mode of action of the
8 jasmonate: focus on the metabolism of cell wall polysaccharides in relation to growth
9 and development. *Physiologia Plantarum, Copenhagen*, v.100, n.12, p.631-638, 1997.
- 10 19. Nakazawa, A.; Nozue, M.; Yasuda, H. Expression pattern and gene structure of
11 phenylalanine ammonia-lyase in *Pharbitis nil*. *Journal of Plant Research, Tokyo*, v.114,
12 n.3 , p.323-328, 2001.
- 13 20. Redman, A.M.; Cipollini Jr., D.F.; Schultz, J.C. fitness costs of jasmonic acid-
14 induced defense in tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Oecologia, New York*, v.126, n.3,
15 p. 380-385, 2001.
- 16 21. Shores, M.; Yedidia, I.; Chet, I. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling
17 pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum*
18 T203. *Phytopathology, St.Paul*, v.95, n.1, p.76-84, 2004.
- 19 22. Stadnick, M.J.; Buchenauer, H.; Inhibition of phenylalanine ammonia-lyase
20 suppresses the resistance induced by benzothiadiazole in wheat to *Blumeria graminis*
21 f.sp. *tritici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology, Minneapolis*, v.57, n.1, p.25-
22 34, 2000.
-

1 23. Vallad, G.E.; Goodman, R.M. Systemic acquired resistance and induced systemic
2 resistance in conventional agriculture- Review ; Interpretation. Crop Science, Madison,
3 v.44, n.6, p.1920-1934, 2003.

4 24. Walters, D.; Walsh, D.; Newton, A.; Lyon, G. Induced resistance for plant disease
5 control: maximizing the efficacy of resistance elicitors. Phytopathology, St. Paul, v.95,
6 n.12, p.1368-1373, 2005.

7

1 **Tabela 1.** Comprimento de internódio (CI) em substrato sem adição de nitrogênio (N₁)
 2 e com adição de nitrogênio (N₂), altura da planta (AP), biomassa fresca da
 3 parte aérea (BFPA) e biomassa seca da parte aérea (BSPA) de plantas de
 4 algodoeiro tratadas com acibenzolar-S-metil (ASM), Agro-Mós[®] (AM) e
 5 ácido jasmônico (AJ) e não tratadas (Testemunha).

Indutor	CI (cm) ¹		AP (cm)	BFPA (g)	BSPA (g)
	N ₁	N ₂			
ASM	8,72 cA ²	7,60 bcA	35,39 c	6,32 c	1,56 c
AM	11,02 abA	9,70 bB	39,98 b	7,26 bc	1,93 b
AJ	9,27 bcA	9,63 bcA	40,66 ab	8,39 b	2,53 a
Testemunha	10,45 abcA	11,11 aA	42,96 a	9,71 a	2,20 b
C.V. (%)	9,49		6,48	16,45	15,0

6 ¹ Houve interação entre os indutores e os diferentes níveis de nitrogênio

7 ² Médias seguidas por letra minúscula na mesma coluna e letra maiúscula na mesma
 8 linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Duncan (P=0,05).

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

1 **Tabela 2.** Coeficientes de correlações entre medidas de crescimento de algodoeiro:
 2 comprimento de internódio (CI), altura da planta (AP), biomassa fresca da parte aérea
 3 (BFPA), biomassa fresca da raiz (BFR), biomassa seca da parte aérea (BSPA) e
 4 biomassa seca da raiz (BSR).

	AP	BFPA	BFR	BSPA	BSR
CI	0,74*	0,30*	-0,02	0,34*	-0,004
AP	-	0,70*	0,29*	0,70*	0,22
BFPA		-	0,47*	0,94*	0,35*
BFR			-	0,58*	0,66*
BSPA				-	0,43*

5 * Coeficientes de correlação de Pearson significativos a 5% de probabilidade.

6

7

8

9

1 **Tabela 3.** Atividade de fenilalanina amônia liase (PAL) em substrato sem
 2 adição de nitrogênio (N₁) e com adição de nitrogênio (N₂) e
 3 peroxidase (POX) em plantas de algodoeiro tratadas com
 4 acibenzolar-S-metil (ASM), Agro-Mós[®] (AM) e ácido
 5 jasmônico (AJ) e não tratadas (Testemunha).

Indutor	Atividade de PAL		Atividade de POX ($\Delta\text{abs}_{470} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}$)
	($\Delta\text{abs}_{290} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}$)		
	N ₁	N ₂	
ASM	3,50 bB	3,63 aA	0,84 a
AM	3,61 aA	3,63 aA	0,73 c
AJ	3,65 aA	3,66 aA	0,74 c
Testemunha	3,65 aA	3,66 aA	0,78 b
C.V. (%)	1,27		5,57

6

Conclusões Gerais

CONCLUSÕES GERAIS

Considerando os estudos com base na avaliação de genótipos a *C. gossypii* var. *cephalosporioides*, a ativação da resistência por indutores químicos, a caracterização das enzimas envolvidas na resposta de defesa e custo fisiológico em resposta à resistência induzida, pode-se concluir que:

- ✓ Com base em componentes epidemiológicos da ramulose, os genótipos de algodoeiro avaliados foram classificados como de resistência intermediária e suscetível.
- ✓ Os componentes epidemiológicos índice de doença final (IDF) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) possuem alta correlação e podem ser utilizados indistintamente para avaliação da severidade da ramulose em algodoeiro.
- ✓ A resistência induzida à ramulose em algodoeiro é ativada pelos indutores ASM, AM e Si, destacando-se ASM sob condições ambientais desfavoráveis ao patógeno.
- ✓ A época de aplicação dos indutores, aos cinco e 10 dias antes da inoculação, não teve influência na expressão da resistência induzida no algodoeiro.
- ✓ Não houve efeito da dosagem do ASM na eficiência de controle da ramulose do algodoeiro.

- ✓ A resistência induzida à ramulose no algodoeiro é expressa de forma mais eficiente em genótipo de resistência intermediária do que no suscetível.

- ✓ Em geral, os níveis de nitrogênio utilizados neste trabalho não afetaram o custo fisiológico da resistência induzida em linhagem suscetível de algodoeiro.

- ✓ Dentre os indutores utilizados, apenas o ASM apresentou alto custo fisiológico da resistência induzida, com expressiva redução na altura da planta e peso fresco e seco da parte aérea, devendo esta característica ser considerada no uso deste indutor no controle da ramulose do algodoeiro