

ARIELE CARNEIRO DE ANDRADE

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE PIMENTÃO (*Capsicum annum* L.)
UTILIZANDO ACIBENZOLAR-S-METIL NO CONTROLE DA ANTRACNOSE**

GARANHUNS - PERNAMBUCO – BRASIL

JULHO – 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO AGRÍCOLA

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE PIMENTÃO (*Capsicum annum* L.)
UTILIZANDO ACIBENZOLAR-S-METIL NO CONTROLE DA ANTRACNOSE

ARIELE CARNEIRO DE ANDRADE

SOB ORIENTAÇÃO DA PROFESSORA
KEILA APARECIDA MOREIRA

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte das exigências da Pós-Graduação em Produção Agrícola, para obtenção do título de Mestre.

GARANHUNS - PERNAMBUCO - BRASIL

JULHO - 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO AGRÍCOLA

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE PIMENTÃO (*Capsicum annum* L.)
UTILIZANDO ACIBENZOLAR-S-METIL NO CONTROLE DA ANTRACNOSE

ARIELE CARNEIRO DE ANDRADE

GARANHUNS- PE

JULHO – 2015

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE PIMENTÃO (*Capsicum annum* L.)
UTILIZANDO ACIBENZOLAR-S-METIL NO CONTROLE DA ANTRACNOSE**

ARIELE CARNEIRO DE ANDRADE

APROVADO EM: 15 DE JULHO DE 2015



Lidiane Roberta Cruz da Silva
PNPD/CAPES - UFRPE

Marise Conceição Marques
PNPD/CAPES - UFRPE

KEILA APARECIDA MOREIRA

Orientadora

Dedicatória

Aos meus pais Rosa Maria e Francisco Milton que sempre se doaram por inteiro, por me darem todo amor e sempre me guiaram a ser uma pessoa justa, amiga e confiável.

Aos meus irmãos José Wilker, Cleiton Rodolfo e Mateus pelos momentos felizes, pela infância maravilhosa e pelo amor que sentimos uns pelos outros.

As minhas avós paterna e materna (in memoriam).

Agradeço a meu Deus toda vez que me lembro de vocês. Em todas as minhas orações em favor de vocês, sempre oro com alegria (Filipenses 1:3-4).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela vida e por estar presente constantemente, pela força interior que me deu para superar as dificuldades, por ter me mostrado o caminho certo nas horas incertas e pelo amor incondicional que tem por mim, me ajudando a completar esta etapa importante em minha vida.

Aos meus pais Rosa e Milton meu alicerce, minha fortaleza e minha inspiração.

Agradeço a Suellem, Vanessa e Beatriz por serem as melhores irmãs que escolhi para serem minhas, pelo apoio total ao longo de todo o meu percurso, que na distância se tornaram presentes.

Agradeço aos meus tios e tias que me apoiaram, meu exemplo de vida e de família, em especial a minha madrinha e tia Bá minha segunda mãe, pelo mais simples gesto de carinho por sempre ter me dado seu apoio quando precisei e a tia Jaci por ser além de tudo uma amiga e companheira.

Ao meu noivo Fagner Torres, por ser companheiro e amigo, pelo respeito e confiança durante toda essa caminhada, pelas palavras de conforto, mais do que isso pelo amor.

À Prof.^a Dr.^a Keila Aparecida Moreira por todo o apoio demonstrado desde o início, pela orientação e confiança depositada.

Agradeço a colaboração da minha co-orientadora Prof.^a Dr.^a Erika Valente de Medeiros.

A todos os meus colegas do Laboratório de Biotecnologia do CENLAG/UAG. Com carinho aos meus colegas de trabalho, Edson Flávio, Izabelle Taynã e Jessica Moraes que foram de extrema importância nos experimentos de laboratório.

Agradeço ao Aldo por toda ajuda e conselhos durante a execução dos trabalhos em campo e laboratório, não apenas isso, mas por toda amizade.

Ao professor Mácio Farias pela contribuição nas análises estatísticas e por todo ensinamento transmitido de forma humilde, por quem sabe usar de suas qualidades humanas para com os demais.

Agradeço aos meus amigos Pablo, Lillian, Francisca, Carla e Jaomara pela cumplicidade, conselhos e presença em todos os momentos que mesmo distante me incentivaram a nunca desistir e me ensinaram o valor da verdadeira amizade.

Não poderei esquecer-me de meus amigos Sheylla, Jacyelle, Andreza Raquel e Jamilly, em especial Uemeson José por todos os seus gestos de bondade, humildade e amizade construída.

Agradeço a minha grande amiga Eugélia Costa, pelo amor e amizade, por ser a melhor amiga e a minha companheira de muitos anos, porque Deus se faz presente entre nós.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, por fornecer todo apoio estrutural e educacional.

A CAPES, por ter me concedido apoio financeiro imprescindível para o desenvolvimento dessa pesquisa.

A Pós-Graduação em Produção Agrícola (PPGPA) da Unidade Acadêmica de Garanhuns por fornecer todo apoio estrutural e educacional para realização desse trabalho.

BIOGRAFIA

Ariele Carneiro de Andrade, filha de Francisco Milton Leandro de Andrade e Rosa Maria Carneiro de Andrade, nasceu no município de Capitão Poço – PA, em 04 de novembro de 1989.

Em 2009 ingressou no curso de Agronomia pela Universidade Federal Rural da Amazônia, na Unidade Descentralizada de Capitão Poço, concluindo em março de 2014.

Em 2014 ingressou na Pós-Graduação em Produção Agrícola da Universidade Federal Rural de Pernambuco - Unidade Acadêmica de Garanhuns em Garanhuns – PE, sob a orientação da professora doutora Keila Aparecida Moreira, defendendo a dissertação em 15 de julho de 2015.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL	10
GENERAL SUMMARY	11
INTRODUÇÃO GERAL.....	12
CAPÍTULO I	20
RESUMO.....	21
ABSTRACT	22
1. INTRODUÇÃO	23
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1. Descrição da área de estudo.....	25
2.2. Obtenção do micro-organismo.....	25
2.3. Produção das plantas em casa de vegetação e aplicação do indutor.....	25
2.4. Obtenção das amostras de tecido foliar	277
2.5. Determinações enzimáticas.....	27
2.5.1. Peroxidase.....	27
2.5.2. Catalase	28
2.5.3. Polifenoloxidase.....	288
2.5.4. Ascorbato peroxidase.....	28
2.5.5 Beta-1,3-glucanase.....	28
2.6. Severidade da doença.....	29
2.7. Análise estatística	29
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	2929
3.1. Peroxidase.....	29
3.2. Catalase	32
3.3. Polifenoloxidase.....	34
3.4. Ascorbato peroxidase.....	377
3.5 Beta-1,3glucanase.....	39
3.6. Severidade da doença.....	42
4. CONCLUSÃO	45
5. REFERÊNCIAS.....	46

RESUMO GERAL

A cultura do pimentão (*Capsicum annum* L.) é uma das mais importantes hortaliças cultivadas no Brasil. Entretanto essa cultura pode ser acometida por uma série de doenças que acarretam danos econômicos e a antracnose, ainda representa um sério entrave à produção, tanto em campo quanto em casa-de-vegetação. A antracnose nesta olerícola pode ser causada por várias espécies de fungos do gênero *Colletotrichum*, mas no Brasil, a maioria dos relatos identificam *Colletotrichum gloeosporioides* como o principal agente causal da doença. As infecções se caracterizam por lesões nas partes aéreas das plantas como nos frutos, caules e folhas. O método de controle das infecções mais utilizado consiste em aplicações de fungicidas, no entanto atualmente se busca por alternativas mais sustentáveis. Desse modo o uso de indutores de resistência vem se destacando podendo ser aplicado de forma preventiva, por atuar nos processos fisiológicos e bioquímicos das plantas. Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi verificar a eficácia do indutor acibenzolar-S-metil para o controle da antracnose nas plantas de pimentão bem como a ativação de enzimas relacionadas à patogenicidade sendo elas peroxidase, polifeniloxidase, catalase, ascorbato peroxidase e β -glucanase. O estudo foi conduzido em casa de vegetação no município de Garanhuns-PE. Os tratamentos foram dispostos em parcela subdivida, na qual a parcela consistiu das épocas de coleta e a subparcela das diferentes doses do indutor, com quatro repetições. As plantas receberam os tratamentos da seguinte forma: $0,15\text{g L}^{-1}$, $0,30\text{g L}^{-1}$, $0,45\text{g L}^{-1}$, $0,60\text{g L}^{-1}$ do acibenzolar-S-metil (Syngenta®) e Controle (somente água destilada). Os resultados obtidos foram analisados pelo emprego do programa software SAEG 5.0 a 5% de probabilidade. A atividade peroxidase não foi significativa para análise de variância a 5% de probabilidade, no entanto a dose $0,45\text{g L}^{-1}$ promoveu maior atividade. Para a ascorbato peroxidase embora não significativo para análise de variância, a dose $0,15\text{g L}^{-1}$ apresentou maior atividade desta enzima sendo superior ao controle. O aumento na atividade catalase foi significativo quando as plantas foram tratadas com a maior dose do indutor $0,60\text{g L}^{-1}$. No oitavo dia após a inoculação houve maior atividade da enzima polifenoloxidase, destacando-se das demais épocas de coletas. A dose $0,60\text{g L}^{-1}$ promoveu maior atividade da β -1,3-glucanase. Quando as plantas foram submetidas à aplicação do acibenzolar-S-metil verificou-se uma redução da severidade à medida que as doses aumentavam, mostrando com isso que o tratamento prévio com indutor de resistência consiste em um método eficiente para o controle da doença antracnose.

Palavras-chave: atividade enzimática, Bion, *Capsicum annum* L., *Colletotrichum gloeosporioides*, pimentão.

GENERAL SUMMARY

The bell pepper (*Capsicum annum* L.) crop is one of the most important vegetables grown in Brazil, and has been showing significant growth. However, this culture can be affected by a number of diseases that cause economic damage and anthracnose, still represent a serious obstacle to production, both in the field and at home-de-vegetation. Anthracnose in *Capsicum annum* can be caused by several species of fungi of the genus *Colletotrichum*, but in Brazil, the majority of reports identify *Colletotrichum gloeosporioides* as the main causative agent of the disease. Infections characterized in lesions aerial parts of the plants such fruits, stems and leaves. The control method of the infections is used in fungicidal applications, however currently search for more sustainable alternatives. Thus the use of resistance inducers has been outstanding and can be applied preventively, by acting on the physiological and biochemical processes of plants. Given the above, the objective of this study was to investigate the efficacy of acibenzolar-S-methyl inducer for the control of anthracnose in pepper plants as well as the activation of enzymes related to pathogenicity and they peroxidase, polifeniloxidase, catalase, ascorbate peroxidase and β -1,3-glucanase.. The study was conducted in a greenhouse in Garanhuns-PE municipality, and the treatments were arranged in subdivided portion, in which the portion consisted of collection times and the subplot of different inducer of doses, with four replications. The plants were treated with the treatments as follows: 0.15g L⁻¹; 0.30g L⁻¹; 0.45g L⁻¹, 0.60g L⁻¹ acibenzolar-S-methyl (Syngenta®) and control (distilled water only). The results were analyzed by the software program SAEG 5.0 to 5% probability. The peroxidase activity was not significant for analysis of variance at 5% probability, however the dose 0.45g L⁻¹ promoted greater activity. For peroxidase although not significant ascorbate activity to analysis of variance, the dose 0.15g L⁻¹ showed increased activity of this enzyme is superior to the control. The increase in catalase activity was significant when the plants were treated with the highest dose of 0.60g L⁻¹ inducer. On the eighth day after inoculation was higher by polyphenol oxidase activity, standing out from the others collection times. The dose 0.60g L⁻¹ promoted greater activity of β -1,3-glucanase enzyme. When the plants medium subjected to the application of acibenzolar-S-methyl there was a reduction in the severity as the doses increased, thereby showing that prior treatment with resistance inducer consists of an efficient method for control of anthracnose disease.

Key words: Bell pepper, Bion, *Capsicum annum* L., *Colletotrichum gloeosporioides*, enzyme activity.

INTRODUÇÃO GERAL

As espécies do gênero *Capsicum* são conhecidas como pimentas e pimentões pertencentes à família Solanaceae. Este gênero inclui 27 espécies, sendo cinco domesticadas, cultivadas em diferentes partes do mundo - *C. annuum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L. e *C. pubescens* Ruiz & Pav., e 22 espécies selvagens, distribuídas ao redor do seu centro de origem (DE WITT; BOSLAND, 1993; BOSLAND; VOTAVA, 1999).

O Brasil possui ampla diversidade de espécies de *Capsicum*, com destaque para *C. annuum* var. *annuum*; *C. baccatum* var. *pendulum*; *C. chinense* e *C. frutescens* (REIFSCHNEIDER, 2000). Contudo a mais cultivada é *C. annuum*, popularmente conhecida como pimentão. Esta consiste em uma das mais importantes hortaliças cultivadas, sendo seus frutos consumidos no ponto de maturação, além de serem utilizados na indústria alimentícia para produção de pigmentos (REIFSCHNEIDER; RIBEIRO, 2004).

Segundo dados do IBGE (2006) dentre as Solanaceas o pimentão só perde para o tomate (*Solanum lycopersicon* L.) e a batata inglesa (*Solanum tuberosum*) com relação à área cultivada e quantidade produzida.

O pimentão apresenta extensa diversidade, expressa em diferentes formas, sabores, bem como uma grande variedade de cores, constitui uma planta de clima tropical exigente em água e calor, sensível às baixas temperaturas e intolerante as geadas, devendo assim ser cultivada em ambiente que favoreça a germinação, seu desenvolvimento e a frutificação, para desse modo obter um produto de alto valor comercial com menor custo de produção (FIGUEIRA 2005; ARAÚJO, 2013).

A produtividade e qualidade da cultura são afetadas diretamente por condições climáticas e por tratos culturais, adubação e irrigação, incidência de pragas e doenças, e adoção de medidas de controle fitossanitário. Diversas estratégias são usadas para intensificação da produção da cultura no Brasil, desde estufas, como técnicas de plantio e cultivo protegido que permitem uma alta produção em diferentes épocas diversas durante as estações do ano (AZEVEDO, 2006).

No entanto doenças afetam a qualidade e a produtividade do pimentão, como a antracnose, uma das principais doenças desta cultura que causa perdas de até 100% na

produção de frutos. Os prejuízos mais importantes resultam dos sintomas de podridão em frutos, com danos em folhas e ramos de menor importância (SILVA, 2012).

Apesar de prejuízos causados por outros patógenos que ocasionam danos econômicos a cultura, uma das doenças mais limitantes do sistema de produção de pimentões é a antracnose (BAILEY; JEGER, 1992). Os frutos colhidos doentes tornam-se imprestáveis para comercialização e consumo e, mesmo quando não apresentam sintomas durante a colheita, ainda podem se manifestar na pós-colheita, causando grandes percentuais de perdas (AZEVEDO, 2006).

Esta doença é importante principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, predominando em condições de alta umidade (BLACK et al., 1991). A antracnose apresenta lesões nos frutos que possui coloração alaranjada, correspondentes a uma massa de esporos (conídios) produzidos juntos a uma mucilagem solúvel em água, razão pela qual a doença é mais prejudicial em períodos de chuva e alta umidade (AZEVEDO, 2006).

O patógeno é disseminado a longas distâncias por sementes infectadas e, dentro da cultura, por respingos de água de chuva ou irrigação por aspersão (TOZZE JUNIOR, 2007). A infecção e o desenvolvimento de sintomas desta doença podem ocorrer em todos os órgãos aéreos da planta, desde o início de seu desenvolvimento, podendo causar “damping-off”, ocorrência da morte das sementes, durante a fase de germinação ou já depois na fase de plântula, pré e pós-emergência (BLACK et al., 1991).

A antracnose em pimentão é causada por várias espécies de *Colletotrichum Sacc.* (AZEVEDO et al., 2006; KOIKE; GLADDERS; PAULUS, 2006). O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* também causa antracnose em pré ou pós-colheita em vários outros frutos, como morango, manga, caju, banana, goiaba, maçã, mamão e outras mais (FREEMAN et al., 1998; LOPEZ, 2001).

As características morfológicas que identificam o gênero *Colletotrichum* são a conidioma acervular, frequentemente com setas, as quais apresentam hifas estéreis de coloração escura e não ramificada com parede espessa (ALVES, 2008). A espécie *C. gloeosporioides* destaca-se por apresentar maior número de variantes representadas por 12 *formae speciales* e oito variedades pertencentes a espécie. *Colletotrichum acaciae*, *C. caudatum*, *C. corni*, *C. dicheae*, *C. curvatum* (Index Fungorum, 2013), e outras variedades e *formae speciales* de fungo pertencente ao gênero *Colletotrichum* sp. possui

como fase teleomórfica ascomiceto pertencente ao gênero *Glomerella* sp. (LOPES et al., 2015).

Para o controle da antracnose do pimentão são recomendadas medidas integradas como escolher a área de plantio com boa drenagem; utilizar sementes saudáveis, mediante a realização de tratamento com fungicidas ou tratamento térmico com água a 52 °C por 30 minutos; evitar o plantio de tomate, batata, berinjela, jiló e cucurbitáceas como culturas para rotação; efetuar o plantio em épocas secas e menos favoráveis ao ataque do patógeno; reduzir o adensamento no plantio para aumentar a aeração entre as plantas; fazer uma adubação equilibrada sem excesso de nitrogênio; evitar irrigação por aspersão, pois favorece a disseminação do patógeno na área, dando preferência ao sistema de gotejamento; controlar plantas daninhas, pois podem ser hospedeiras do fungo; coletar e destruir restos culturais; realizar a rotação de culturas por pelo menos um ano, utilizando gramíneas; efetuar pulverização preventiva com fungicidas registrados para a cultura desde o início da frutificação; embalar os frutos colhidos, apenas, quando estiverem secos; expor os frutos para comercialização em locais arejados (MONTEIRO; COSTA; ZAMBOLIM, 2000; BERKE et al., 2003; LOPES; ÁVILA, 2003; CERKAUSKAS, 2004; KOIKE; GLADDERS; PAULUS, 2006).

Apesar de todas as recomendações mencionadas anteriormente, a aplicação de produtos químicos continua sendo a tecnologia mais utilizada no controle da antracnose do pimentão no Brasil (ARAÚJO, 2013), sendo possível o uso de fungicidas registrados como produtos à base de clorotalonil, mancozeb, azoxistrobina e cobre, mas nem sempre é possível evitar as epidemias e, além disso, tem sido relatada a diminuição de eficiência de vários princípios ativos (PEREIRA, 1995; FERNANDES; SANTOS; RIBEIRO, 2002; AZEVEDO et al., 2006).

Porém a utilização maciça, contínua e ampla de fungicidas como único método de controle de doenças de plantas, tem promovido a seleção de fungos resistentes aos produtos químicos utilizados para seu controle (SALES JÚNIOR et al., 2007). São diversos fatores que apresentam uma divergência para a utilização de produtos convencionais como os fungicidas, existe uma grande luta para a utilização de alternativas ecológicas tanto na produção dos alimentos como na prevenção e tratamentos de pragas e doenças (BALBI-PEÑA, 2005).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária verificou no ano de 2010 através do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos que dentre 18 produtos avaliados verificou-se que o pimentão foi o alimento que apresentou maiores níveis, aproximadamente 92% de resíduos de agrotóxicos (ANVISA, 2010). Pela ocasião da última avaliação em 2012, o pimentão saiu dessa estatística, destacando-se a abobrinha por apresentar o maior percentual desse tipo de irregularidade (45%) seguido da alface, feijão, fubá de milho e tomate (ANVISA, 2012).

Desse modo o monitoramento aos fungicidas em uma população de patógenos é importante para determinar a presença de isolados resistentes (TOZZE JUNIOR, 2007). Este monitoramento é necessário especialmente para os fungicidas com atividade sistêmica, que apresentam um modo de ação específico, ou seja, aqueles que atuam sobre um único sítio do metabolismo dos organismos (KIMATI, 1995; GHINI; KIMATI, 2000).

A busca por formas de controle de doenças que apresentem redução do uso de agroquímicos e a conscientização da população acerca dos problemas ambientais vêm se destacando e promovendo segurança alimentar, sustentabilidade e, principalmente, o manejo fitossanitário (ANDRADE et al., 2013).

A utilização de produtos que induzem mecanismos de resistência nas plantas constitui uma alternativa para o manejo integrado dessa doença (ROMEIRO, 2008). Desta forma o uso de produtos comerciais que induzem resistência vem ganhando relevância no controle de doenças de plantas (ANDRADE et al., 2013). Dentre eles, destaca-se o acibenzolar S-metil (ASM) que atua em várias espécies vegetais contra uma ampla gama de patógenos, incluindo fungos, vírus e bactérias (GÖRLACH et al., 1996). O ASM é um indutor de resistência que não possui ação antimicrobiana direta, o mesmo interfere nos processos fisiológicos e/ou bioquímicos das plantas, como a produção de fenóis, ativando a resistência sistêmica (DEBONA et al., 2009; FURTADO et al., 2010).

Consiste de um ativador de plantas que não tem ação direta contra os patógenos esse produto é rapidamente absorvido pelos tecidos foliares e transloca-se sistemicamente, tanto para as folhas quanto para as raízes, ativando assim a planta de forma generalizada (BRASIL, 2013). Observou que após o desenvolvimento do acibenzolar-S-metil, houve um considerável avanço na indução de resistência. Além da

atividade fungicida desse produto, ele também pode aumentar a capacidade das plantas se defenderem contra outros patógenos (HERMS et al., 2002; VENANCIO et al., 2003).

Após a penetração do patógeno, há formação de um ou mais tipos de estruturas, que apresentam maior ou menor sucesso na defesa da planta, e podem apresentar poderosa atividade antifúngica (SIQUEIRA, 2015). Em seguida as proteínas relacionadas à defesa da planta, que incluem as enzimas peroxidase, polifenoloxidase, catalase e ascorbato peroxidase, serão ativadas em maior ou menor intensidade, dependendo das características fisiológicas da planta.

As defesas vegetais podem também ser classificadas como estruturais, quando baseadas em características anatômicas, e bioquímicas, quando relacionadas a compostos biologicamente ativos (SHEWRY; LUCAS, 1997). Enquanto que os mecanismos de defesa estruturais físicos atrasam ou impedem a penetração dos patógenos, os bioquímicos inibem o crescimento, criando condições adversas para o crescimento dos patógenos (AGNELLI, 2011).

As plantas que são expostas ao agente indutor apresentam um aumento na atividade de rotas metabólicas quando envolvidas na percepção da presença de patógenos, a partir de uma sinalização bioquímica do sítio onde o sinal foi originado. Ocorre um aumento nas atividades enzimáticas envolvidas na síntese de compostos antimicrobianos, como a PR-proteínas, proteínas relacionada à patogênese. Essas proteínas acumulam-se em plantas como resposta a infecção ou resposta a indução de resistência (AGNELLI, 2011).

A resistência induzida consiste no aumento da resistência por meio da utilização de agentes externos, sem qualquer alteração no genoma da planta (STADNIK, 2000), este evento ocorre de maneira não específica por meio da ativação de genes envolvidos em diversas respostas de defesa, como explosões oxidativas (LAMB; DIXON, 1997) acúmulo de PR-proteínas como peroxidases, quitinases e β -1,3-glucanases (CABELO et al., 1994; IURKIV et al., 2006); enzimas envolvidas na rota dos fenilpropanóides, como a fenilalanina amônia-liase (WEN et al., 2005) e polifenol oxidase (THALER et al., 2001); aumento na atividade de β -1,3-glucana sintase e conseqüente aumento na formação de calose (STADNIK; BUCHENAUER, 2000), bem como o acúmulo de lignina em tecidos circunvizinhos ao local de penetração do micro-organismo (IURKIV et al., 2006).

A enzima peroxidase está presente em células animais e micro-organismos, nas plantas encontra-se diretamente ligada à lignificação dos tecidos, juntamente com seus precursores tóxicos exercem papel importante na relação de resistência em plantas. Essa resistência está relacionada com a defesa já existente e que independem do contato do inóculo com o sítio de infecção. Além de participar da rota dos fenilpropanoides, participa da produção de fitoalexinas, espécies reativas de oxigênio e formação de barreiras estruturais. A peroxidase catalisa a oxidação e a eventual polimerização de álcool hidroxicinâmico em presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), originando lignina (ISHIGE et al., 1993).

O papel desta enzima no processo de defesa além de reforçar a parede celular a partir da formação de lignina, suberina, polissacarídeos e glicoproteínas ricas em hidroxiprolina, está no aumento da produção de espécies reativas de oxigênio que apresentam ação antimicrobiana, bem como na sinalização e também na indução de fitoalexinas (KRISTENSEN et al., 1999).

As células das plantas são equipadas com um eficiente sistema de defesa antioxidante como as catalases (CAT) que são enzimas que convertem H_2O_2 em H_2O e O_2 em conjunto com a peroxidase. Sua principal função é de prevenir os efeitos potencialmente danosos causados por mudanças na homeostase da molécula (VAN BREUSEGEM et al., 2001). Níveis elevados de H_2O_2 são tóxicos para a planta, enquanto que concentrações mais baixas desempenha um papel muito importante na transdução de sinal nas plantas atacadas por fungos e insetos (PRASAD et al., 1994).

A catalase e a peroxidase são as principais enzimas de detoxificação do H_2O_2 em plantas e podem dismutar diretamente o H_2O_2 ou oxidar os substratos, como metanol, etanol, formaldeído e ácido fórmico (VALENTE, 2012).

A CAT funciona como canal de limpeza do H_2O_2 celular (VAN BREUSEGEM et al., 2001), esta enzima é a principal via de degradação do H_2O_2 , portanto aumento na atividade de catalase resulta na ativação da resistência sistêmica adquirida (SIQUEIRA, 2015). Este sistema é ativado quando as plantas são atacadas, principalmente, por fungos fitopatogênicos (GAYATRIDEVI et al., 2012).

A enzima conhecida como polifenoloxidase (PFO) participa do grupo das oxirredutases e contém o cobre como grupo prostético, a mesma está relacionada à oxidação de compostos fenólicos. Estes compostos são substâncias advindas de

produtos secundários que contêm um grupo fenol, isto é, um grupo hidroxila funcional em um anel aromático, produzidas pelas plantas e que apresentam uma variedade de funções nos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2009). A concentração pode variar em função da espécie, cultivar ou do ambiente, podendo sua expressão ser induzida ou inibida em algumas plantas por estresse como injúrias, toxicidade de nitrogênio e ataque de patógenos (SANCHEZ et al., 2000).

À medida que ocorre a ruptura da célula ocasionada por ferimentos, ação de insetos ou patógenos, ou ainda, senescência, as polifenoloxidasas são liberadas e iniciam o processo de oxidação dos compostos fenólicos, também participam do processo de lignificação durante a invasão do patógeno (THIPYAPONG et al., 2004).

A importância da polifenoloxidase para as plantas é proveniente deste aspecto desejável, em que devido à propriedade de oxidar compostos fenólicos para quinonas possibilitam a formação de produtos mais tóxicos para os micro-organismos do que o fenol original (CAMPOS; SILVEIRA, 2003). Dessa forma, a atividade enzimática torna-se promissora para a resistência à infecção, expressa por meio da redução do ataque de patógenos, proporcionando um aspecto positivo para o reino vegetal (ALVARENGA et al., 2011).

A ascorbato peroxidase é uma enzima fundamental do metabolismo antioxidante, que catalisa a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água, utilizando o ascorbato como doador de elétrons. Podem ocorrer mudanças na atividade dessa enzima em resposta ao estresse causado por fitopatógenos ou pelo ambiente, e que o aumento dessa atividade pode estar relacionado à tolerância a esses estresses (LEE et al., 2001).

Na indução de resistência, as enzimas quitinase e β -1,3-glucanase agem de forma conjunta. Uma pequena quantidade de β -1,3-glucanases é sintetizada e excretada para a lamela média (espaço intercelular), e, com o crescimento fúngico neste espaço, esta enzima começa a degradar o tecido da parede celular do fungo, e os fragmentos liberados pela ação da enzima funcionam como exoelicitores, induzindo a síntese de grande quantidade de quitinase e β -1,3-glucanase que são acumuladas nos vacúolos (KUHN, 2007).

Além disso, essa enzima participa do crescimento e desenvolvimento dos vegetais, da detoxificação celular e de mecanismos de defesa como lignificação, cicatrização de ferimentos e oxidação de compostos fenólicos (BAYSAL et al., 2003).

Após a infecção do patógeno, pode ocorrer um pronunciado aumento da atividade dessas enzimas que inibem o crescimento dos fungos e liberam substâncias que induzem a produção de fitoalexinas pelas plantas (KIM; HWANG, 1994). Dentro desse contexto a indução de resistência são mecanismos naturais existentes nas espécies vegetais e que são utilizados para se defenderem do ataque de diversos agentes causadores de doença (bactérias, fungos e vírus), esses mecanismos de defesa podem ser explorados pelo homem para o controle de doenças através da aplicação de agentes indutores capazes de produzir uma resposta de defesa nas plantas contra o ataque de fitopatógenos (AGNELLI, 2011).

CAPÍTULO I

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE PIMENTÃO (*Capsicum annum* L.) UTILIZANDO ACIBENZOLAR-S-METIL NO CONTROLE DA ANTRACNOSE

RESUMO

A importância econômica de pimentões vem crescendo no Brasil com aumento do consumo *in natura* ou pelo processamento de molhos, temperos e conservas. Apesar dos avanços tecnológicos no sistema de produção, as doenças, como a antracnose ocasionada por *Colletotrichum gloeosporioides*, afeta o cultivo de pimentão causando danos econômicos aos produtores. Atualmente têm-se intensificado a busca por métodos alternativos para controle de doenças de plantas através da indução de resistência, destacando-se o acibenzolar-S-metil. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia da aplicação do acibenzolar-S-metil na indução de resistência das plantas de pimentão e a ativação das enzimas peroxidase, polifenoloxidase, catalase, ascorbato peroxidase e β -1,3-glucanase. O estudo foi realizado em casa de vegetação no município de Garanhuns-PE. O delineamento experimento foi em parcela subdivida, em que as parcelas consistiram das épocas de coleta e a subparcela das diferentes doses do indutor, com quatro repetições totalizando 48 unidades experimentais. Os tratamentos foram: 1 (0,15g L⁻¹); 2 (0,30g L⁻¹); 3 (0,45g L⁻¹), 4 (0,60g L⁻¹) do acibenzolar-S-metil (Syngenta®) e o controle (somente água destilada). As plantas tratadas foram inoculadas com esporos de *Colletotrichum gloeosporioides* dois dias após receberem os tratamentos com o indutor. Para as atividades peroxidase e ascorbato peroxidase a análise de variância não foi significativa a 5% de probabilidade, no entanto a dose 0,45g L⁻¹ promoveu maior atividade de peroxidase e a dose 0,15g L⁻¹ estimulou maior atividade de ascorbato peroxidase sendo superior ao controle. A atividade de catalase foi significativo, e a maior dose do acibenzolar-S-metil 0,60g L⁻¹ promoveu maior atividade desta enzima destacando-se dos demais tratamentos. A maior atividade da polifenoloxidase ocorreu no oitavo dia após a inoculação, promovendo um aumento significativo desta enzima. Para a atividade β -1,3-glucanase quando comparadas com os demais tratamentos a dose 0,60g L⁻¹ expressou maior atividade da enzima. A partir dos resultados obtidos conclui-se que houve uma redução da severidade da doença antracnose quando as plantas foram pulverizadas com as maiores doses do acibenzolar-S-metil proporcionado à indução de resistência nas plantas de pimentão.

Palavras-chave: Patogenicidade, enzimas antioxidantes, *Colletotrichum*.

ABSTRACT

The economic importance of bell peppers is growing in Brazil with increased fresh consumption or for processing sauces, condiments and preserves. Despite technological advances in the production system, diseases such as anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* affects the chili cultivation causing economic damage to producers. Currently have intensified the search for alternative methods of plant disease control by inducing resistance with use of biotic agents, standing up the acibenzolar-S-methyl that activates the latent mechanisms of plant resistance. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of the application of acibenzolar-S-methyl in the pepper plant resistance induction and activation of peroxidase enzymes, polyphenoloxidase, catalase, peroxidase and β -1,3-glucanase ascorbate. The study was conducted in a greenhouse in Garanhuns-PE municipality, the experiment design was subdivided portion, in which the plot consisted of collection times and the subplot of different inducer of doses, with four repetitions totaling 48 experimental units. The treatments were: 1 (0.15g L^{-1}); 2 (0.30g L^{-1}); 3 (0.45g L^{-1}), 4 (0.60g L^{-1}), acibenzolar-S-methyl (Syngenta®) and the control (distilled water only). The treated plants were inoculated two days after receiving the treatment with the inducer. For peroxidase and ascorbate peroxidase activity analysis of variance was not significant at the 5% probability, however a dose 0.45g L^{-1} promoted greater peroxidase activity and dose 0.15g L^{-1} showed increased activity of ascorbate peroxidase being superior to the control. The catalase activity was significant, and the highest dose of acibenzolar-S-methyl promoted greater activity of this enzyme highlighting the other treatments. The most active polyphenol oxidase occurred on the eighth day after inoculation was promoting a significant increase of this enzyme. For the β -1,3-glucanase activity when compared to the other treatments the dose 0.60g L^{-1} expressed higher activity of the enzyme. From the results obtained it was concluded that there was a reduction in the severity of anthracnose disease when the plants were sprayed with doses greater acibenzolar-S-methyl provided to the induction of resistance in bell pepper plants.

Key words: Pathogenicity, antioxidant enzymes, *Colletotrichum*.

1. INTRODUÇÃO

O pimentão (*Capsicum annuum* L.) cultivado no Brasil é caracterizado pela adaptação ao clima tropical sendo sensível à temperatura baixa e intolerante à geada (FONTES et al., 2005), estando entre as olerícolas mais consumidas pela população (NOGUEIRA, 2015). A preferência de consumo é por frutos verdes, ou seja, 70% são comercializados nessa coloração (ARAUJO NETO et al., 2009), sendo consumidos de forma *in natura* quando estão completamente maduros ou em forma de condimentos como molhos, conservas e temperos.

Em ambiente protegido, é possível produzir o pimentão durante o ano todo (FONTES et al., 2005). Desse modo seu cultivo vem aumentando, fato que permite a extensão do tempo de colheita e melhores safras em períodos ambientais adversos. Apesar dos cuidados e da inclusão de novas tecnologias ao sistema de produção, várias pragas e doenças são extremamente limitantes à produção e causam perdas significativas à cultura (ALVES, 2008).

O Nordeste brasileiro apresenta ótimas condições para o cultivo dessa olerícola, notadamente os estados do Ceará, Bahia e Pernambuco foram os maiores produtores de pimentão, com respectivamente 24.465, 20.980 e 13.960 t (IBGE, 2006).

Entre as doenças a antracnose promove redução na produtividade dessa cultura, sendo que seus danos pode atingir todos os estágios de desenvolvimento da planta, afetando a colheita e os sintomas podem variar dependendo da parte atacada, ocasionando tombamento de plântulas em sementeiras, manchas circulares escuras nas folhas, necrose no caule e lesões circulares nos frutos (AZEVEDO, 2006).

Diversas pesquisas visam à necessidade de métodos mais seguros, eficientes, econômicos e não poluentes, dessa forma o mecanismo da indução de resistência em plantas com uso de acibenzolar-S-metil (ASM), promove nas células vegetais um estímulo para a produção de proteínas específicas relacionadas com a patogênese que são capazes de degradar a parede celular dos fungos e bactérias, promovendo a resistência sistêmica adquirida (COL, 1999).

Por mais que se conheçam os efeitos do acibenzolar-S-metil no meio científico, trabalhos que busquem avaliar as concentrações das enzimas associadas à indução de resistência em plantas de pimentão são limitados. Com isso, permitirá desenvolver

estratégias de controle para ativação da defesa em pimentão, bem como, servir de base para estudo em diferentes patossistemas, servindo de referência para outras pesquisas, considerando-se a inoculação de patógenos, períodos de coleta e concentrações do indutor. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência do acibenzolar-S-metil em plantas de pimentão no controle da antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* e a ativação de enzimas relacionadas à patogenicidade.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Descrição da área de estudo

O estudo foi conduzido na Unidade Acadêmica de Garanhuns da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no período de fevereiro a abril de 2015, em Casa de Vegetação, no município de Garanhuns – PE/Brasil, agreste meridional, localizado sob as coordenadas geográficas 08°53'25" de latitude S e 36°29'34" de longitude O, com altitude média de 896 m. O clima da região é do tipo Mesotérmico Cs'a, com temperatura média anual de 20 °C e precipitação média em torno de 1.300 mm.

2.2. Obtenção do micro-organismo

O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* foi obtido da Coleção de Culturas de Fungos Fitopatogênicos Professora Maria Menezes, com o código de acesso CMM 0811, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFPE).

2.3. Produção das plantas em casa de vegetação e aplicação do indutor

As plantas de pimentão foram cultivadas em vasos de 4L, contendo mistura de solo, areia e matéria orgânica (2:1:2) e mantidos em casa de vegetação sob umidade relativa aproximadamente de 70%; a cultivar utilizada foi a Red Jet, por ter uma boa produtividade e aceitação comercial. As plantas foram regadas uma vez ao dia todos os dias da condução do experimento até a finalização das etapas do trabalho em casa de vegetação.

Os tratamentos foram dispostos em parcela subdividida, onde a parcela consistiu das épocas de coleta que foram três períodos aos 4, 8 e 12 dias após a inoculação e as subparcelas os tratamentos que equivalem a cinco, e quatro repetições totalizando 48 unidades experimentais. Os tratamentos com as diferentes doses de Bion foram da seguinte forma: 0,15g L⁻¹; 0,30g L⁻¹; 0,45g L⁻¹; 0,60g L⁻¹ e o Controle (somente água destilada). O acibenzolar-S-metil foi aplicado pulverizando-se 10 mL de solução por planta.

As mudas de pimentão foram transplantadas aos 35 dias após a germinação (Figura 1), e pulverizadas com as diferentes doses de acibenzolar-S-metil (Bion®, Syngenta) e água destilada quando tinham 60 dias depois da germinação todos em um volume de 10 mL nas primeiras folhas da planta. Dois dias após a pulverização, foi inoculado os conídios de *Colletotrichum gloeosporides*, na concentração de $1,6 \times 10^6$ mL⁻¹, e mantidas em sacos plásticos por durante 4 dias para favorecer o desenvolvimento do fungo (Figura 2). Foram coletadas 2 folhas por planta aos 4, 8 e 12 dias após a inoculação para determinação das atividades enzimáticas.

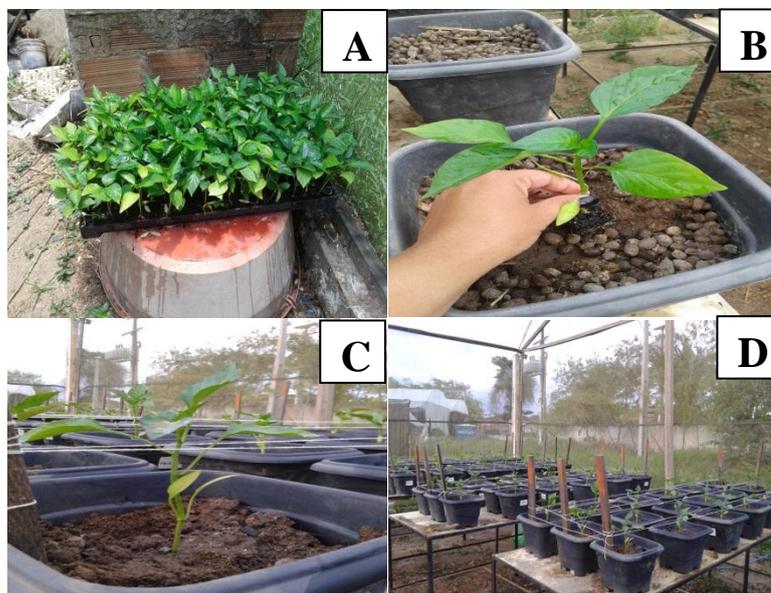


Figura 1. Mudas de pimentão (A), transplântio das mudas (B), Mudas transplantas (C) e tutoramento das plantas para evitar tombamento (D).



Figura 2. Inoculação do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* nas plantas aos 65 dias após o transplante (A) e, sistema de microclima para favorecer o desenvolvimento do micro-organismo (B).

2.4. Obtenção das amostras de tecido foliar

Coletou-se 1 par de folhas das plantas de pimentão de cada tratamento e em seguida armazenadas em freezer (-18 °C) para determinações analíticas, aos 4, 8 e 12 dias após a inoculação. Para obtenção dos extratos vegetais, e posterior determinações das atividades enzimáticas, as amostras congeladas das folhas foram pesadas (0,1g de amostra de tecido vegetal) e maceradas com nitrogênio líquido em almofariz com adição de polivinilpirrolidona (1% p/v) até a obtenção de um pó fino que em seguida foi homogeneizado em solução tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,0 e, posteriormente centrifugado a 10.000×g por 10min a 4 °C e o sobrenadante utilizado para as determinações enzimáticas (ANDRADE et al., 2013).

2.5. Determinações enzimáticas

2.5.1. Peroxidase

A atividade da peroxidase foi determinada de acordo com Lusso e Pascholati, (1999), por método espectrofotométrico direto, a partir da conversão do guaiacol em tetraguaiacol, a mistura da solução constituiu de 135µL de guaiacol, 50µL de peróxido de hidrogênio e 50µL do extrato proteico. Seguindo-se de leitura em

espectrofotométrico 470 nm pelo período de 1 minuto, com as medidas de densidade de zero e 60 segundos, logo após a adição da preparação enzimática ao substrato. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$.

2.5.2. Catalase

A determinação da atividade da catalase de acordo com Havi e Mchale (1987), o ensaio constitui em uma solução de 1390 μL de tampão fosfato de potássio monobásico pH 7,0 (100mM), 50 μL do extrato enzimático, 60 μL de peróxido de hidrogênio (500 mM). Seguindo-se de leitura em espectrofotômetro a 240 nm, no tempo zero e após 60 segundos, e os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$.

2.5.3. Polifenoloxidase

A atividade de polifenoloxidase foi determinada de acordo com a metodologia de Kar e Mishra (1976), na qual foi composto por pirogalol (50 mM) em solução tampão fosfato de sódio 100 mM (pH 6,8). A reação envolveu uma mistura de 1mL de pirogalol, 25 μL do extrato enzimático, e a atividade foi determinada pela interrupção após cinco minutos com a adição de 25 μL de ácido sulfúrico (5%). As leituras em espectrofotômetro foram realizadas a 420 nm e os resultados expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$.

2.5.4. Ascorbato peroxidase

A atividade de ascorbato peroxidase foi determinada de acordo a metodologia descrita por Nakano e Asada (1981) adaptado por Koshiha (1983) com a adição de 1335 μL de solução tampão fosfato de potássio, 75 μL do extrato enzimático, 75 μL de ascorbato e 15 μL de peróxido de hidrogênio na qual ambos foram dissolvidos separadamente em solução tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 6,0). Seguindo-se de leitura em espectrofotômetro a 290 nm, no tempo zero e após 60 segundos. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$.

2.5.4. β -1,3-Glucanase

A atividade de β -1,3-glucanase foi determinada de acordo com a metodologia de Lever (1972), adaptado por Júnior et al. (2015). A reação foi iniciada pela adição de

20µL de extrato enzimático a uma mistura de 230µL solução tampão acetato de sódio 100mM (pH 5,0) e 250 µL de laminarina (4mg mL⁻¹) como substrato. A mistura foi incubada por 30 minutos a 45 °C. Após o período de incubação, a quantidade de açúcares redutores foi determinada pela adição de 500µL de ácido dinitrossalicílico à mistura reacional, posteriormente incubada durante 15 minutos a 100 °C. A reação foi interrompida por arrefecimento das amostras em banho de gelo. Nas amostras controle, a mistura reacional foi o mesmo, exceto que o extrato não foi adicionado. A absorbância do produto liberado por glicose foi mensurada a 540 nm, e a atividade foi expressa em unidade de absorbância min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

2.6. Avaliação da doença

A severidade da antracnose foi avaliada durante 16 dias após a inoculação do micro-organismo. Para tanto, foi utilizada a escala de notas de Pereira et al. (2011). Para as avaliações, utilizaram-se os seguintes critérios: incidência e severidade da doença aos 4, 8, 12 e 16 dias após a inoculação (DAI). Enquanto que, a incidência da doença, foi verificada a percentagem de plântulas com sintomas de folhas necrosadas, murchas, morte do meristema apical e morte da plântula. E para severidade da doença, utilizou-se escala visual de notas variando de 1 a 5, na qual: 1= sem sintomas; 2= traços a 10% de severidade; 3= 11 a 25%; 4= 26 a 50% e 5= acima de 50% de severidade ou morte da planta.

2.7. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e análise de regressão pelo emprego do programa software SAEG 5.0 a 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Peroxidase

A análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, indicou que não houve diferença significativa para os tratamentos e época de coletas para a atividade de peroxidase.

Conforme os resultados apresentados na Figura 3 observar-se os níveis médios da enzima, embora não significativos a atividade peroxidase, a dose de $0,45\text{g L}^{-1}$ foi superior ao controle, verificou-se ainda uma redução da atividade nas doses $0,15\text{g L}^{-1}$ e $0,60\text{g L}^{-1}$.

O papel das peroxidases, além de reforçar a parede celular a partir da formação de lignina, suberina, polissacarídeos e glicoproteínas ricas em hidroxiprolina, está no aumento da produção de espécies reativas de oxigênio que apresentam ação antimicrobiana, bem como na sinalização e na indução de fitoalexinas (BOLWELL et al., 1995; WOJTASZEK, 1997; KRISTENSEN et al., 1999). Contudo, a resistência em plantas está associada à eficiência do hospedeiro em reconhecer a presença do patógeno através de mecanismos de percepção e transdução de sinais que podem resultar na resistência das plantas aos patógenos (GUZZO et al., 2004).

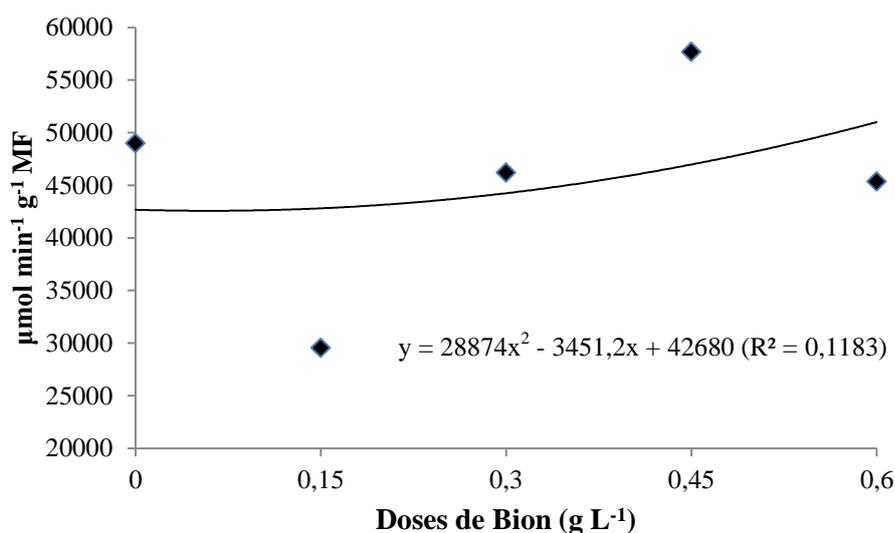


Figura 3. Atividade de peroxidase no tecido foliar de plantas de pimentão, cultivar Red Jet, inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides* pulverizados com indutor de resistência Bion. Equação polinomial: $y = 28874x^2 - 3451,2x + 42680$ ($R^2 = 0,1183$).

Quando uma planta é desafiada por um patógeno ou tratada com eliciadores, ocorre alterações metabólicas nas plantas e também uma sinergia entre o metabolismo primário e secundário (VIECELLI, 2008). A baixa atividade da peroxidase está relacionado com a interação incompatível do patógeno com a cultivar resistente e assim

não estaria desencadeando a sinalização para a atividade desta enzima, uma vez que diminui a incidência da doença.

Para que os mecanismos de defesa sejam induzidos é necessário que a planta reconheça o patógeno (BRESSAN, 2011). Esses mecanismos de reconhecimento do patógeno são considerados eventos primários e essenciais para a indução dos mecanismos de resistência (SILVA, 2008).

Bressan (2011) verificou ao estudar os eliciadores acibenzolar-S-metil e proteína harpina na indução de resistência em plantas de feijoeiro comum ao cretamento bacteriano, que para a atividade de peroxidase não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos com os eliciadores acibenzolar-S-metil e harpina, em relação ao controle.

Alamino et al. (2013) trabalhando com indução de resistência utilizando acibenzolar-S-metil como indutor à podridão-amarga em maçãs não detectaram diferença significativa entre os frutos tratados e não tratados com eliciadores quanto à atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase, superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase. De acordo com os autores, provavelmente o nível das enzimas estava reduzido no momento da avaliação.

Baysal et al. (2003) ressaltam que o aumento na atividade da peroxidase pode ser um indicador no aumento na biossíntese de lignina, esta que atua como uma barreira à infecção microbiana e ainda pode promover aumentos na concentração de produtos de oxidação de fenólicos. Rodrigues et al. (2006), observaram que aos cinco dias após a inoculação com o patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, detectaram um aumento na atividade da peroxidase à cultivar IPA-206 de feijão caupi, tratados com ASM.

Assim, o aumento da atividade da enzima peroxidase foi o principal efeito de indução da resistência sistêmica apresentado por Alamino et al. (2013). Isto explica a redução da área lesionada e da esporulação de *C. gloeosporioides*, pois a peroxidase atua na síntese de compostos fenólicos que são diretamente tóxicos aos fungos, como os ácidos clorogênico, cafeico e ferúlico, e na síntese de lignina (HSU; KAO, 2003; RESENDE et al., 2003; CAMPOS et al., 2004).

As plantas exibem várias respostas bioquímicas para proteção contra agentes oxidantes produzidos durante o metabolismo ou induzidos quando as plantas são

submetidas as condições ambientais adversas (MITTLER, 2002). Os mecanismos de defesa em resposta aos ataques de fitopatógenos envolvem alterações metabólicas que estão correlacionadas com mudanças na atividade de enzimas-chave nos metabolismos primário e secundário (ARAÚJO; MENEZES, 2009).

Neste contexto o grupo de peroxidases representa um papel importante no mecanismo de defesa, mudanças na atividade destas enzimas têm sido frequentemente correlacionadas a resposta de resistência ou suscetibilidade em diferentes interações patógeno-hospedeiro (VIECELLI et al., 2010). Além do mais a enzima peroxidase está relacionada com o processo de proteção antioxidativa, o qual promove o aumento na síntese de lignina que fortalece a parede celular contra a ação de enzimas líticas produzidas pelos patógenos (ANDRADE et al., 2013).

Muitos estudos apontam redução da intensidade de doenças em diversas culturas quando tratadas com ASM, e que muitas vezes o período de absorção e assimilação pela planta é mais importante que diferentes doses utilizadas (CAMPOS et al., 2009; BALDO et al., 2011; ALAMINO et al., 2013).

Os trabalhos sobre a atividade enzimática e resistência de plantas, apresentam resultados variados em relação ao papel da enzima, dependendo da cultura e agente indutor utilizado (WITTER et al., 2013). Dessa forma os resultados deste estudo demonstraram que a atividade de enzimas envolvidas com os mecanismos de defesa de plantas contra patógenos é dependente da interação indutor-planta-patógeno.

3.2. Catalase

Para a atividade de catalase obtida em folhas das plantas de pimentão a ANOVA indicou significância para os tratamentos indicando um aumento da atividade com o aumento das doses. O aumento na atividade de enzimas antioxidante como a CAT pode demonstrar uma proteção da planta contra o ataque do patógeno. No presente estudo, a atividade da catalase em plantas tratadas com o Bion na dose $0,60\text{g L}^{-1}$ foi superior com relação ao controle e demais tratamentos conforme apresentado na Figura 3.

O tratamento prévio com indutores de resistência pode preparar plantas suscetíveis, por meio da ativação rápida de respostas de defesa, e assim reduzir a intensidade de doenças causadas por esses patógenos (PLANCHAMP et al., 2013).

Maia et al. (2014) avaliando o óleo essencial de alecrim no controle de doenças e na indução de resistência em videira, verificaram capacidade de indução da atividade da quitinase e da catalase, o que indica possibilidade da indução de resistência. Jindřichová et al. (2011) estudaram plantas de couve e avaliaram a interação dessas plantas com um fungo patogênico *Leptosphaeria maculans* observaram que o aumento da atividade de catalase reduziu os sintomas da doença nas folhas, e significativamente o desenvolvimento da necrose em até 20% quando comparadas com as plantas controle.

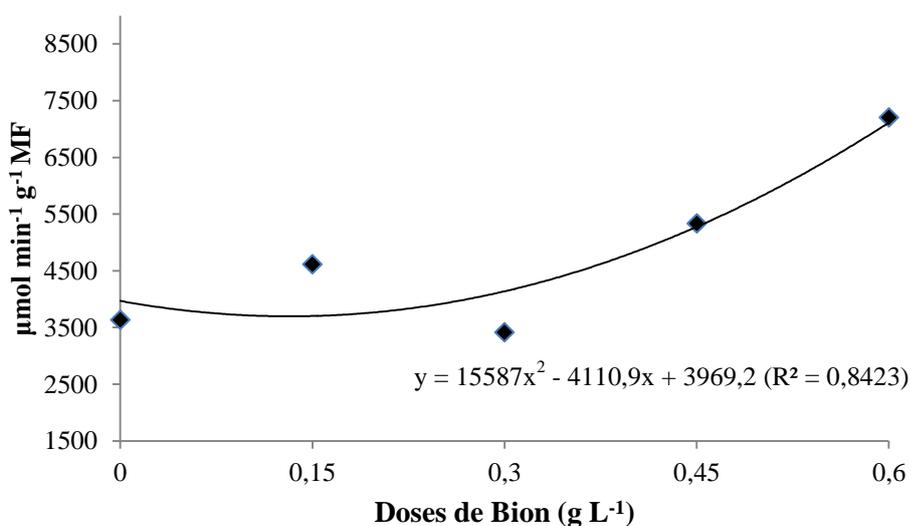


Figura 4. Atividade de catalase no tecido foliar de plantas de pimentão, cultivar Red Jet, inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides* pulverizados com indutor de resistência Bion. Equação polinomial: $y = 15587x^2 - 4110,9x + 3969,2$ ($R^2 = 0,8423$).

Estudos com extratos vegetais realizado por Xavier (2011), apontaram que houve aumento na atividade de catalase em plantas de café a medida que transcorria o tempo de inoculação.

O aumento da atividade da catalase pode ser relacionado à adaptação, auxiliando na redução dos níveis tóxicos do peróxido de hidrogênio (KARUPPANAPANDIAN et al., 2011).

A principal função da catalase é degradar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em plantas (APEL; HIRT, 2004), ao atuar como sinalizador na resposta de defesa da planta e no reforço da parede celular, pela ligação cruzada de proteína estrutural ou fenólica, ao formar uma barreira mecânica efetiva (RESENDE et al., 2003). Quando essa enzima

não atua de forma eficiente, a peroxidação lipídica se torna mais evidente, sendo este o principal sintoma atribuído ao dano oxidativo, frequentemente utilizada como um indicador de danos às membranas celulares (HERNANDEZ et al., 2000).

A primeira resposta de defesa da planta ao ataque de um patógeno é a explosão oxidativa ou a geração de espécies reativas de oxigênio, que atuam no reforço da parede celular, formando uma barreira mecânica efetiva contra a penetração de patógenos nos tecidos da planta (SANTOS, 2005).

A catalase juntamente com a peroxidase são responsáveis por equilibrar a produção de substâncias durante uma situação de estresse, uma vez que este excesso é prejudicial a planta. A atividade da catalase depende do tipo de estresse ser abiótico ou biótico (RAMOS et al., 2011). Durante um estresse abiótico a catalase atua diminuindo os níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs), conhecidas como explosão oxidativa, que em excesso são tóxicos à planta; por outro lado, no estresse biótico, eliciadores podem aumentar a atividade da peroxidase, otimizando a síntese de EROs para proteção da planta (MIRTLE, 2012)

O aumento da atividade de enzimas antioxidantes como a catalase pode traduzir uma proteção da planta contra o ataque de determinado patógeno (VALENTE, 2012). Como observado neste estudo, ainda que pulverizações com indutores aumentaram a atividade da catalase pelo fato de que possuem eliciadores que são reconhecidos pelas plantas, ativam suas respostas de defesa, como o aumento na atividade de enzimas relacionadas à patogenicidade. Assim, quando as plantas de pimentão foram submetidas previamente as doses diferentes de Bion, houve alterações na enzima catalase reforçando a hipótese de resistência induzida por meio do indutor que ativa os mecanismos de defesa naturais da planta mantendo-a em alerta.

3.3. Polifenoloxidase

Para a atividade da polifenoloxidase a ANOVA indicou significância para época de coleta, houve um aumento significativo da atividade em folhas de pimentão aos 8 dias após a inoculação. A Figura 5 apresenta o nível médio da atividade da polifenoloxidase, observado nas folhas de pimentão da cultivar Red Jet, nos diferentes dias ao longo do período de avaliação, os resultados deste estudo demonstram o efeito

do Bion na resistência de plantas de pimentão quando infectado com *C. gloeosporioides*.

Scarponi et al. (2001) observaram que a pulverização de acibenzolar S-metil nas folhas basais de tomateiro protegeu as folhas apicais contra a infecção por *Pseudomonas syringae*. Os autores verificaram que o indutor foi completamente degradado dentro da planta, conferindo proteção pela ativação de mecanismos de defesa.

Baysal et al. (2003) também demonstraram que tomateiro pulverizado com acibenzolar S-metil e inoculado com *C. michiganensis* sub sp. *michiganensis* apresentou redução da severidade da pinta bacteriana. Ngadze et al. (2011) também relacionaram o aumento da atividade da polifenoloxidase com a maior resistência de tubérculos de batata a *Pectobacterium atrosepticum*.

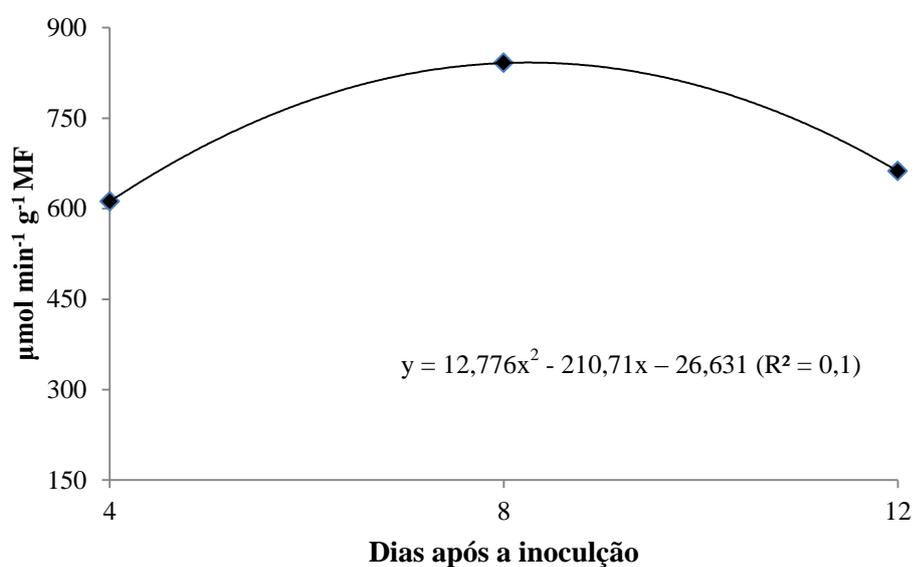


Figura 5. Atividade de peroxidase no tecido foliar de plantas de pimentão, cultivar Red Jet, inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides* pulverizadas com indutor de resistência Bion. Equação polinomial: $y = 12,776x^2 - 210,71x - 26,631$ ($R^2 = 0,1$).

A polifenoloxidase está relacionada com o processo de proteção antioxidativa, o qual promove o aumento na síntese de lignina que fortalece a parede celular contra a

ação de enzimas líticas produzidas pelos patógenos (KVARATSKHELIA et al., 1997). O aumento na atividade dessa enzimas foi correlacionado com a resistência induzida, sendo produzida algumas horas após a pulverização e até 12 dias após, em tomateiro (CAVALCANTI et al., 2006).

Outras culturas também foram estudadas com o método preventivo usando o Bion como indutor de resistência, Oliveira et al. (2012) trabalharam com plantas de feijão caupi e verificaram que a atividade polifenoloxidase aumentou quando a variedade CE-109 estava parasitada com *Meloidogyne incognita*. Silva et al. (2009) também observaram em plantas de feijão que a aplicação do indutor de resistência foi capaz de promover resposta mais rápida a inoculação com *Xanthomonas axonopodis*, que proporcionou um aumento significativo da atividade de polifenoloxidase ocasionando a resistência das plantas a bactéria fitopatogênica.

Terra (2009) testou em diferentes genótipos de mamoeiro com produtos alternativos, como fertilizantes foliares e ASM no controle da pinta preta, concluiu que o ASM foi o mais eficiente no controle da doença.

Itako et al. (2012) observaram em seus estudos com acibenzolar-S-metil, que a aplicação do produto aumentou a capacidade de induzir a resistência das plantas de tomate com o aumento da atividade polifenoloxidase. Por esta razão, admite-se que um aumento na atividade desta enzima resulta em altas concentrações de produtos tóxicos de oxidação e, portanto, maior grau de resistência à infecção (ZHENG-CUIMING et al., 1999).

As polifenoloxidases geralmente se mantêm na forma inativa no interior da célula vegetal, são encontradas compartimentalizadas nos tilacoides dos cloroplastos, podendo ser liberadas e iniciando a oxidação dos compostos fenólicos somente quando necessário, ou seja, em uma situação anormal quando ocorre o ataque de insetos ou patógenos (MOHAMMADI; KAZEMI, 2002). Desse modo foi possível verificar neste estudo, que quando as plantas foram inoculadas ao desafiador da doença antracnose, ocorreu um aumento expressivo da atividade polifenoloxidase no oitavo dia após a inoculação (Figura 5), evidenciaram o efeito do indutor de resistência Bion para alterações nos níveis da enzima contribuindo para ação de resistências das plantas de pimentão, que corrobora a importância do indutor de resistência na resposta de defesa das plantas contra o fungo *Colletotrichum gloeosporioides*.

3.4. Ascorbato peroxidase

A análise da atividade enzimática ascorbato peroxidase em folhas de plantas de pimentão da cultivar Red Jet, não apresentou diferença significativa quando receberam tratamento com o indutor de resistência acibenzolar-S-metil. Alamino et al. (2013) no estudo realizado com acibenzolar-S-metil não detectaram diferença significativa, entre os frutos tratados e não tratados com eliciadores quanto à atividade das enzimas ascorbato peroxidase, provavelmente, pelo fato da atuação das enzimas já estar reduzida no momento da avaliação.

Algumas espécies de plantas após sofrerem algum tipo de lesão apresentam uma queda na concentração de ácido ascórbico, que participa de reações de detoxificação, de forma enzimática e não enzimática de espécies reativas de oxigênio geradas pelo metabolismo celular aeróbico e por estresses bióticos e abióticos (SUZA et al. 2010). Assim como Leite e Virgens filho (2004) trabalharam com resistência induzida em feijão comum e observaram que níveis elevados desta enzima são mais atuantes e constantes precocemente, podendo contribuir para a resistência à antracnose, reduzindo os efeitos danosos por *Colletotrichum lindemuthianum*. Siqueira (2015) observou uma redução da atividade de ascorbato peroxidase no décimo dia após a inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* em plantas de feijão e relatou que esse decréscimo pode estar relacionada a potencialização reduzida do indutor após alguns dias decorrentes à inoculação.

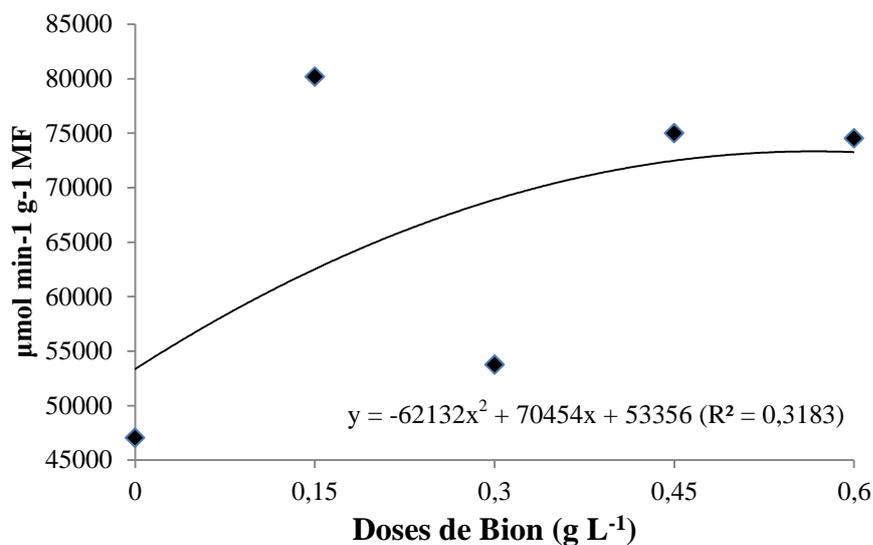


Figura 6. Atividade de ascorbato peroxidase no tecido foliar de plantas de pimentão, cultivar Red Jet, inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides* pulverizados com indutor de resistência Bion. Equação polinomial: $y = -62132x^2 + 70454x + 53356$ ($R^2 = 0,3183$).

O grau de estresse oxidativo em uma célula é determinado pela quantidade de superóxido, H_2O_2 e radicais hidroxilas dessa forma o balanço da atividade ascorbato peroxidase é crucial na supressão das enzimas reativas de oxigênio na célula. Além de um aparato enzimático, a alteração e/ou regulação de vias biossintéticas de proteínas constitui outra importante estratégia de defesa (CHAGAS, 2007). Este mesmo autor verificou com a adição de um indutor oxidativo que a enzima ascorbato peroxidase ao passo que aumentava as concentrações a atividade sofreu redução.

A participação do ascorbato peroxidase no mecanismo de defesa de plantas é atribuída à capacidade desta enzima em catalisar a quebra do H_2O_2 com o consumo de ascorbato, formando monodehidroascorbato em água (GONDIM, 2006). Embora H_2O_2 tenha uma importante função na proteção de plantas, seu acúmulo em excesso é prejudicial, conduzindo a oxidação de proteínas, ácidos graxos e DNA, causando assim danos e eventual morte celular (HALLIVEL, 2006; OLIVEIRA et al., 2012). Desse modo é possível sugerir um dos fatores que a enzima ascorbato peroxidase não foi eficiente para a indução de resistência em folhas de pimentão. Os sistemas de defesa antioxidativo enzimáticos das plantas incluem diversas enzimas antioxidante nos diferentes compartimentos celulares (CHAGAS, 2007).

Estudos tem demonstrado a eficiência da ascorbato peroxidase em outras culturas quando utilizado o indutor acibenzolar-S-metil, diante disso os resultados deste estudo demonstraram, ao comparar com a literatura, que a atividade desta enzima, embora não significativo para diferentes doses, ocorreu um aumento relativo no nível da atividade ascorbato peroxidase na concentração inicial $0,15\text{g L}^{-1}$ destacando das demais e em seguida sofre uma redução nos demais tratamentos (Figura 6). Logo, mais estudos são necessários para verificar os efeitos da enzima ascorbato peroxidase em plantas de pimentão, uma vez que a mesma é considerada umas das peroxidases mais importantes, pois catalisa a redução do H_2O_2 , por meio do poder redutor do ascorbato (SHIGEOKA et al., 2002).

3.5. B-1,3-Glucanase

A análise de variância indicou significância para os tratamentos da atividade enzimática de β -1,3-glucanase em folhas de plantas de pimentão da cultivar Red Jet, apresentando diferenças significativas quando tratadas com Bion. A maior dose contribuiu para a maior atividade enzimática, na comparação entre os demais tratamentos à dose $0,60\text{g L}^{-1}$ mostrou-se a mais indicada (Figura 7).

Dessa forma, supõe-se que existe uma relação entre o tratamento eliciador e o patógeno desafiante, na ativação dos mecanismos de defesa em plantas (VIECELLI et al., 2010). As β -1,3-glucanases está inserida nas proteínas relacionadas a patogênese (PRP's), que englobam famílias de proteínas com características variadas mas com o fato em comum de estarem todas relacionadas aos processos de defesa durante a patogênese, apresentando dessa forma, potencial para serem exploradas nos programas de indução de proteção em plantas.

Resende et al. (2007) investigaram a eficácia da pulverização foliar de mudas de cacaueteiro com vários extratos vegetais contra a vassoura-de-bruxa, utilizando-se o indutor de resistência acibenzolar-S-metil, como padrão em todos os experimentos e verificaram que a enzima β -1,3-glucanase e quitinase foram induzidas precocemente, podendo estar relacionadas com a maior chance de sucesso no combate a *Crinipellis pernicioso*.

Tavares (2009) observou que a indução de resistência de mamoeiro à podridão peduncular causado por *Phytophthora* sp., e destacou o acibenzolar-S-metil o que conferiu a resistência induzida nas plantas, além de promover aumento na atividade das enzimas β -1,3-glucanase e peroxidase, relacionadas à patogênese e ao acúmulo de lignina em raízes de plântulas.

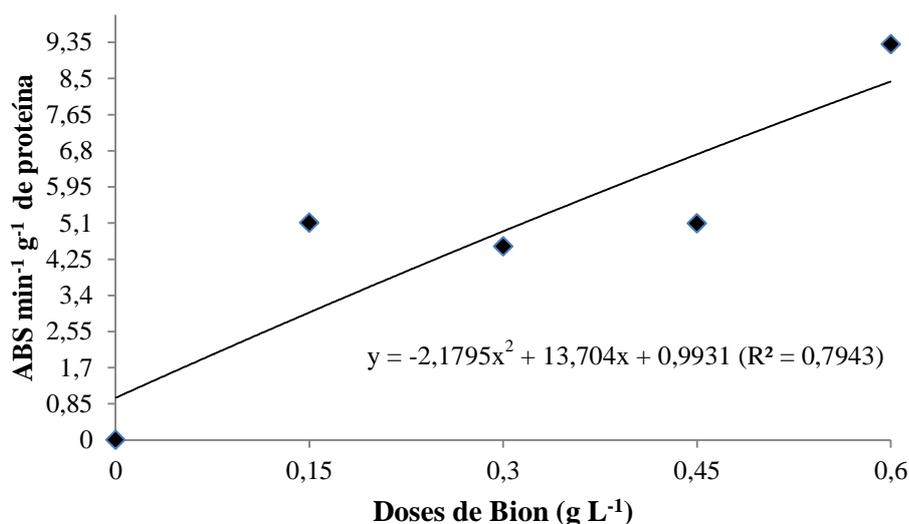


Figura 7. Atividade de β 1,3 Glucanase no tecido foliar de plantas de pimentão, cultivar Red Jet, inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides* pulverizados com indutor de resistência Bion. Equação polinomial: $y = -2,1795x^2 + 13,704x + 0,9931$ ($R^2 = 0,7943$).

Desta forma, as plantas que já estavam com esta rota metabólica ativada, ao entrar em contato com o patógeno, apresentaram aumento da atividade de β -1,3-glucanases, possivelmente, devido à sinalização celular que ocorreu no momento da interação da planta com o patógeno mesmo que esta interação seja incompatível e não ocorra a doença (SBALCHEIRO, 2010).

Sbalcheiro (2010) verificou que a atividade de β -1,3- glucanases foi ativada logo após a aplicação dos agentes *Bacillus* sp. e acibenzolar-S-metil, permanecendo alta no transcorrer do ensaio, indicando que as plantas estavam com uma rota metabólica dos mecanismos envolvidos com respostas de defesa ativada, e que esta fez diferença no momento da interação com o patógeno.

Bokshi et al. (2003), observaram aumento na atividade de β -1,3-glucanases em batata induzida à resistência por ASM contra o fungo *Fusarium semitectum*. Assim como Santos (2013) verificou aumentos na atividade da β -1,3-glucanase com o indutor ASM, que coincidiram com reduções na incidência da antracnose em mamão.

Esses resultados corroboram com os obtidos no presente estudo, uma vez que as plantas inoculadas com *Colletotrichum gloesporioides* apresentaram aumento da atividade enzimática β -1,3-glucanase quando tratadas previamente com o indutor de resistência. Portanto com aplicação direta na planta na forma de pulverizações, o Bion foi absorvido, em seguida tenha induzido a resistência nas plantas, mostrando-se eficiente e capaz de desencadear os mecanismos de defesa da planta e com aumento da enzimas β -1,3-glucanases que é um componente da resposta de defesa de plantas pode restringir o desenvolvimento do patógeno no tecido foliar.

O indutor de resistência Bion, pelas suas características químicas e semelhança com o ácido salicílico, um sinalizador endógeno, tem como efeito a ativação dos mecanismos de resistência (KUHNS; PASCHOLATI, 2010). Devido à ação do ácido salicílico nas células, ocorre a produção de proteínas específicas relacionadas com a patogênese como as β -1,3-glucanase e quitinase, que são capazes de degradar a parede celular de fungos e bactérias patogênicas, desta forma agindo direto sobre o patógeno (COLE, 1999).

A estratégia de indução de resistência em plantas a fitopatógenos tem se mostrado promissora e pesquisas de mecanismos de resistência tem sido estimulada para esclarecer os processos envolvidos na expressão da resistência (WITTER et al., 2013).

Na indução de resistência, o aumento em atividade da β -1,3-glucanase está relacionado com a defesa da planta (SANTOS, 2013). O teor de proteínas no tecido vegetal desafiado com um patógeno ou tratado com eliciadores pode indicar ativação dos mecanismos de defesa (SANTOS, 2013).

É de suma importância a verificação das enzimas chave na indução de resistência, porém deve-se considerar que aspectos fisiológicos também são alterados e a sinergia entre o metabolismo primário e secundário, assim como os compostos produzidos, agem de forma complexa na proteção da planta (SCHWANESTRADA, 2008).

3.6. Severidade da doença

Verifica-se que aos 4 dias após a inoculação a medida que se aumentava as doses do indutor a severidade da doença reduzia (Figura 8A), o mesmo foi observado aos 16 dias de avaliação (Figura 8D). Houve uma redução da severidade da antracnose nas plantas tratadas com as doses $0,45\text{g L}^{-1}$ e $0,60\text{g L}^{-1}$ (Figura 8B) porém aos 12 dias após a inoculação a dose $0,30\text{g L}^{-1}$ seguida da $0,60\text{g L}^{-1}$ foram as que apresentaram menor redução da severidade (Figura 8C). Observa-se maior efeito do controle da doença quando as plantas foram submetidas a dose $0,60\text{g L}^{-1}$ do indutor de resistência acibenzolar-S-metil, e assim diminuiu a severidade da doença antracnose.

Outros estudos verificaram que o tratamento de plantas com acibenzolar-S-metil pode induzir resistência contra fitopatógenos (SBALCHEIRO, 2010). De acordo com Pereira (2009), a aplicação do acibenzolar-S-metil reduziu significativamente a severidade da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) em 65,5% em relação à aplicação de água e Alamino et al. (2013) trabalharam com tratamento pós-colheita em maçãs e verificaram a eficiência do Bion que promoveu a redução da área lesionada por *Colletotrichum gloeosporioides*.

BAYSAL et al. (2003) também obtiveram resultados positivos quando estudou plântulas de tomate pré-tratadas com ASM verificando uma redução na severidade do cancro bacteriano causado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Além disso os testes de indução de resistência realizados por Galdeano (2010) em plantas de café cv. Mundo Novo tratadas previamente com o produto comercial Bion, evidenciaram redução dos sintomas da doença e proteção significativa à cercosporiose.

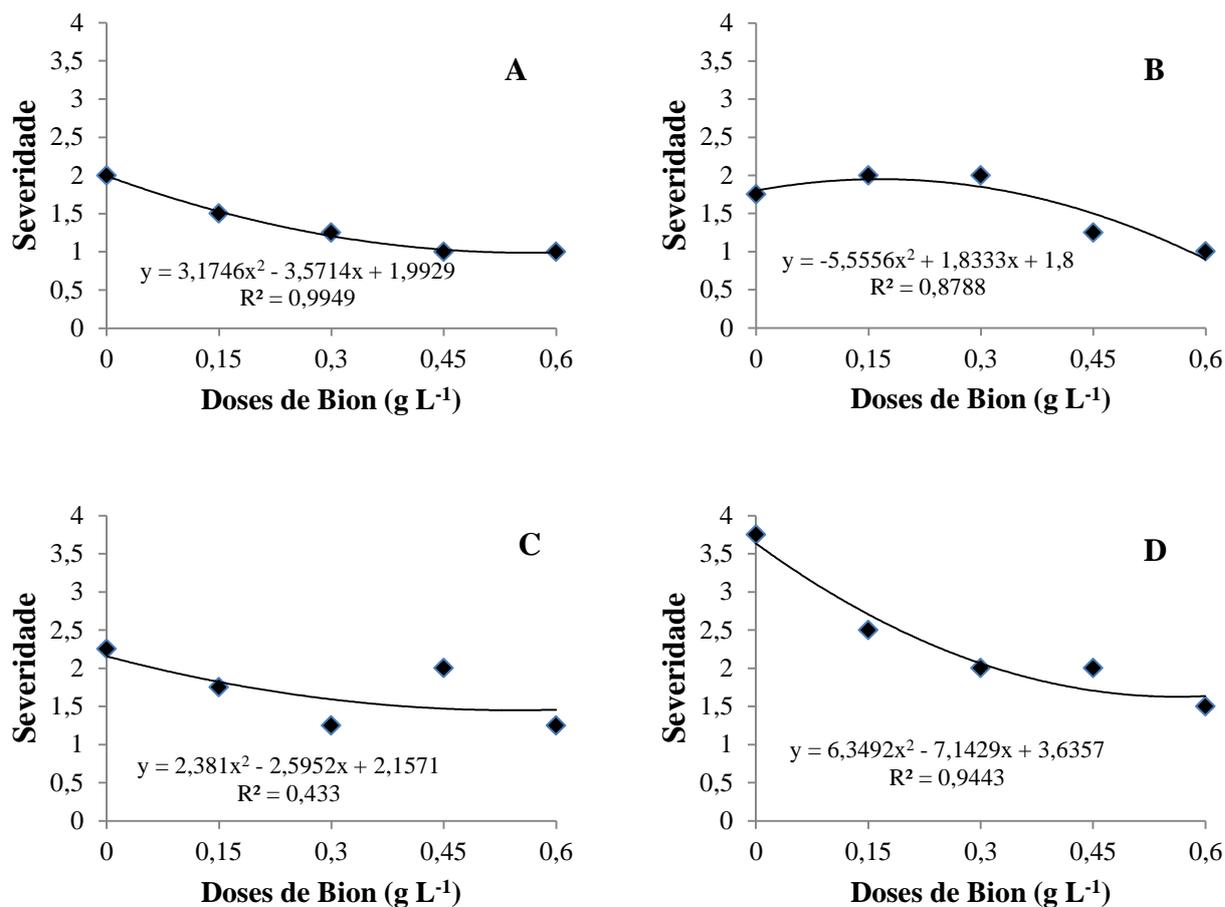


Figura 8. Severidade da doença antracnose ao longo do período de avaliação. Aos 4 dias após a inoculação (A). Aos 8 dias após a inoculação (B). Aos 12 dias após a inoculação (C). Aos 16 dias após a inoculação (D).

Quando Araújo (2005) estudou a ação do acibenzolar-S-metil na indução de resistência a murcha-bacteriana do tomateiro, causado por *Raustonia solanacearum* observou a redução dos sintomas da murcha, resultando em redução de sua severidade.

A aplicação do Bion demonstrou-se eficaz para a diminuição da severidade da antracnose nas plantas de pimentão, portanto a utilização de métodos como a indução de resistência indicam grande avanço da pesquisa e um componente importante nos programas de manejo de doenças.

O uso de ativadores de resistência vegetal isoladamente ou associados a outras práticas agrícolas, deve ir de encontro às necessidades de uma agricultura sustentável,

ou seja, com produtividade, qualidade e menor impacto ao meio ambiente e ao agricultor (SBALCHEIRO, 2010).

4. CONCLUSÕES

O acibenzolar-S-metil promoveu aumento na atividade das enzimas relacionadas à patogênese.

Ocorre redução na severidade dos sintomas da doença antracnose, principalmente quando as plantas foram tratadas previamente com a dose $0,60\text{g L}^{-1}$ de acibenzolar-S-metil. E ao longo do período de avaliação a maior proteção das plantas de pimentão ocorre aos quatro dias após a inoculação com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* conforme se aumentava as doses do indutor a severidade da doença reduzia.

Os resultados deste estudo sugerem ainda que o acibenzolar-S-metil protege as plantas de pimentão contra a antracnose com uma única aplicação com o indutor de resistência.

5. REFERÊNCIAS

AGNELLI, A. R. **Potencial de agentes indutores de resistência para o controle da bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus* em plantas cítricas**. 2011, 44 p. Dissertação (Mestrado Profissional em Controle de Doenças e Pragas dos Citros). Fundo de Defesa da Citricultura. Araraquara-SP.

ALAMINO A. D.; CABRAL V. B.; DANNER M. A.; MARCHESE J. A. Indução de resistência à podridão-amarga em maçãs pelo uso de eliciadores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 3, p. 249-254, 2013.

ALVARENGA, T. C.; NETO H. F. S.; OGASSAVARA, F. O.; ARANTES, F. C.; MARQUES, O. M.; FRIGIERI, M. C. Polifenoloxidase: uma enzima intrigante. **Ciência & Tecnologia**, v. 3, n. 1, p. 83-93, 2011.

ALVES, K. F. **Controle alternativo da antracnose do pimentão com extratos vegetais**. 2008, 47p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE.

ANDRADE, C. C. L.; RESENDE R. S.; RODRIGUES, F. A.; SILVEIRA, P. R.; RIOS, J. A.; OLIVEIRA J. R.; MARIANO, R. L. R. Indutores de resistência no controle da pinta bacteriana do tomateiro e na atividade de enzimas de defesa. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 1, p. 28-34, 2013.

ANVISA, **Toxicologia, Relatório ano 2010 Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/para/>>. Acesso em: 01 mar. 2015.

ANVISA, **Toxicologia, Relatório ano 2012 Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/para/>>. Acesso em: 01 mar. 2015.

APEL, K.; HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. **Annual Review of Plant Biology**, v. 55, p. 373-399, 2004.

ARAÚJO, E. R. **Controle biológico e alternativo da antracnose do pimentão**. 2013, 88p. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Universidade federal Rural de Pernambuco, Recife-PE,

ARAÚJO, F. F.; MENEZES, D. Induction of resistance in tomato by biotic (*Bacillus subtilis*) and abiotic (Acibenzolar-S-Metil) inducers. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 3, p. 169-172, 2009.

ARAÚJO, J. S. P. Efeito do acibenzolar-S-metil sobre murcha bacteriana do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 05-08, 2005.

AZEVEDO, C. P.; FILHO, A. C. C.; HENZ, G. P.; REIS, A. **Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas**. Brasília: Embrapa hortaliças, 2006. 4 p. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico, 35).

AZEVEDO, C. P. **Epidemiologia e controle da antracnose em *Capsicum* spp e identificação de *Colletotrichum* spp. associados às solanáceas cultivadas**. 2006, 102f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). Universidade de Brasília, Brasília-DF.

BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds) ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. England, CAB Internacional Wallingford, 388 p, 1992.

BALBI-PEÑA, M. I. **Efeito do extrato do rizoma de *Curcuma longa* e solução de curcumina em *Alternaria solani* e controle de pinta preta em tomateiro**. 2005 61 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon-PR.

BALDO, M.; STANGARLIN, J. R.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Detecção *in situ* de espécies reativas de oxigênio em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnoporus sanguineuse* inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n.4, p.174-179, 2011.

BAYSAL O.; 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* subsp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, v. 52, p. 747-753, 2003.

BLACK, L. L.; GREEN, S.K.; HARTMAN, G. L.; POULOS, J. M. **Pepper diseases: a field guide**. Tainan: AVRDC, 98p, 1991.

CABELO, F.; JORRÍN, J. V.; TENA, M. Chitinase and β -1,3-glucanase activities in chickpea (*Cicer arietinum*). Induction of different isoenzymes in response to wounding and ethephon. **Physiologia Plantarum**, v. 92, p. 654-660. 1994.

CAMPOS, A. D.; SILVEIRA, E. M. L. **Metodologia para determinação da peroxidase e da polifenol oxidase em plantas**. Pelotas: Embrapa, 2003. Comunicado Técnico, 87.

CAMPOS, Â. D.; FERREIRA, A. G.; HAMPE, M. M. V.; ANTUNES, I. F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E. P.; OSÓRIO, V. A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 39, p. 637-643, 2004.

CAMPOS, Â. D.; HAMPE, M. M. V.; FERREIRA, A. G.; ANTUNES, I. F.; CASTRO, L. A. S. **Indução de resistência sistêmica à antracnose em feijoeiro-comum pela raça delta avirulenta de *Colletotrichum lindemuthianum***. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, p. 15-21, 2009.

CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; PEREIRA, R. B.; COSTA, J. C. B. C.; CARVALHO, C. P. S. Atividades de quitinase e beta-1,3-glucanase após eliciação das defesas do tomateiro contra a mancha bacteriana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v. 41, p. 1721-1730, 2006.

CERKAUSKAS, R. **Pepper diseases: anthracnose**. Shanhua; Asian Vegetable Research and Development Center, 2004. 2 p. (AVRDC. Fact Sheet, 574).

CHAGAS, R. M. **Alterações fotossintéticas e respostas oxidativas em plantas de cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.) tratadas com paraquat**. 2007, 82p.

Dissertação (Mestrado em Ciências). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba-SP.

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

DE WITT, D.; BOSLAND, P. W. **A brief history of pepper growing**. In: DE WITT, D.; BOSLAND, P.W. (Eds.). The pepper garden. Berkeley: Ten Speed, p. 5-21, 1993.

DEBONA, D.; FIGUEIROÓ, G. G.; CORTE, G. D.; NAVARINI, L.; DOMINGUES, L. D. S.; BALARDIN, R. S. Efeito do tratamento de sementes com fungicidas e acibenzolar-S-methyl no controle da ferrugem asiática e crescimento de plântulas em cultivares de soja. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 1, p. 187-193, 2009.

FERNANDES, M. C. A.; SANTOS, A. S.; RIBEIRO, R. L. D. Adaptação patogênica de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de frutos de jiloeiro, pimentão e berinjela. **Summa Phytopathologica**, v. 28, n. 4, p. 325-330, 2002.

FONTES, P. C. R.; DIAS, E. N.; SILVA, D. J. H. Dinâmica do crescimento, distribuição de matéria seca na planta e produção de pimentão em ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 23, n. 1, p. 94-99, 2005.

FURTADO, L. M.; RODRIGUES, A. A. C.; ARAÚJO, V. S.; SILVA, L. L. S.; CATARINO, A. M. Utilização de Ecolife® e Acibenzolar-S-metil (ASM) no controle da antracnose da banana em pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.3, p.237-239, 2010.

GALDEANO, D. M. **Indução de resistência e expressão de genes de defesa em cafeeiro a *Cercospora coffeicola***. 2010, 215 p. Dissertação (Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio). Instituto Biológico. São Paulo-SP

GAYATRIDEVI, S.; JAYALAKSHMI, S. K.; SREERAMULU, K. Salicylic acid is a modulator of catalase isozymes in chickpea plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceri*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 52, p. 154-161, 2012.

GONDIM, D. M. F. **Ação do acibenzolar-S-metil na resposta bioquímica de defesa de melão desafiado pelo *Fusarium pallidoroseum* e do meloeiro v. Orange fresh.** 2006, 85p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza-CE.

GUZZO, S. D.; HARAKAVA, R.; LUCON, C. M. M.; TSAI, S. M. Resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e indução local e sistêmica de quitinases e beta-1,3-glucanases por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, v. 30, n. 3 p. 376-381, 2004.

HALLIVEL, B. Reactive species and antioxidants. Redox Biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiology**, v. 141, p. 312-322, 2006.

HAVIR, E. A. MCHALE, N. A. Biochemical and development characterization of forms of catalase in *Tobacco leaves*. **Plant Physiology**, v. 84, p.450-455, 1987.

HERMS, S.; SEEHAUS, K.; KOEHLE, H.; CONRATH, U. A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and *Pseudomonas syringae* pv tabaci. **Plant Physiology**, v. 130, p. 120-127. 2002.

HSU, S.-Y.; KAO, C. H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, v. 39, p. 83-89, 2003.

ISHIGE, F.; MORI, H.; YAMAZAKI, K.; IMASEKI, H. Identification of a basic glycoprotein induced by ethylene in primary leaves of azuki bean as a cationic peroxidase. **Plant Physiology**, v. 101, n.1, p. 193-199, 1993.

INDEX fungorum disponível em:<
[http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.a](http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=170999) sp?RecordID=170999>,
 acessado em julho de 2015.

ITAKO, A. T.; JÚNIOR, J. B. T.; JÚNIOR, T. A. F. da. S.; SOMAN, J. M.; MARINGONI, A. C. Efeito de produtos químicos sobre a mancha bacteriana (*Xanthomonas perforans*) e na ativação de proteínas relacionadas à patogênese em tomateiro. **IDESIA**, v. 30, n. 2, p. 85-92, 2012.

IURKIV, L.; ECKSTEIN, B.; BALBI-PEN, M. I.; STANGARLIN, J. R.; SCHWANESTRADA, K. R. F. Atividade de peroxidase em tomateiro tratado com *Curcuma longa* inoculado com *Alternaria solani*. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. (supl.), p. 22, 2006.

JINDCHOV, B.; FODOR J.; SINDELROV, M.; BURKETOV, L.; VALENTOV. Role of hydrogen peroxide and antioxidant enzymes in the interaction between a hemibiotrophic fungal pathogen, *Leptosphaeria maculans*, and oilseed rape., O. **Environmental and Experimental Botany**, v. 72, n. 2, p. 149 - 156, 2011.

JUNIOR, J. H.; ZAMBOLIM, L.; AUCIQUE-PREZ, C. E.; RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. A. Photosynthetic and antioxidative alterations in coffee leaves caused by epoxiconazole and pyraclostrobin sprays and *Hemileia vastatrix* infection. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 123, p. 31-39, 2015.

KARUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J.; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 709-725, 2011.

KIMATI, H. Controle qumico. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**: princpios e conceitos. 3. Edio. So Paulo: Agronmica ceres, cap. 38, p. 761-785, 1995.

KOIKE, S. T.; GLADDERS, P.; PAULUS, A. O. **Vegetable diseases**: a color handbook. San Diego: Academic Press, 320 p, 2006.

KOSHIBA, T. Cytosolic ascorbate peroxidase in seedlings and leaves of maize (*Zea mays*). **Plant and Cell Physiology**, v. 34, n. 5, p. 713-721, 1983.

KRISTENSEN, B. K.; BLOCH, H.; RASMUSSEN, S. K. Barley coleoptile peroxidases. Purification, molecular cloning, and induction by pathogens. **Plant Physiology**, v. 120, p. 501-512, 1999.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção.** 2007. 140 p. Tese (Doutorado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. **Summa Phytopathologica**, v. 36, p. 107-114, 2010.

KVARATSKHELIA, M.; WINKEL, C.; THORNELEY, R. N. F.; Purification and characterization of a novel class of peroxidase isoenzyme from tea leaves. **Plant Physiology**, v. 114, p. 1237-1245, 1997.

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

LEE, D. H.; KIM, Y. S.; LEE C. B. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Plant Physiology**, v. 158, p. 737-745, 2001.

LEITE, M. L.; VIRGENS FILHO, J. S. Produção de matéria seca em plantas de caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) submetida a déficit hídrico. **Ciências Exatas e da Terra**, v. 10, p. 43-51, 2004.

LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. **Biochemistry and Biotechnology Reports**. v. 47, p. 273–279, 1972.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. **Doenças do Pimentão: diagnose e controle.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 96 p, 2003.

LOPES, L. N. S.; SILVA, A. S.; PERERIRA, C. C. O.; MENEZES, I. P. P.; MALAFAIA, G.; LIMA, L. P. Sensibilidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas. **Multi-Science Journal**, v.1, n.1, p.106-114, 2015.

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

MAIA, A. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FARIAS, C. M. D. R.; OLIVEIRA, J. S. B.; JARDINETTI, V. A.; BATISTA, B. N. Óleo essencial de alecrim no controle de doenças. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, n. 5, p. 330-339, 2014.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, v. 7, p. 405-410, 2002.

MOHAMMADI, M., KAZEMI, H. Changes in peroxidase and polyphenol oxidases activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. **Plant Science**, v. 162, p. 491-498, 2002.

MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H.; ZAMBOLIM, L. **Doenças causadas por fungos e bactérias em pimentão e pimenta**. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. (Eds.). Controle de doenças de plantas: hortaliças. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, v. 2, p. 637-675, 2000.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Plant and Cell Physiology**, v. 22, n. 5, p. 867-880, 1981.

NGADZE, E.; ICISHAHAYO, D.; COUTINHO, T. A; VAN D. E. R.; WAALS, J. E. . The role of polyphenol oxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid and total soluble phenols in the resistance of potatoes to soft rot. **Plant Disease**, v. 96 p. 186-192, 2011.

NOGUEIRA, J. L. **Rendimento de frutos e qualidade de sementes de pimentão cultivado, em sistema orgânico, cultivado em função do crescimento livre ou desbaste de hastes, e dos estádios de maturação**. 2015, 52p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal do Paraná. Curitiba-PR.

OLIVEIRA, J. T. A.; ANDRADE, N. C.; MIRANDA, A. S. M.; SOARES, A. A.; GONDIM, D. M. F.; ARAÚJO FILHO, J. H.; FREIRE FILHO, F. R.; VASCONCELOS, I. M. Differential expression of antioxidant enzymes and PR-proteins in compatible and incompatible interactions of cowpea (*Vigna unguiculata*) and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 51, p. 145-152, 2012.

PEREIRA, M. J. Z.; JUNIOR, N. S. M.; SUSSEL, A. A. ;; SALA, F. C.; COSTA, C. P.; BOITEUX, L.S. Reação de acessos de *Capsicum* e de progênies de cruzamentos interespecíficos a isolados de *Colletotrichum acutatum*. **Horticultura Brasileira**, v. 29 n. 4, p. 569-576, 2011.

PEREIRA, M. J. Z. **Reação de acessos de *Capsicum* spp. a *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose das solanáceas.** 2009, 74 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

PEREIRA, R. M. F. **Caracterização morfológica, fisiológica, sorológica e eletroforética de *Colletotrichum gloeosporioides* “sensu” Arx, isolados de pimentão (*Capsicum annuum* L.) e jiló (*Solanum gilo* Raddi), e seu controle químico.** 1995, 151 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP.

PLANCHAMP, C.; BALMER, D.; HUND, A.; MAUCH-MANI, B. Asoil-freeroot observation system for the study o froot-microorganism interactions in maize. **Plant Soil**, v. 367, p. 605–614, 2013.

PRASAD, T. K.; ANDERSON, M. D.; MARTIN, B. A.; STEWART, C. R. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. **The Plant Cell**, v. 6, p. 65-74,1994.

RAMOS, L. R. B.; STAMFORD T. C. M.; STAMFORD N. P. **Revista Iberoamericana de Polimeros.**, v. 12, n.4, p.195-215, 2011.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.). *Capsicum*: pimentas e pimentos no Brasil. Embrapa Comunicações para Transferência de Tecnologias/ Embrapa Hortaliças, 2000. 113p.

REIFSCHNEIDER, F. J. B.; RIBEIRO C. S. C. **Introdução e importância econômica.** Brasília: Embrapa Hortaliças, 2004. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/pimenta/index.htm>>. Acesso em: 01 mar. 2015.

RESENDE, M. L. V.; COSTA, J. C. B.; CAVALCANTI, F. R.; JUNIOR, P. M. R.; CAMILO, F. R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacauero contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n.3, p 213-221. 2007.

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L.; CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 123-130, 2003.

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

ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos.** In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Orgs) Interação planta-patógeno: Fisiologia e Biologia Molecular. Piracicaba. Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p. 411-429, 2008.

SALES JÚNIOR, R.; TORRES, G. R. C; GUIMARÃES, I. M. Panorama da resistência a fungicidas no gênero *Colletotrichum*. In : WORKSHOP REGIONAL SOBRE *Colletotrichum*, 1. 2007, Recife. *Colletotrichum* 2007. RECIFE: UFRPE, 2007.

SANCHEZ, E.; SOTO, J. M.; GARCÍA, P. C.; LÓPEZ-LEFEBRE, L. R.; RUIZ, J. M.; ROMERO, L. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 27, p. 973- 978, 2000.

SANTOS, M. P. **Indução de sistema de defesa do mamoeiro como resposta à elicitores químico (óxido nítrico) e biológico (*Saccharomyces cerevisiae*)**. 2005, 75 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal). Universidade Federal do Espírito Santo. Vitória-ES.

SANTOS, P. H. D. **Produtos alternativos no controle de doenças fúngicas em folha e fruto de mamoeiro**. 2013, p.76. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual Norte do Fluminense, Campos dos Goytacases-RJ.

SBALCHEIRO, C. C. **Uso de *Bacillus* sp. e acibenzolar-s-metil como indutores de resistência ao cretamento bacteriano em soja (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*)**. 2010, 195p. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo-RS.

SCARPONI, L.; BUONAURO R.; MARTINETTI L. Persistence and translocation of a benzothiadiazole derivative in tomato plants in relation to systemic acquired resistance against *Pseudomonas syringae* pv. tomato. **Pest Management Science**, v.57, p. 262-268, 2001.

SHEWRY, D. R., LUCAS, J. A. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. **Advances in Botanical Research Incorporating Advances in Plant Pathology**. v. 26, p. 135-192, 1997.

SHIGEOKA, S.; ISHIKAWA, T.; TAMOI, M.; MIYAGAWA, Y.; TAKEDA, T.; YABUTA, Y. YOSHIMURA, K. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, p. 1305-1319, 2002.

SILVA, S. A. M. **Identificação de fontes de resistência à antracnose em acessos de *Capsicum spp.*** 2012, 69 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes-RJ.

SILVA, E. G.; MOURA, A. B.; BACARIN, M. A.; DEUNER, C. C. Alterações metabólicas em plantas de feijão originadas de sementes microbiolizadas por *Pseudomonas* sp. e inoculadas com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. **Summa Phytopathologica**. v. 35, n.2, p. 98-104, 2009.

SILVA, F. C. **Otimização da técnica de PCR para detecção de *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseolium* sementes de feijão**. Lavras, 2008, 57p. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Lavras. Minas Gerais.

SIQUEIRA, I. T. D. **Indução de resistência em feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) utilizando acibenzolar-s-metil no controle da antracnose**. 2015, 44 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns-PE

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

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

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

SUZA, W.P.; AVILA, C.A.; CARRUTHERS, K.; KULKARNI, S; GOGGIN, F. L.; LORENCE, A. Exploring the impact of wounding and jasmonates on ascorbate metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 5, p.337-350, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848p.

TAVARES, G. M. **Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e *Trichoderma* e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos**. 2009, 121p. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Recife – PE, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE.

TERRA, C. E. P. S. **Avaliação de genótipos e indutores de resistência no controle da pinta preta do mamoeiro.** 2009, 71p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF Campos dos Goytacazes-RJ.

THALER, J. S.; STOUT, M. J.; KARBAN, R.; DUFFEY, S. S. Jasmonate-mediated induced plant resistance affects a community of herbivore. **Ecological Entomology**, v. 26, p. 312-324. 2001.

THIPYAPONG, P.; HUNT, M. D.; STEFFENS, J. C. Antisense downregulation of polyphenoloxidase results in enhanced disease susceptibility. **Planta**, v. 220, p. 105-117, 2004.

TOZZE JUNIOR, H. J. **Caracterização e identificação de espécies de *Colletotrichum* associadas à antracnose do pimentão (*Capsicum annuum*) no Brasil.** 2007. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba-SP.

VALENTE, T. C. T. **Expressão gênica e atividade de catalase e fenilalanina e amônia liase atividades por indutores de resistência em cafeeiro.** 2012 68p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal). Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

VAN BREUSEGEM, F.; VRANOVA, E.; DAT, J. F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, n. 3, p. 405-414, 2001.

VENANCIO, W.S.; RODRIGUES, M.A.T.; BEGLIOMINI, E., SOUZA, N. L. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. **Ciências Agronômicas e Engenharia**, v.9, p.59-68, 2003.

VIECELLI, C. A. **Controle da mancha angular e análises bioquímicas de resistência de feijoeiro com extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*.** 2008. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon-PR.

VIECELLI, C. A.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n.1, p. 73-80, 2010

WITTER, L.; SANTOS, L.C.; ROCHA, M.R.; BARBOSA, K.A.G. Indução de Resistência no Manejo Integrado de *Pratylenchus brachyurus* na Cultura de Cana-de-açúcar. **Anais do Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão- CONPEEX**. P. 6060 – 6074, 2013.

XAVIER, K. V. **Extratos de casca de maracujá e laranja na indução de resistência em cafeeiro contra a ferrugem**. 2011, 85p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

ZHENG-CUIMING; TENG-BING; GAO-FENGI; WUZONGPU; ZHENG-CM; TENG-B; GAO-FL; WU-ZP. Studies on the changes of superoxide dismutase, peroxidase and polyphenol oxidase in seed coat of soybeans after infection with soybean mosaic virus. **Scientia-Agricultura Sinica**, v. 32, p. 99-101, 1999.