



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM AGRONOMIA**

**ROSEMARY CORRÊA DA COSTA**

**CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO MARACUJAZEIRO E  
ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS INDUZIDAS POR PRODUTOS QUÍMICOS,  
FERTILIZANTES FOLIARES E EXTRATOS VEGETAIS**

**BELÉM  
2011**

TESE  
634.696  
C. 837



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM AGRONOMIA

ROSEMARY CORRÊA DA COSTA

**CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO MARACUJAZEIRO E  
ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS INDUZIDAS POR PRODUTOS QUÍMICOS,  
FERTILIZANTES FOLIARES E EXTRATOS VEGETAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do programa de pós-graduação em Agronomia, para obtenção do título de Mestre.

**Orientador:** Prof. Dr. Vicente Savonitti Miranda

**Co-orientadora:** Dr.<sup>a</sup> Alessandra Keiko Nakasone Ishida

BELÉM

2011

---

Costa, Rosemary Corrêa da

Controle da mancha bacteriana do maracujazeiro e alterações bioquímicas induzidas por produtos químicos, fertilizantes foliares e extratos vegetais. / Rosemary Correa da Costa. Belém, 2011.

80f.:il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2011.

1. Maracujá – mancha bacteriana - controle químico 2. *Xanthomonas axonopodis* 3. Maracujá – mancha bacteriana - Indutores de resistência 4. Maracujazeiro – doenças - controle 5. Maracujazeiro – alterações bioquímicas I. Título.

---

CDD – 634.696

---



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA  
MESTRADO EM AGRONOMIA

ROSEMARY CORRÊA DA COSTA

**CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO MARACUJAZEIRO E  
ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS INDUZIDAS POR PRODUTOS QUÍMICOS,  
FERTILIZANTES FOLIARES E EXTRATOS VEGETAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do programa de pós-graduação em Agronomia, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em agosto de 2011

BANCA EXAMINADORA

*Vicente Savonitti Miranda*

Prof. Dr. Vicente Savonitti Miranda - Orientador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

*Paulo Sérgio Bevilaqua de Albuquerque*

Dr. Paulo Sérgio Bevilaqua de Albuquerque - 1º Examinador  
COMISSÃO EXECUTIVA DE PLANEJAMENTO DA LAVOURA CACAUEIRA -  
CEPLAC

*Eudes de Arruda Carvalho*

Dr. Eudes de Arruda Carvalho - 2º Examinador  
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA

*Roberto Cezar Lobo da Costa*

Prof. Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa - 3º Examinador  
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA - UFRA

A Deus meu criador,

Sei que fiz a minha parte, mas não esqueço que é sua a vitória.

## **OFEREÇO**

“Deleita-te no Senhor e Ele concederá o que deseja teu  
coração” (Salmo 37:4)

À minha mãe Rosilda pelo apoio e compreensão

À minhas irmãs Rosiane e Gilcineia, as quais amo muito

Aos amados sobrinhos Paulo Vitor e Aila e a afilhada Maria Eduarda,  
presentes de Deus que fazem meus dias mais agradáveis.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus por sua presença constante em minha vida e pela capacidade de superação que me foi concedida no decorrer deste trabalho. Porque Dele e por Ele e para Ele são todas as coisas (Rm 11.36).

A Nossa Senhora, fiel companheira na caminhada.

À minha mãe Rosilda Corrêa por compreender, acreditar e não questionar minhas escolhas.

A meu sobrinho Paulo Vitor, minha riqueza, minha alegria.

À Universidade Federal Rural da Amazônia e ao programa de Pós-graduação em Agronomia pela oportunidade.

A CAPES pela bolsa concedida.

Ao orientador prof. Dr. Vicente Savonitti Miranda pela contribuição para minha formação acadêmica e profissional.

À Dr<sup>a</sup>. Alessandra Keiko Nakasone Ishida, co-orientadora que Deus colocou em minha vida, obrigada pelo exemplo, amizade, atenção, paciência e orientação.

Às amigas Adriane, Katiane e Helen, pelos bons momentos vividos desde os tempos de graduação, obrigada pela força.

A todos os colegas e professores do programa de pós-graduação em agronomia pelo convívio e aprendizado.

Aos funcionários do laboratório de fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental, seu Manoel, dona Ida e Kenny, pela valiosa ajuda, amizade e dedicação.

Às colegas de laboratório Aline, Carol, Cris, Iwanne, Kessia e Jaqueline pelo companheirismo.

Em especial aos meus amigos e colegas de trabalho Tony e Luana pelo agradável convívio e participação direta neste trabalho.

Aos membros da banca examinadora (qualificação e defesa), Dr. Paulo Sérgio Bevilaqua de Albuquerque, Dr. Eudes de Arruda Carvalho e Dr. Roberto Cezar Lobo da Costa, meus agradecimentos pela inestimável colaboração.

Ao Prof. Mário Lúcio de Vilela Resende pelo envio do Fitoforce cobre e Fitoforce plus.

Ao Dr. Pedro Martins Ribeiro Júnior pelo auxílio na confecção dos gráficos de enzimas.

Ao Dr. Marcelo Murad Magalhães pelos abstracts.

*A todos agradeço de coração!!!*

## SUMÁRIO

	Página
<b>RESUMO</b>	
<b>ABSTRACT</b>	
1 <b>CONTEXTUALIZAÇÃO</b>	12
2 <b>CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO MARACUJAZEIRO E ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS INDUZIDAS POR PRODUTOS QUÍMICOS, FERTILIZANTES FOLIARES E EXTRATOS VEGETAIS</b>	13
2.1 <b>INTRODUÇÃO</b>	13
2.2 <b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	14
2.2.1 <b>A cultura do maracujazeiro</b>	14
2.2.2 <b>Mancha bacteriana do maracujazeiro</b>	15
2.2.3 <b>Indução de resistência</b>	17
2.2.4 <b>Alterações bioquímicas da indução de resistência: proteínas envolvidas na defesa de plantas</b>	18
2.2.5 <b>Indutores de resistência</b>	20
<b>REFERÊNCIAS</b>	23
3 <b>EXTRATOS VEGETAIS, FERTILIZANTES FOLIARES E PRODUTOS QUÍMICOS NO CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO MARACUJAZEIRO</b>	31
<b>RESUMO</b>	31
<b>ABSTRACT</b>	32
3.1 <b>INTRODUÇÃO</b>	33
3.2 <b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	34
3.2.1 <b>Origem, isolamento e preservação do patógeno</b>	34
3.2.2 <b>Obtenção dos extratos aquosos de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam. e <i>Morinda citrifolia</i> linn.</b>	35
3.2.3 <b>Ensaio <i>in vitro</i></b>	35
3.2.3.1 <b>Efeito <i>in vitro</i> de produtos químicos sobre <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i></b>	36
3.2.3.2 <b>Efeito <i>in vitro</i> de fertilizantes foliares sobre <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i></b>	37

3.2.3.3	Efeito <i>in vitro</i> de extratos vegetais sobre <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	37
<b>3.2.4</b>	<b>Ensaio <i>in vivo</i></b>	38
3.2.4.1	Efeitos de produtos químicos no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação	39
3.2.4.2	Efeito de fertilizantes foliares no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação	39
3.2.4.3	Efeito de extratos vegetais no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação	39
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
<b>3.3.1</b>	<b>Ensaio <i>in vitro</i></b>	40
3.3.1.1	Efeito <i>in vitro</i> de produtos químicos sobre <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	40
3.3.1.2	Efeito <i>in vitro</i> de fertilizantes foliares sobre <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	41
3.3.1.3	Efeito <i>in vitro</i> de extratos vegetais sobre <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i>	42
<b>3.3.2</b>	<b>Ensaio <i>in vivo</i></b>	43
3.3.2.1	Efeito de produtos químicos no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação	43
3.3.2.2	Efeito de fertilizantes foliares no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação	45
3.3.2.3	Efeito de extratos vegetais no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação	46
3.4	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	49
4	INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA SISTÊMICA MEDIADA POR FITOFORCE COBRE, EXTRATO DE FOLHAS DE JAQUEIRA E ACIBENZOLAR-S-METIL EM MARACUJAZEIRO CONTRA MANCHA BACTERIANA	55
	RESUMO	55
	ABSTRACT	56
4.1	INTRODUÇÃO	57
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	58
4.2.1	Origem, isolamento e preservação do patógeno	58



<b>4.2.2</b>	<b>Efeitos de Fitoforce Cobre, Extrato de folhas de jaqueira e Acibenzolar-S-Metil no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação</b>	<b>58</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Atividades de enzimas envolvidas nas respostas de defesa de plantas de maracujazeiro</b>	<b>59</b>
4.2.3.1	Preparo das amostras para determinação das atividades enzimáticas	60
4.2.3.2	Determinação de proteínas totais	60
4.2.3.3	Atividade de peroxidases	61
4.2.3.4	Atividade de quitinases	61
4.2.3.5	Atividade de $\beta$ -1,3-gluconases	62
<b>4.3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>62</b>
<b>4.3.1</b>	<b>Efeitos de Fitoforce Cobre, Extrato de folhas de jaqueira e Acibenzolar-S-Metil em maracujazeiro contra <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>passiflorae</i> em casa-de-vegetação</b>	<b>62</b>
<b>4.3.2</b>	<b>Atividades de enzimas envolvidas nas respostas de defesa de plantas de maracujazeiro</b>	<b>65</b>
4.3.2.1	Atividade de peroxidases	65
4.3.2.2	Atividade de quitinases	69
4.3.2.3	Atividade de $\beta$ -1,3-gluconases	73
<b>4.4</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>78</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>79</b>

**RESUMO:** A mancha bacteriana do maracujazeiro se encontra disseminada nos principais municípios produtores do Estado do Pará, sendo uma bacteriose de difícil controle. A resistência induzida surge como uma alternativa promissora e pode ser associada a outras medidas visando ao controle de fitodoeças. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi selecionar e avaliar o efeito de produtos químicos, fertilizantes foliares e extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e sobre a severidade da bacteriose em casa-de-vegetação, bem como avaliar a atividade de mecanismos enzimáticos envolvidos na indução de resistência em maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. Foram avaliados os produtos químicos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxiclureto de cobre, acibenzolar-S-metil, os fertilizantes Fitoforce cobre e Fitoforce plus e os extratos de folhas de jaqueira e noni. Nos ensaios *in vitro*, foi verificado que os produtos químicos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxiclureto de cobre e os fertilizantes Fitoforce cobre e Fitoforce plus inibiram totalmente o crescimento do patógeno em todas as concentrações testadas. Os extratos de folhas de jaqueira e de noni inibiram o crescimento da bactéria com 45 e 63% de controle, enquanto que o acibenzolar-S-metil não apresentou ação sobre *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. Em casa-de-vegetação foi observado que todos os tratamentos reduziram a severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro, com controle acima de 54%, diferindo significativamente da testemunha, com exceção do Fitoforce plus que apresentou porcentagem de eficiência de controle abaixo de 50%, não diferindo significativamente da testemunha. As aplicações de acibenzolar-S-metil, Fitoforce cobre e extrato de folhas de jaqueira aumentaram a atividade das enzimas peroxidase, quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase em maracujazeiro amarelo.

**Palavras-chave:** Controle, Severidade, *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, Indutores de resistência, Proteínas relacionadas à patogênese.

**ABSTRACT:** The passion fruit bacterial spot is widespread in the main producing areas in Pará State, but its control is not well established yet. The use of induced resistance is a promising alternative and can be used with other strategies to control plant diseases. The present work aimed to evaluate the effect of chemicals, leaf fertilizers and plant extracts to protect passion fruit against bacterial spot. The enzymatic mechanisms involved in the induction of resistance in passion fruit against *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* were also evaluated. The chemicals oxytetracycline, fluazinam, mancozeb, copper oxychloride, acibenzolar-S-methyl, the fertilizers Fitoforce copper and Fitoforce plus and leaf extracts of jackfruit and Indian mulberry were analyzed. *In vitro* tests results showed that the chemicals oxytetracycline, fluazinam, mancozeb, copper oxychloride and the fertilizers Fitoforce copper and Fitoforce plus completely inhibited the growth of the pathogen at all concentrations tested. The extracts of jackfruit and Indian mulberry inhibited the growth of bacteria between 45 and 63% of control, while the acibenzolar-S-methyl did not show any *in vitro* antimicrobial activity against *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. All treatments reduced the severity of bacterial spot of passion fruit, with control over 54% differed significantly from the control, except for the Fitoforce plus that showed the control efficiency below 50%. The applications of acibenzolar-S-methyl, Fitoforce copper and jackfruit leaf extract increased the activity of peroxidase, chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase in yellow passion fruit.

**Keywords:** Control, Severity, *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, Induced resistance, Pathogenesis related proteins.

## 1 CONTEXTUALIZAÇÃO

Nas últimas décadas, o mercado de frutas paraense passou a ser determinado pela agroindústria de polpa de frutas, instalada para atender a uma demanda local, nacional e internacional. A análise do mercado estadual de frutas frescas, com base no comportamento da dinâmica do mercado, indica o nível de contribuição da fruticultura como atividade econômica.

O cultivo do maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg) é uma atividade agrícola que tem sido uma alternativa para a pequena propriedade por utilizar, predominantemente, mão-de-obra familiar, ter expressivo valor social e ser de rápido retorno, com longo período de safra, permitindo um fluxo equilibrado de renda. A produção de frutas evoluiu no Estado do Pará em função do apoio por concessão de crédito e uso racional de áreas disponíveis para cultivo. Contudo, problemas relacionados ao ataque de doenças como antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.), vírus-do-endurecimento-dos-frutos (*Passionfruit woodiness Virus* - PWV), verrugose (*Cladosporium* spp.), murcha ou fusariose (*Fusarium oxysporum* f.sp. *passiflorae*), podridão-do-pé ou podridão-de-raízes (*Fusarium solani* ou *Phytophthora* sp.), nematóide reniforme (*Rotylenchulus reniformes*), doenças das galhas nas raízes (*Meloidogyne* spp.) e a mancha bacteriana causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Pereira) Dye (JUNQUEIRA et al., 2005) tem limitado a expansão dos cultivos.

A bacteriose causada por *X. axonopodis* pv. *passiflorae* é um dos principais fatores limitantes ou de risco para a cultura do maracujazeiro. Quando favorecida por condições edafoclimáticas favoráveis, a bacteriose não é controlada de forma eficaz pelos métodos tradicionais de controle. Neste sentido, a adoção de métodos alternativos de controle de doenças pode diminuir os danos provocados, além de reduzir parte dos custos com defensivos e minimizar os danos ao meio ambiente com o uso de produtos menos tóxicos ou ambientalmente mais aceitáveis.

Este trabalho teve como objetivos avaliar o efeito de produtos químicos, fertilizantes foliares e extratos vegetais no crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* e na severidade da bacteriose em casa-de-vegetação, bem com avaliar a atividade de mecanismos enzimáticos envolvidos na indução de resistência em maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

## 2 CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO MARACUJAZEIRO E ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS INDUZIDAS POR PRODUTOS QUÍMICOS, FERTILIZANTES FOLIARES E EXTRATOS VEGETAIS

### 2.1 INTRODUÇÃO

A cultura do maracujazeiro apresenta grande importância econômica e social, o que se reflete nos dados que a colocam entre as fruteiras tropicais mais plantadas no Brasil. Socialmente, o cultivo do maracujazeiro caracteriza-se por ser predominantemente desenvolvido por pequenos produtores, sendo a maioria, parte integrante da agricultura familiar (NOGUEIRA et al., 2003).

No Estado do Pará, o maracujazeiro amarelo representa a quase totalidade dos pomares comerciais. Esta espécie de maracujá, muito apreciada, principalmente pelo seu sabor e aroma característicos, é afetada por várias doenças que podem reduzir a produtividade, comprometer a qualidade dos frutos e provocar a morte das plantas. Entre estas doenças, a bacteriose causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Pereira) Dye. é de grande importância no Estado, principalmente devido às condições ótimas de temperatura e umidade para o desenvolvimento e multiplicação da mesma. De maneira geral, as doenças causadas por bactérias são responsáveis por grandes perdas devido à dificuldade de controle. Depois de instaladas, recorrer ao controle químico normalmente leva a frustrações, já que as bactérias apresentam uma alta taxa de multiplicação, podendo dobrar a população várias vezes ao dia. Deste modo, seu controle fica quase restrito às medidas preventivas (LOPES, 2001).

Uma ferramenta a ser utilizada no manejo da mancha bacteriana do maracujazeiro é a utilização de indutores de resistência de plantas. Os trabalhos com resistência induzida têm mostrado resultados promissores no controle de bacterioses na agricultura convencional. Vários produtos químicos têm sido descobertos e parecem atuar em vários pontos nas vias de ativação de defesa de plantas e imitam parte ou toda ativação biológica de resistência. O acibenzolar-S-metil (ASM) é o ativador de resistência melhor estudado e o primeiro produto comercial sob os nomes de BION®, ACTIGARD™ e BOOST® (VENÂNCIO et al., 2000). No Brasil, é recomendado para as culturas do tomate, citros, cacau, feijão, algodão, melão e batata (AGROFIT, 2011).

Avanços nas pesquisas envolvendo a resistência induzida em plantas vêm sendo acompanhados pelo surgimento de novos produtos com maior eficácia, estabilidade e menor impacto ao ambiente, sendo capazes de melhorar a produtividade agrícola, devido à redução de perdas ocasionadas por patógenos e, em alguns casos, até mesmo devido a incrementos no desenvolvimento vegetativo.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivos avaliar o efeito de produtos químicos, fertilizantes foliares e extratos vegetais no crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* e na severidade da bacteriose em casa-de-vegetação, bem com avaliar a atividade de mecanismos enzimáticos envolvidos na indução de resistência em maracujazeiro amarelo a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

## 2.2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.2.1 A cultura do maracujazeiro

O maracujazeiro pertence à família *Passifloraceae*, gênero *Passiflora*, que compreende trepadeiras herbáceas ou lenhosas, de hastes cilíndricas ou quadrangulares, angulosas, suberificadas, glabras ou pilosas (KILLIP, 1938). O Brasil abriga o centro de diversidade genética do gênero *Passiflora*, existindo cerca de 140 espécies descritas no país (CERVI, 2006). Segundo Oliveira e Kubo (2006), são três as espécies de maracujazeiro que possuem maior expressão comercial, tanto para uso *in natura* como para a produção de suco concentrado: *P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg (maracujazeiro amarelo ou azedo), *P. edulis* f. *edulis* (maracujazeiro roxo) e *P. alata* Curtis (maracujazeiro doce).

O Brasil é o principal produtor mundial de maracujá amarelo, com produção em torno de 615 mil toneladas por ano (AGRIANUAL, 2010). É um fruto bastante apreciado por suas características de sabor e aroma, e além de apresentar um suco com elevado valor nutritivo, dispõe de excelentes características físico-químicas e sensoriais. A utilização do maracujazeiro como planta medicinal faz parte da cultura de povos da América, Europa e Ásia que recomendam folhas, flores, raízes e frutos para combater as mais diferentes enfermidades. Contudo, o sucesso medicinal do maracujá vem da ação benéfica sobre o sistema nervoso, sendo por isso indicado, principalmente, no combate à ansiedade, depressão

e insônia (MATOS, 2002). Plantas do gênero *Passiflora* também apresentam interesse para a indústria cosmética (FERRARI ET al., 2004) e farmacológica (CÓRDOVA, 2005).

Contudo, problemas fitossanitários mostram-se economicamente importantes, acarretando perdas à cultura (JUNQUEIRA, et al., 1999) e dentre eles destaca-se a mancha bacteriana.

### 2.2.2 Mancha bacteriana do maracujazeiro

A mancha bacteriana é uma importante doença causadora de danos econômicos à cultura do maracujazeiro no Brasil. Ocorre em condições naturais em maracujazeiro amarelo, doce e roxo, reduzindo a frutificação e o período de exploração comercial das plantas afetadas (TODA..., 2002). Foi relatada pela primeira vez no Brasil por Pereira (1968), infectando plantas em cultivos comerciais na região de Araraquara, Estado de São Paulo.

*X. axonopodis* pv. *passiflorae* é uma bactéria baciliforme, aeróbia restrita, gram-negativa e monotríquia, ou seja, possui um único flagelo polar, cuja finalidade é a de locomoção em meios aquosos, facilitando a sua locomoção por toda a planta, tanto de forma epífita quanto sistêmica, não apresenta formação de esporos ou cápsulas e mede 0,5 a 1,5 nm. Em meio de cultura, as colônias são lisas, circulares, convexas, salientes, translúcidas, com bordos irregulares e viscosas, de coloração amarelo-brilhante. Esta coloração é conferida pela produção de xanthomonadina, um pigmento amarelo e insolúvel, importante na proteção contra raios ultravioleta (BRADBURY, 1993; GONÇALVES; ROSATO, 2000; VIANA et al., 2003).

A penetração do gênero *Xanthomonas* no tecido do hospedeiro ocorre por meio de aberturas naturais como estômatos, hidatódios, nectários, entre outros, ou por ferimentos, colonizando os espaços intercelulares do tecido foliar, sendo para isso indispensável a presença de uma lâmina de água disponível na superfície da folha (SWINGS; CIVEROLO, 1993).

De acordo com Wendland et al. (1996), a bacteriose ocorre de forma severa sob condições de clima quente e úmido, podendo ser facilmente reconhecida, pois apresenta sintomas típicos, distintos de outras doenças da cultura. Em estádios iniciais de infecção nas folhas internas, são observadas pequenas lesões encharcadas, com aspecto oleoso e

translúcido, localizadas próximas às nervuras. Quando observadas contra a luz apresentam halos cloróticos visíveis.

A partir dos bordos foliares, as lesões progridem rapidamente em direção ao centro da folha, causando queima severa, na maioria das vezes com halo amarelado em torno do tecido necrosado. Com o progresso da doença ocorre seca das folhas a partir das extremidades e, posteriormente, desfolha, reduzindo consideravelmente a produtividade por impedir a formação de novos frutos (DIAS; TAKATSU, 1987; VIANA et al., 2003).

Em frutos, os sintomas aparecem sob a forma de grandes manchas, com coloração inicialmente esverdeada e oleosa e depois pardacenta, as manchas são circulares e bem delimitadas, dependendo do estágio de desenvolvimento, em condições favoráveis formam grandes áreas necrosadas circulares ou irregulares, com margens bem definidas, prejudicando o valor comercial dos frutos (JUNQUEIRA et al., 2003).

Dentro da lavoura, a disseminação planta-a-planta é favorecida por respingos de água, principalmente quando associado a ventos fortes, mudas contaminadas, insetos, caixas de colheita, ferramentas e utensílios, máquinas e sementes originárias de pomares contaminados (BERGAMIN FILHO et al., 1995). Por outro lado, a bactéria é disseminada a grandes distâncias por mudas e sementes contaminadas (DIAS; TAKATSU, 1990).

O controle da bactéria tem sido feito preventivamente, de modo a evitar a chegada do patógeno nos locais de cultivo. Para isso, diversas medidas têm sido recomendadas, como produção de mudas sadias, erradicação de plantas doentes, uso de quebra-ventos e aplicação de produtos com ação bactericida, assim como evitar ferimentos durante a realização dos tratos culturais (HALFELD-VIEIRA; NECHET, 2006). Uma vez instalada no pomar, a bacteriose torna-se de difícil controle, visto que as bactérias apresentam altas taxas de multiplicação, ainda mais rápidas quanto melhores forem as condições de temperatura e água disponível (ROMEIRO, 1995; LOPES, 2001).

Para o controle da mancha bacteriana, normalmente é recomendada a aplicação de antibióticos formulados com fungicidas cúpricos, pulverizados nos pomares ou como tratamento de sementes. Viana et al. (2003) observaram que a associação de fungicida cúprico com bactericida (sulfato de cobre 30% + oxitetraciclina 50%) resultou em bons níveis de controle da mancha bacteriana em maracujazeiro. No entanto, a prática pode apresentar inconvenientes, como a resistência ao cobre, conforme constatado por Franco e Takatsu (2004), em trabalho conduzido com 38 isolados de bactérias de maracujazeiros com sintomas da mancha bacteriana, selecionados no estado de Minas Gerais.



O uso de indutores de resistência é um método alternativo de controle da bacteriose do maracujazeiro, visto que o uso de defensivos químicos pode causar prejuízos ao ambiente e à saúde humana, além de induzir o aparecimento de isolados resistentes (BRASIL, 2006).

### 2.2.3 Indução de resistência

Os primeiros estudos sobre indução de resistência tiveram início em 1933 com os trabalhos de Chester (VALLAD; GOODMAN, 2004). A indução de resistência é definida como um aumento da capacidade defensiva da planta contra um amplo espectro de patógenos e pragas, adquirida após um estímulo apropriado (KNOESTER et al., 1999; RAMAMOORTHY et al., 2001) e baseia-se no reconhecimento de um invasor e subseqüentes eventos de transdução de sinal que levam à ativação das defesas (MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1998).

O estado induzido é caracterizado pela presença de proteínas relacionadas à patogênese, enzimas envolvidas na rota da síntese de fitoalexinas e o acúmulo de lignina em tecidos adjacentes ao sítio de infecção do patógeno, que fazem parte da expressão de genes que codificam diversas respostas de defesa a patógenos nas plantas (DURRANT; DONG, 2004).

A lignina é formada pela oxidação desidrogenativa de precursores produzidos na via dos fenilpropanoides (WHETTEN et al., 1998). A incorporação da lignina na parede celular promove fortalecimento mecânico, fazendo-a mais resistente à degradação por enzimas secretadas por um patógeno invasor, por isso o fenômeno da lignificação também é uma resposta ativa das plantas a invasão por patógenos constituindo-se em importante mecanismo de defesa (STICHER et al., 1997). Além disso, pode evitar o livre movimento de nutrientes, constituindo assim uma espécie de barreira (MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1998).

Alterações no aparato estrutural e bioquímico da célula vegetal podem contribuir com a resistência da planta, ou por parar o ingresso do agente desafiador diretamente ou por retardar o processo de penetração, aumentando o nível de compostos de defesa pré-existentes nas plantas, ocorrendo assim a ativação de mecanismos de defesa adicionais (pós-formados) como a expressão de genes que codificam as proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

## 2.2.4 Alterações bioquímicas da indução de resistência: proteínas envolvidas na defesa de plantas

As proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) constituem-se em proteínas de plantas que são acumuladas nos tecidos vegetais após o contato com um agente agressor, que pode ser um organismo patogênico ou insetos herbívoros, assim como também, em resposta ao tratamento com determinados compostos químicos (VAN LOON et al., 1994).

Van Loon e Van Kammen (1970) foram os primeiros a usar o termo PRPs para descrever um grande número de proteínas extracelulares acumuladas em plantas de *Nicotiana tabacum* L. infectadas com o vírus do mosaico do fumo (TMV). Muitas PRPs apresentam atividade antimicrobiana comprovada ou podem ativar outras respostas de defesa vegetal, com subsequente redução da severidade da doença (ROULIN; BUCHALA, 1995, SANTOS et al., 2007; TOILLIER et al., 2010).

Dentre as PRPs comumente ativadas em processos de indução de resistência em plantas encontram-se as peroxidases, quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases. Kuhn e Pascholati (2010) verificaram que a indução de resistência a partir do indutor biótico, *Bacillus cereus*, alterou o metabolismo de plantas de feijoeiro de maneira sutil pelo aumento da peroxidase, sem interferir no acúmulo de massa seca, enquanto que acibenzolar-S-metil (ASM) demonstrou aumento na atividade de peroxidase, quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase e teor de lignina.

A atividade da peroxidase na defesa celular das plantas está diretamente relacionada com a lignificação dos tecidos, polimerizando a lignina a partir da oxidação de hidroxilas de grupos fenólicos (PASCHOLATI; LEITE, 1995). A lignificação e seus precursores tóxicos têm papel importante na relação de resistência em plantas, por isso, mudanças na atividade das peroxidases comumente são associadas à resposta de resistência ou suscetibilidade em diferentes patossistemas (BONATTI et al., 1994; PASCHOLATI; LEITE, 1995). As macromoléculas polimerizadas pelas peroxidases e depositadas na superfície extracelular fortalecem a parede celular, dificultando a invasão por patógenos e a expansão da célula (HIRAGA et al., 2001).

Baysal et al. (2003) e Silva et al. (2007b) detectaram um aumento dessas PRPs em plantas de tomate induzidas à resistência. Silva (2007a) constatou um aumento na atividade da enzima peroxidase em plantas de berinjela, cujas folhas foram tratadas com extratos dos cogumelos *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei*, contra murcha bacteriana e cancro, causados respectivamente por *Ralstonia solanacearum* e *Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis. O

potencial de extratos na defesa vegetal em feijoeiro, com posterior ativação das enzimas peroxidase, foi estudado por Toillier et al. (2010) no controle do crestamento bacteriano comum. Cavalcanti et al. (2006b), a partir da pulverização de ASM e Ecolife® em plantas de tomateiro, observaram aumento na atividade de enzimas relacionadas à defesa, dentre elas a peroxidase.

As quitinases são enzimas que degradam o segundo polissacarídeo biológico mais abundante na natureza depois da celulose, a quitina. Tais enzimas apresentam ação antibacteriana devido sua ação lisozímica sobre a parede celular (STINTZI et al., 1993), acumulando-se no apoplasto das células vegetais (LEBEDA et al., 2001). Essas enzimas catalisam a hidrólise das ligações  $\beta$ -1,4 dos polímeros quitina.

Cavalcanti et al. (2006b) verificaram que plantas de tomateiro pulverizadas com ASM, Ecolife, suspensão de quitosana proveniente de micélio de *Crinipellis pernicioso* e extrato aquoso de ramos de lobeira infectados por *C. pernicioso*, sem inoculação de *X. vesicatoria*, mostraram aumento significativo na atividade de quitinases logo à primeira hora após a pulverização. Em plantas tratadas e inoculadas com *X. vesicatoria*, a atividade de quitinases não mostrou diferença significativa, entre 3 e 12 dias após inoculação, segundo os autores, esses resultados sugerem que as atividades incrementadas de quitinases, promovidas pelos eliciadores testados, aconteceram principalmente às primeiras horas após as pulverizações.

As  $\beta$ -1,3-glucanases localizam-se no apoplasto celular, o que permite a defesa da planta contra o ataque de patógenos a partir da geração de sinais moleculares capazes de ativar mecanismos de defesa de modo a impedir o progresso da doença (LEBEDA et al., 2001). Na indução de resistência, o incremento desta enzima relaciona-se com a defesa de plantas, bem como com a redução da severidade de doenças, conforme verificado por Cavalcanti et al. (2006a) em plantas de tomateiro e Kuhn (2007) em feijoeiro.

Segundo Bucher et al. (2001), as  $\beta$ -1,3-glucanases são induzidas durante a resposta de hipersensibilidade da planta a patógenos, exibindo ação direta sobre estes. Tais enzimas catalisam a reação de degradação do polímero de glicose formado por ligações do tipo  $\beta$ -1,3 presentes na estrutura da parede celular de microrganismos, sendo principalmente relatadas como inibidoras do crescimento fúngico (VAN LOON; VAN STRIEN, 1999). Os oligossacarídeos resultantes da lise da parede celular do patógeno e/ou do hospedeiro podem ativar outros mecanismos locais ou sistêmicos de resistência, como a produção de fitoalexinas (CUTT; KLESSIG, 1992).

Todas estas proteínas constituem-se de um conjunto bem diversificado de moléculas, que atuam na defesa de plantas, pela ativação de vias metabólicas em resposta ao ataque de

patógenos, que podem ocorrer por meio de indutores de origem biótica ou abiótica, resultando em incremento na expressão destas proteínas (AGRIOS, 2005).

### 2.2.5 Indutores de resistência

Ativadores de resistência, indutores, eliciadores ou elicitores são substâncias que podem induzir resistência em plantas, sem, contudo, apresentar efeito antimicrobiano direto sobre os agentes fitopatogênicos (ROMEIRO, 1999).

Quando as plantas são previamente expostas a um agente indutor, seus tecidos reagem mais rapidamente e com maior eficiência às tentativas de colonização por um patógeno virulento. Neste caso a doença pode ocorrer, mas com um número menor de lesões de menor tamanho e, em caso de fungos, com redução na esporulação. Não se tratando, portanto de um caso de imunidade (STICHER et al., 1997).

Entre os eliciadores sintéticos que atuam na expressão de genes que codificam a síntese de fatores de resistência, destaca-se o acibenzolar-S-metil (ASM), considerado ativador de plantas por possuir a propriedade de induzir respostas de resistência contra um amplo espectro de patógenos, ativando a expressão de genes ligados à defesa de plantas em vários patossistemas (LATUNDE-DADA; LUCAS, 2001). Este produto é liberado para uso comercial no Brasil para as culturas do tomate, citros, cacau, feijão, algodão, melão e batata (AGROFIT, 2011). O ASM é um análogo do ácido salicílico, que induz a ativação de genes que codificam proteínas relacionadas à patogênese e enzimas relacionadas à produção de fitoalexinas e lignina (OOSTENDORP et al., 2001).

A ativação da resistência de plantas de tomateiro por ASM foi observada contra *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary (TALLY et al., 1999), *C. michiganensis* (BAYSAL et al., 2003), *X. campestris* pv. *vesicatoria* (CAVALCANTI et al., 2006a) e *R. solanacearum* (BARRETTI et al., 2010). Em maracujazeiro amarelo, o ASM promoveu proteção local e sistêmica contra *X. axonopodis* pv. *passiforae* (BORO, 2011), enquanto que, em plantas de feijoeiro foi observado aumento na atividade de peroxidase, quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase no controle de *X. axonopodis* pv. *phaseoli* (KUHN; PASCHOLATI, 2010).

Entre as substâncias elicitoras de caráter promissor, estão incluídos os extratos vegetais, formulações a base de extratos vegetais e os fertilizantes, que possuem substâncias

bioativas capazes de atuar como indutores de resistência (AMARAL, 2005; NOJOSA et al., 2005; RESENDE; CANUTO, 2008; STANGARLIN et al., 2008; BARATA et al. 2009).

Os extratos vegetais têm demonstrado capacidade de controlar doenças em plantas por sua atividade antimicrobiana direta ou indireta (STANGARLIN et al., 1999; BARATA et al., 2009), podendo estar relacionada ao aumento da atividade das enzimas envolvidas nas respostas de defesas das plantas (CAVALCANTI et al., 2006a; KUHN et al., 2006; RIBEIRO, 2009).

Sendo assim, entre as inúmeras espécies vegetais a serem investigadas, destacam-se nesta pesquisa os extratos aquosos de folhas de *Artocarpus heterophyllus* Lam. e *Morinda citrifolia* linn. As folhas de jaqueira são ricas em compostos fenólicos e têm propriedades antioxidantes. Segundo Khan et al. (2003), a casca das raízes e os frutos da jaqueira possuem atividade antibacteriana, entretanto, a literatura disponível refere-se principalmente ao seu uso medicinal, não sendo encontrados trabalhos que relatem seu uso no controle de doenças de plantas. O mesmo acontece com *M. citrifolia*, que de um modo geral tem seus frutos utilizados para fins medicinais. Atkinson (1956) relatou a inibição do crescimento *in vitro* de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, como uso de extrato de noni, segundo o autor, esse efeito antibacteriano deve-se à presença de compostos fenólicos como acubin, L-asperuloside, alizarin, scopoletin e outras antraquinonas, no entanto, até o momento não foram encontrados na literatura trabalhos que demonstrem potencial antimicrobiano sobre fitobactérias.

A utilização de produtos comerciais, como os fertilizantes foliares, é uma das formas de controle de fito doenças que tem ganhado importância no contexto da proteção de plantas, devido aos bons resultados que vem sendo obtidos (AMARAL, 2005). Estudos realizados com diferentes culturas demonstraram o efeito de vários nutrientes no aumento da resistência a doenças com a redução da severidade em alguns patossistemas (NOJOSA et al., 2005).

Exemplos de fertilizantes foliares com grande potencial na indução de resistência de plantas à patógenos são Fitoforce cobre e Fitoforce plus, cuja formulação tem como principal matéria-prima reciclável, os subprodutos da cadeia produtiva do café (folhas que caem ao solo devido a doenças, colheita, podas e outros estresses e o subproduto do beneficiamento dos grãos). Os compostos produzidos a partir dos extratos denominados EFID ou NEFID (extrato proveniente de folhas de café microprocessadas, severamente infectadas com ferrugem, coletadas da superfície do solo de lavoura cafeeira) e CFC ou ECFC (extrato de cascas de frutos de café microprocessadas, constituídas de exocarpo, mesocarpo e endocarpo, recolhidas de resíduos de indústria de beneficiamento do café) são utilizados para o controle de doenças

nas culturas do cafeeiro, algodoeiro e tomateiro (RESENDE et al., 2004; AMARAL, 2005; RESENDE; CANUTO 2008). Santos et al. (2007) e Toyota (2008) verificaram redução na intensidade da ferrugem em cafeeiros pulverizados com CFC e EFID, comparado à testemunha pulverizada com água, o que de acordo com Guzzo et al. (1987) está relacionado à presença de elicitores no tecido do cafeeiro infectado por *Hemileia vastatrix*.

## REFERÊNCIAS

AGRIANUAL. **Anuário estatístico da agricultura brasileira**. FNP: Consultoria & Comércio, São Paulo, 2010. 549p.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005. 922p.

AGROFIT: **sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons) Acesso em: 24 fev. 2011.

AMARAL, D. R. **Indução de resistência em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* por eliciadores abióticos e extratos vegetais**. 2005. 96f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

ATKINSON, N. Antibacterial substances from flowering plants. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, Adelaide, v.34, n.2, p.17-26, 1956.

BARATA, D. S.; VIEIRA, E. S.; ISHIDA, A. K.; SOUZA FILHO, A. P. S. Atividade antibacteriana de extratos etanólicos e hexânicos de diferentes frações de *Capsicum chinense* sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 49, 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2009.

BARRETTI, P. B.; SOUZA, R. M.; POZZA, E. A.; RESENDE, M. L. V. Aplicação e doses de acibenzolar-S-metil na proteção contra a murcha bacteriana, população do patógeno e crescimento do tomateiro. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v.35, n.4, p.229-235, 2010.

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

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3. Ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1995. v.1, 920p.

BONATTI, P. M.; LORENZINI, G.; FORNASIERO, R. B.; NALI, C.; SGARBI, E. Cytochemical detection of cell wall bound peroxidase in rust infected broad bean leaves. **Journal of Phytopathology**. Berlin, n.4, v.140, p.319-325, 1994.

BORO, M. C.; BERIAM, L. O. S.; GUZZO, S. D. Induced resistance against *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* in passion fruit plants. **Tropical plant pathology**, Brasília, v.36, n.2, p.74-80, 2011.

BRADBURY, J. F. **Guide to plant Pathogenic Bacteria**. Slough: C.A.B. International, 1993. 332p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Seminário Nacional de Agricultura Orgânica**. Brasília, DF: Secretaria de Políticas para o Desenvolvimento sustentável - Departamento de Economia e Meio Ambiente, 2006. 58p.

BUCHER, G. L.; TARINA, C.; HEINLEIN, M.; DI SERIO, F.; MEINS JR, F.; IGLESIAS, V. A. Local expression of enzymatically active class I  $\beta$ -1, 3- glucanase enhances symptoms of TMV infection in tobacco. **The Plant Journal**, New York, v.28, n.3, p.361-369, 2001.

CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; PEREIRA R. B.; COSTA, J. C. B.; CARVALHO, C. P. S. Atividades de quitinase e beta-1,3-glucanase após elicitação das defesas do tomateiro contra a mancha-bacteriana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1721-1730, 2006a.

CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; ZACARONI, A. B.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; COSTA, J. de C. B.; SOUZA, R. M. de. Acibenzolar-S-Metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.31, n.4, p.372-380, 2006b.

CERVI, A. C. **O gênero *Passiflora* L. (*Passifloraceae*) no Brasil, espécies descritas após o ano de 1950**. Adumbrations Summa Edition, v.16, p.1-5, 2006.

CÓRDOVA, K. V.; GAMA, T. T. B.; WINTER, C. M. G.; NETO G. K.; FREITAS, R. J. S. Características físico-químicas da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis* flavicarpa degener) obtida por secagem. **B. CEPPA**, Curitiba, v.23, n.2, p.221-230, 2005.

CUTT, J, R.; KLESSIG, D. F. Pathogenesis-related proteins. In: BOLLER, T.; MEINS, F. JR. **Plant Gene Research**. New York: Springer-Verlag, 1992. p.181-216.

DIAS, S. C.; TAKATSU, A. Ocorrência de bacteriose do maracujazeiro (*Passiflora* sp.) causada por *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* no Distrito Federal. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.2, p.140, 1987.



DIAS, S. C.; TAKATSU, A. Translocação de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* nos tecidos da hospedeira e sua detecção na semente. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.15, n.2, supl., p.131, 1990. (Resumo).

DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, n.1, p.185-209, 2004.

FERRARI, A. R.; COLUSSI, F.; AYUB, A. R. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá - aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.101-102, 2004.

FRANCO, M. M.; TAKATSU, A. Sensibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* a cobre. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.20, n.2, p.207-210, 2004.

GONÇALVES, E. R.; ROSATO, Y. B. Genotypic characterization of *Xanthomonas* strains isolated from passion fruit plants (*Passiflora* spp.) and their relatedness to different *Xanthomonas* species. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v.50, p.811-821, 2000.

GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W. B. C. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*. I. Partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.4, p.377-385, 1987.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L. Ocorrência da mancha bacteriana do maracujazeiro em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, n.2, p.214, 2006.

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

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N.; SHARMA, R. D.; SANZONWICZ, C.; ANDRADE, R. L. M. Doenças do maracujazeiro. In: **Encontro de fitopatologia**. Doenças de fruteiras tropicais, Viçosa: UFLA, 1999. v.3, p.83-115.

JUNQUEIRA, N. T. V.; ANJOS, J. R. N. dos.; SILVA, A. P. O.; CHAVES, R. C.; GOMES, A. C. Reação às doenças e produtividade de onze cultivares de maracujá-azedo cultivadas sem agrotóxicos. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.38, n.8, p.1005-1010, 2003.

JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F.; SHARMA, R. D.; PEIXOTO, J. R.; JUNQUEIRA, L. P. Manejo das principais doenças o maracujazeiro. In: POLTRONIEIRI, L. S. et al. (Ed.).

**Pragas e doenças de cultivos amazônicos.** Belém: Embrapa Informação tecnológica, 2005. p.127-156.

KHAN, M. R.; OMOLOSO, A. D.; KIHARA, M. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. **Fitoterapia**, Papua New Guinea, v.74, n.5, p.501-505, 2003.

KILLIP, E. P. The American species of *Passifloraceae*. Fieldiana. **Botanical Series**, Field Museum of Natural History, Chicago, v.19, n.407, p.613, 1938.

KNOESTER, M.; PIETERSE, C. M. J.; BOL, J. F.; VAN LOON, L. C. Systemic resistance in *Arabidopsis* induced by rhizobacteria requires ethylene-dependent signaling at the site of application. **Mol. Plant-Microbe Interact**, Utrecht, v.12, n.8, p.720-727, 1999.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de produção.** 2007. 140f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, SP, 2007.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F.; CARDOSO FILHO, J. A.; PORTZ, R. L.; OSSWALD, W. Indução de resistência sistêmica em plantas: aspectos gerais, efeitos na produção e sobre microrganismos não-alvo. In: LUZ, W. C. (Ed.) **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. 1 ed. Passo Fundo, RS: RAPP, v.14, p.249-300, 2006.

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, n.2, p.107-114, 2010.

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

LEBEDA, A.; LUHOVÁ, L.; SEDLÁROVÁ, M.; JANCOVÁ, D. The role of enzymes in plant-fungal pathogens interactions. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Holic- Olomouc, v.108, p.89-111, 2001.

LOPES, C. A. Manejo integrado de bactérias fitopatogênicas. In: SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; NOJOSA, G. B. A. **Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças.** Lavras: UFLA, 2001. Cap.4, p.105-123.

MATOS, F. J. A. **Farmácia Viva**. 4. ed. Fortaleza: Editora UFC, p.267, 2002. PLANILHAS MARAUJÁ, 2008. Disponível em: <[http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Maracuja\\_Brasil\\_2008.pdf](http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Maracuja_Brasil_2008.pdf)> Acesso em: 20 ago. 2010.

MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J. P. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. **Annals of Botany**, London, v.82, n.5, p.535-540, 1998.

NOGUEIRA, E. A.; MELLO, N. T. C.; RIGHETTO, P. R.; SANNAZZARO, A. M. **Produção integrada de frutas: a inserção do maracujá paulista**. São Paulo: Instituto de Economia Agrícola do Estado de São Paulo, 2003. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br>>. Acesso em: 22 fev. 2009.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DIPIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v.1, cap.6, p.139-153.

OLIVEIRA, C. M. G.; KUBO, R. K. Nematóides Parasitos do Maracujá. In: NOGUEIRA, E. M. DE C.; FERRARI, J. T. **Aspectos fitossanitários do maracujazeiro**. São Paulo: Instituto Biológico, 2006. p.37-43.

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

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995. v.1, cap.22, p.417-454.

PEREIRA, A. L. G. **Contribuição ao estudo da etiologia da mancha oleosa da folha de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) causada por *Xanthomonas passiflorae* n. sp.** 1968. 91 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1968.

RAMAMOORTHY, V.; VISWANATHAN, R.; RAGUCHANDER, T.; PRACKASAM, V.; SAMIYAPPAN, R. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, Guildford, v.20, n.1, p.1-20, 2001.

RESENDE, M. L. V.; BARGUIL, B. M.; RESENDE, R. S.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; SALGADO, S. M. L. Induction of resistance against *Phoma costarricensis* on coffee leaves

and husks. In: **The international joint workshop on proteins and induced resistance**, Elsinore, p.79, 2004. (Abstract).

RESENDE, M. L. V.; CANUTO, R. Produtos comerciais à base de bioindutores de resistência em plantas. In: POLTRONIERI, L. S.; ISHIDA, A. K. N. **Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas**: Panorama atual e perspectivas na agricultura. Belém, 2008. p.216-248.

RIBEIRO, L. F. C.; HEMKEMEIER, S.; SANTOS, C. S.; MULLER, K. Efeito Inibitório de Extratos Vegetais Sobre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Agente Etiológico do Cancro Bacteriano do Tomateiro. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Alta Floresta, v.4, n.2, 2009.

ROMEIRO, R. S. **Bactérias fitopatogênicas**. Editora UFV, Viçosa, 1995. 367p.

ROMEIRO, R. S. **Indução de Resistência em plantas a patógenos**. Editora UFV Viçosa: Cadernos didáticos, 1999. 45p.

ROULIN, S.; BUCHALA, A. J. The induction of  $\beta$ -1,3-glucanase and other enzymes in groundnut leaves infected with *Cercospora arachidicola*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v.46, p.471-489, 1995.

SANTOS, F. S.; SOUZA, P. E.; RESENDE, M. L. V.; POZZA, E. A.; MIRANDA, J. C.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; MANERBA, F. C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.1, p.59-63, 2007.

SILVA, R. F. **Indução de resistência em plantas de berinjela e tomate por *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra bactérias causadoras de murcha (*Ralstonia solanacearum*) e cancro (*Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*)**. 2007. 109f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Piracicaba, 2007a.

SILVA, R. F., PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.3, p.189-196, 2007b.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília, v.16, p.265-304, 2008.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. 1999. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, Piracicaba, v.11, n.3, p.16-22, 1999.

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

STINTIZI, A.; HEITZ, T.; PRASAD, V.; WIEDEMANN-MERDINONOGLUS, S.; KAUFFMAN, S.; GEOFFROY, P.; LEGRAND, M.; FRITIG, B. Plant pathogenesis-related proteins and their role in defense against pathogens. **Biochimie**, Estrasburgo, v.75, n.8, p.687-706, 1993.

SWINGS, J. G.; CIVEROLO, E. L. *Xanthomonas*. London: Chapman e Hall, 1993. p.60-64.

TALLY, A.; OOSTENDORP, M.; LAWTON, K.; STAUB, T.; BASSI, B. Commercial development of elicitors of induced resistance to pathogens. In: AGRAWAL, A. A.; TUZUN, S.; BENT, E. **Induced plant defenses against pathogens and herbivores**. Saint Paul, 1999, p.357-369.

TODA FRUTA. Boletim eletrônico. Jaboticabal: Sociedade Brasileira Fruticultura, 2002. Disponível em: <<http://www.todafruta.com.br>>. Acesso em: 14 fev. 2009.

TOILLIER, S. L.; IURKIV, L.; MEINERZ, C. C.; BALDO M.; VIECELLI, C. A.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Controle de cretamento bacteriano comum (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) e alterações bioquímicas em feijoeiro induzidas por *Pycnopus sanguineus*. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.99-110, 2010.

TOYOTA, M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008. 66f. Dissertação (Mestrado em agronomia, área de concentração Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, MG. 2008.

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

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

VAN LOON, L. C.; VAN KAMMEN, A. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var 'Samsun' and 'Samsun NN'. Changes in protein constitution after infection with TMV. **Virology**. New York, v.40, n.2, p.199-211, 1970.

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

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

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. **Principais Doenças do Maracujazeiro na Região Nordeste e seu Controle**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p.12, 2003. (Comunicado Técnico 86).

WENDLAND, A.; UENO, B.; LEITE JUNIOR, R. P. Avaliação da variabilidade de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* através de características fenotípicas e do perfil de proteínas totais por eletroforese. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14. 1996, Curitiba. **Anais...Curitiba**, 1996. p.324.

WHETTEN, R. W.; MACKAY, J. J.; SEDEROFF, R. R. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Georgia, v.49, p.585-609, 1998.

### 3 EXTRATOS VEGETAIS, FERTILIZANTES FOLIARES E PRODUTOS QUÍMICOS NO CONTROLE DA MANCHA BACTERIANA DO MARACUJAZEIRO

**RESUMO:** O presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de produtos químicos, fertilizantes foliares e extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e sobre a severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg) em casa-de-vegetação. Foram avaliados os produtos químicos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxicloreto de cobre e acibenzolar-S-metil, os fertilizantes foliares Fitoforce cobre e Fitoforce plus e os extratos de folhas de jaqueira e noni. Nos ensaios *in vitro*, os tratamentos foram incorporados ao meio de cultura 523 de Kado e Heskett (1970), em suas respectivas dosagens e as avaliações foram realizadas pela contagem do número de colônias do patógeno. Em todos os ensaios, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. Nos ensaios em casa-de-vegetação a aplicação dos tratamentos foi realizada 2 dias antes da inoculação de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* para os produtos químicos e 7 dias antes da inoculação para os fertilizantes e extratos. Em todos os ensaios, o delineamento experimental foi em blocos casualizados e as avaliações de severidade da doença foram realizadas em intervalos de 48 horas. *In vitro*, foi verificado que os produtos químicos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxicloreto de cobre e os fertilizantes Fitoforce cobre e Fitoforce plus inibiram totalmente o crescimento do patógeno em todas as concentrações testadas. Os extratos de folhas de jaqueira e noni inibiram o crescimento da bactéria entre 47,85 e 63,43%, enquanto o indutor de resistência acibenzolar-S-metil não apresentou ação sobre *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. Em casa-de-vegetação, todos os tratamentos reduziram a severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro, com controle acima de 54% diferindo significativamente da testemunha, com exceção do Fitoforce plus que apresentou porcentagem de eficiência de controle abaixo de 50%, não diferindo significativamente da testemunha.

**Palavras-chave:** Atividade antimicrobiana, Controle, Severidade, *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.

**ABSTRACT:** The present research aimed to evaluate the effect of chemicals, leaf fertilizers and plant extracts on growth *in vitro* of *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* and the severity of bacterial spot of passion fruit in greenhouse. The chemicals oxytetracycline, fluazinam, mancozeb, copper oxychloride and acibenzolar-S-methyl and the foliar fertilizers Fitoforce copper and Fitoforce plus and leaf extracts of jackfruit and Indian mulberry were used. For the *in vitro* tests, treatments were incorporated into the culture medium 523 (Kado and Heskett, 1970) on their respective strengths and assessments were performed by counting the number of colonies of the pathogen. The experimental design was completely randomized design with five replications. The tests on greenhouse treatment application were performed 2 days before inoculation of *X. axonopodis* pv. *passiflorae* for chemicals and 7 days before inoculation for fertilizers and extracts. In all tests, the experimental design was randomized blocks and the disease severity assessments were performed every 48 hours. *In vitro* assays, the chemicals oxytetracycline, fluazinam, mancozeb, copper oxychloride, fertilizer Fitoforce copper and Fitoforce plus completely inhibited the growth of the pathogen at all concentrations tested. The leaf extracts of Indian mulberry and of jackfruit inhibited the growth of bacteria between 47.85 and 63.43%, while the resistance inducer acibenzolar-S-methyl showed no action against *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. At the greenhouse all treatments reduced the severity of bacterial spot of passion fruit, with control over 54% differed significantly from the control, except for fertilizer Fitoforce plus that showed a lower percent control efficiency, below 50%, and did not differ significantly from the control.

**Keywords:** Antimicrobial activity, Control, Severity, *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*.



### 3.1 INTRODUÇÃO

No Norte do país, a cultura do maracujazeiro (*Passiflora edulis Sims f. flavicarpa* Deg) está concentrada no Estado do Pará. O Estado produziu no ano de 2009 cerca de 26.763 t das 36.988 t produzidas pela região Norte (IBGE, 2010). A renovação da cultura antes realizada a cada 5 anos, hoje em plantios mais adensados, é renovada anualmente, principalmente devido a problemas fitossanitários (RUGGIERO et al., 1996). Dentre as doenças que ocorrem na cultura, a mancha bacteriana (*Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*) tem merecido grande atenção, já que encontrou no Estado condições ótimas para seu progresso.

As principais medidas de controle da mancha bacteriana baseiam-se no princípio da exclusão, evitando-se a introdução do patógeno na área de cultivo, com a utilização de mudas e sementes livres do patógeno (HALFELD-VIEIRA; NECHET, 2006).

No controle químico, são recomendados para a cultura do maracujá, o sulfato de cobre + oxitetraciclina, oxitetraciclina + estreptomicina e a Kasugamicina (AGROFIT, 2011). Viana et al. (2003) verificaram que a associação de um fungicida cúprico com um bactericida, como sulfato de cobre (30%) + oxitetraciclina (50%), resultou em bom controle da doença em trabalho experimental, assim como a associação oxiclureto de cobre + maneb + zineb. Torres Filho et al. (1996) verificaram que a Kasugamicina, quando não associada à poda de limpeza, proporcionou razoável ação de controle, todavia foi ineficaz quando associada à poda, enquanto oxiclureto de cobre associado ou não a poda de limpeza proporcionou bom controle da bacteriose. No entanto, o uso intensivo de produtos cúpricos para o controle da doença pode levar em longo prazo, a seleção de formas cada vez mais resistentes do patógeno (FRANCO; TAKATSU, 2004).

Produtos de menor toxicidade, fertilizantes foliares e extratos vegetais têm se mostrado promissores no controle de doenças, atuando como indutores de resistência de plantas a doenças (AMARAL, 2005; ARAÚJO et al., 2005; NOJOSA et al., 2005; SILVA et al., 2007; ISHIDA et al., 2008a; STANGARLIN et al., 2008; BARATA et al. 2009). O acibenzolar-S-metil (ASM) reduziu a severidade da murcha bacteriana do tomateiro (ARAÚJO et al., 2005), da mancha angular do algodoeiro (ISHIDA et al., 2008b) e da mancha bacteriana do maracujazeiro (BORO, 2011).

Além destes químicos, extratos vegetais têm sido estudados no controle de doenças de plantas (RESENDE et al., 2004; AMARAL, 2005; BARGUIL et al., 2005; ISHIDA et al.,

2008a; SANTOS et al., 2007). Os extratos de folhas de maracujá, de folhas de café, de casca de café e de folhas de lobeira reduziram em 38% os sintomas da mancha angular do algodoeiro em casa-de-vegetação (ISHIDA et al., 2008a). Para cercosporiose foi observada uma diminuição na percentagem da doença em 40% e 37% em plantas tratadas com extrato de casca de café e extrato de folhas de café com ferrugem, respectivamente (AMARAL, 2005). Santos et al. (2007) observou em testes de campo, que o tratamento com extrato de folhas de café reduziu a área abaixo da curva de progresso da mancha-de-phoma em 61% comparada à testemunha pulverizada com água. Extratos vegetais e fertilizantes foliares, oferecem uma opção adicional para o agricultor complementar a resistência genética à doença e ao uso de fungicidas. Se integrados, apropriadamente, em programas de manejo de doenças de plantas, eles podem prolongar a vida útil de genes de resistência e de fungicidas usados atualmente (ISHIDA, et al., 2008b).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito direto de produtos químicos, fertilizantes foliares e extratos vegetais sobre o crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, bem como avaliar a eficiência dos mesmos na redução da severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram instalados no Laboratório de Fitopatologia e em casa-de-vegetação da Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA.

### 3.2.1 Origem, isolamento e preservação do patógeno

O isolado de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* foi obtido a partir de folhas de maracujazeiro apresentando lesões típicas de mancha bacteriana, provenientes do município de Igarapé-Açu, PA. O isolamento foi realizado em meio 523 de Kado e Heskett (1970), pelo método de estrias paralelas e posterior incubação por 48h a 28 °C. A patogenicidade do isolado foi constatada por inoculação, pulverizando-se a face inferior das folhas com suspensão bacteriana na concentração de  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias/mL

(UFC/mL). As plântulas inoculadas foram mantidas por 24 h em câmara úmida. Após o aparecimento dos sintomas, o patógeno foi reisolado das lesões pelo método anteriormente citado. O isolado se encontra preservado em água destilada esterilizada (PEREIRA et al., 1970) no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental.

### 3.2.2 Obtenção dos extratos aquosos de *Artocarpus heterophyllus* Lam. e *Morinda citrifolia* linn.

Amostras de folhas de jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam) e noni (*Morinda citrifolia* linn) foram coletadas na Embrapa Amazônia Oriental, acondicionadas em sacos plásticos e transportadas para o Laboratório de Fitopatologia. Após a desinfestação superficial em álcool etílico (70%) por dois minutos, solução de NaClO (2%) por 10 minutos, seguida de imersão em água destilada, as folhas foram colocadas em papel toalha para absorção do excesso de umidade. Posteriormente, o material permaneceu em estufa com circulação de ar forçado a 40 °C, até peso constante e em seguida, triturado em moinho elétrico para obtenção do pó (BIERMANN, 2009).

Os extratos aquosos foram obtidos pela adição do material moído à água destilada na proporção de 10 g por 100 mL, mantidos sob agitação constante em “shaker” a 180 rpm por 20 minutos. Em seguida, foram mantidos em repouso em geladeira por 24h para extração dos compostos hidrossolúveis. Após este período, os extratos foram filtrados em gaze previamente esterilizada para retirada do material sólido.

### 3.2.3 Ensaios *in vitro*

O efeito *in vitro* de produtos químicos, fertilizantes foliares e extratos de folhas de jaqueira e noni sobre o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* foi avaliado em três ensaios distintos. Em todos os ensaios, os tratamentos foram incorporados ao meio de cultura 523 (KADO; HESKETT, 1970) fundente em suas respectivas dosagens (concentração) e vertidos em placas de Petri. Após a solidificação do meio de cultura acrescido dos produtos, foram depositadas alíquotas de 100 µL da suspensão bacteriana ajustada à Abs<sub>540</sub>= 0,1 em

diluição  $10^{-6}$  e espalhadas com alça de Drigalski. Como testemunha utilizou-se o meio de cultura sem adição de nenhum produto. Após a incubação por 48 h a 28 °C foi avaliado o efeito direto dos produtos sobre a bactéria através da contagem de UFC das placas. Em todos os ensaios, o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com cinco repetições. As médias foram submetidas á análise de variância e comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

### 3.2.3.1 Efeito *in vitro* de produtos químicos sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

Foi avaliado o efeito dos produtos químicos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxicleto de cobre e do indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) sobre o crescimento *X. axonopodis* pv. *passiflorae* (Tabela 1), em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 21 tratamentos e 5 repetições.

**Tabela 1** - Descrição dos produtos químicos testados sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e suas respectivas dosagens.

Ingrediente ativo (Grupo Químico)	Doses utilizadas*			
	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
Oxitetraciclina (Antibiótico)	0,5 g/L	1,0 g/L	2,0 g/L	4,0 g/L
Fluazinam (Fenilpiridinilamina)	0,25 mL/L	0,5 mL/L	1,0 mL/L	2,0 mL/L
Mancozeb (ditiocarbamato)	0,75 g/L	1,5 g/L	3,0 g/L	6,0 g/L
Oxicleto de cobre (Inorgânico)	0,625 g/L	1,25 g/L	2,5 g/L	5,0 g/L
Acibenzolar-S-metil (Benzotiazol)	0,05 g/L	0,1g/L	0,2 g/L	0,4 g/L

\*Em 100 mL de meio de cultura

### 3.2.3.2 Efeito *in vitro* de fertilizantes foliares sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

Para avaliar o efeito dos fertilizantes foliares fitoforce cobre e fitoforce plus sobre o crescimento *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, utilizou-se para efeito de comparação o fungicida oxiclureto de cobre e o indutor de resistência acibenzolar-S-metil (Tabela 2). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 5 tratamentos e 5 repetições.

**Tabela 2** - Descrição dos tratamentos testados sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e suas respectivas dosagens.

Tratamentos	Dosagens utilizadas*
Fitoforce cobre	100 mL/L
Fitoforce plus	40 mL/L
Oxicloreto de cobre	2,5 g/L
Acibenzolar-S-metil	0,2 g/L

\*Em 100 mL de meio de cultura

### 3.2.3.3 Efeito *in vitro* de extratos vegetais sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

Os extratos aquosos de folhas de jaqueira (*A. heterophyllus* Lam.) e noni (*M. citrifolia* linn) foram avaliados sobre o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* (Tabela 3). Antes de serem incorporados ao meio de cultura, os extratos foram filtrados e gaze esterilizada e depois, em filtro millipore (0,22 µm). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos e 5 repetições.

**Tabela 3** - Descrição dos extratos vegetais e produtos testados sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* e suas respectivas dosagens.

Tratamentos	Concentrações/ dosagens utilizadas
Extrato <i>Artocarpus heterophyllus</i>	1%, 5%, 10%
Extrato <i>Morinda citrifolia</i>	1%, 5%, 10%
Oxicloreto de cobre	2,5 g/L
Acibenzolar-S-metil	0,2 g/L

### 3.2.4. Ensaio *in vivo*

Em todos os ensaios *in vivo*, sementes de maracujá, cultivar Golden Star (cultivar suscetível) foram semeadas em vasos (3 kg) contendo solo. O desbaste foi realizado quando as plantas apresentaram duas folhas verdadeiras, deixando apenas 2 plantas por vaso.

A inoculação de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* foi realizada, pulverizando-se a face inferior das folhas com suspensão bacteriana na concentração de  $10^9$  UFC/mL. Após a inoculação, as plântulas foram mantidas por 24 h em câmara úmida. A aplicação dos tratamentos foi via foliar, pulverizando-se as folhas, até o ponto de escorrimento. Plantas da testemunha foram pulverizadas com água de torneira. Em todos os ensaios a severidade da mancha bacteriana foi avaliada aos 2, 4, 6, 8, 10 e 12 dias após a inoculação do patógeno, utilizando-se uma adaptação da escala de Sidhu e Webster (1977) com notas variando de 0 a 4, onde 0 = 0% de folha lesionada; 1 = 1 a 25% de folha lesionada; 2 = 26 a 50% de folha lesionada; 3 = 51 a 75% de folha lesionada; 4 = acima de 76% de folha lesionada. Os valores obtidos serviram de base para o cálculo da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), proposta por Shaner e Finney (1977). Para cada uma das variáveis, foi realizada a análise de variância e a comparação das médias pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR.

#### 3.2.4.1 Efeitos de produtos químicos no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação

Foram avaliados os produtos oxitetraciclina (2,0 g/L), fluazinam (1,0 mL/L), mancozeb (3,0 g/L), oxiclureto de cobre (2,5 g/L) e ASM (0,2 g/L) no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação. A aplicação dos tratamentos foi realizada dois dias antes da inoculação do patógeno. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 6 tratamentos e 4 repetições com 2 plantas/repetição.

#### 3.2.4.2 Efeito de fertilizantes foliares no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação

Foram avaliados os fertilizantes foliares Fitoforce cobre e Fitoforce plus no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação. Os fertilizantes foram utilizados nas dosagens de 100 mL/L e 40 mL/L, respectivamente, segundo recomendações do fabricante. Para efeito de comparação, utilizou-se o fungicida oxiclureto de cobre, na dosagem de 2,5 g/L e o indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM), na dosagem de 0,2 g/L. A aplicação dos tratamentos foi realizada sete dias antes da inoculação do patógeno. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 5 tratamentos e 4 repetições com 2 plantas/repetição.

#### 3.2.4.3 Efeito de extratos vegetais no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação

Comparou-se a eficácia dos extratos vegetais de folhas de jaqueira e noni, ambos a 1%, com o fungicida oxiclureto de cobre (2,5 g/L) e o indutor de resistência acibenzolar-S-metil (0,2 g/L) no controle da bacteriose do maracujazeiro em casa-de-vegetação. A aplicação dos tratamentos foi realizada sete dias antes da inoculação do patógeno. O delineamento

experimental foi em blocos casualizados, com 5 tratamentos e 4 repetições com 2 plantas/repetição.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Ensaio *in vitro*

##### 3.3.1.1 Efeito *in vitro* de produtos químicos sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

Os produtos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb e oxiclreto de cobre inibiram a bactéria em todas as doses testadas, somente o ASM não apresentou efeito inibitório do crescimento bacteriano, independente da dose utilizada (Tabela 4).

O ASM como indutor de resistência não teve efeito direto sobre o patógeno. Resultados semelhantes foram obtidos com as bactérias fitopatogênicas *X. vesicatoria*, *Ralstonia solanacearum*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* e *X. axonopodis* pv. *malvacearum*, em que o ASM não apresentou efeito direto *in vitro*, mesmo nas maiores concentrações (KOBAYASTI et al., 2001; ISHIDA, 2004; SILVA et al., 2007). Este produto não apresenta atividade tóxica direta sobre fitopatógenos, porém as plantas tratadas são protegidas contra os patógenos mediante resistência sistêmica adquirida induzida pelo composto (ISHII et al., 1999).

No presente trabalho, o oxiclreto de cobre inibiu o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, a partir da menor dosagem (0,625 ppm), contrastando com os relatos de Beriam et al. (1999) e Malavolta Júnior (1999), quando o oxiclreto de cobre não inibiu os isolados de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* e de *X. campestris* pv. *viticola*, respectivamente em concentrações até 100 ppm. No entanto, em alta concentração (10.000 ppm) ou em mistura com Kasugamicina (4.000 ppm + 5.000 ppm), o oxiclreto de cobre inibiu os isolados de *R. solanacearum*, *X. campestris* pv. *vesicatoria* e *X. campestris* pv. *melonis* (PEIXOTO et al., 1996).



**Tabela 4** - Efeito direto (*in vitro*) de acibenzolar-S-metil (ASM), oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb e oxiclureto de cobre sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Unidades Formadoras de Colônias - UFC)

Tratamentos (dose)	*UFC/mL	% de controle em relação à testemunha
Testemunha	250,80 a**	-
ASM (0,05 g/L)	214,60 b	14,44
ASM (0,1g/L)	255,40 a	-
ASM (0,2 g/L)	229,60 b	8,45
ASM (0,4 g/L)	247,20 a	1,43
Oxitetraciclina (0,5 g/L)	0,00 c	100
Oxitetraciclina (1,0 g/L)	0,00 c	100
Oxitetraciclina (2,0 g/L)	0,00 c	100
Oxitetraciclina (4,0 g/L)	0,00 c	100
Fluazinam (0,25 mL/L)	0,00 c	100
Fluazinam (0,5 mL/L)	0,00 c	100
Fluazinam (1,0 mL/L)	0,00 c	100
Fluazinam (2,0 mL/L)	0,00 c	100
Mancozeb (0,75 g/L)	0,00 c	100
Mancozeb (1,5 g/L)	0,00 c	100
Mancozeb (3,0 g/L)	0,00 c	100
Mancozeb (6,0 g/L)	0,00 c	100
Oxicloreto de Cobre (0,625 g/L)	0,00 c	100
Oxicloreto de Cobre (1,25 g/L)	0,00 c	100
Oxicloreto de Cobre (2,5 g/L)	0,00 c	100
Oxicloreto de Cobre (5,0 g/L)	0,00 c	100
CV% = 34,31		

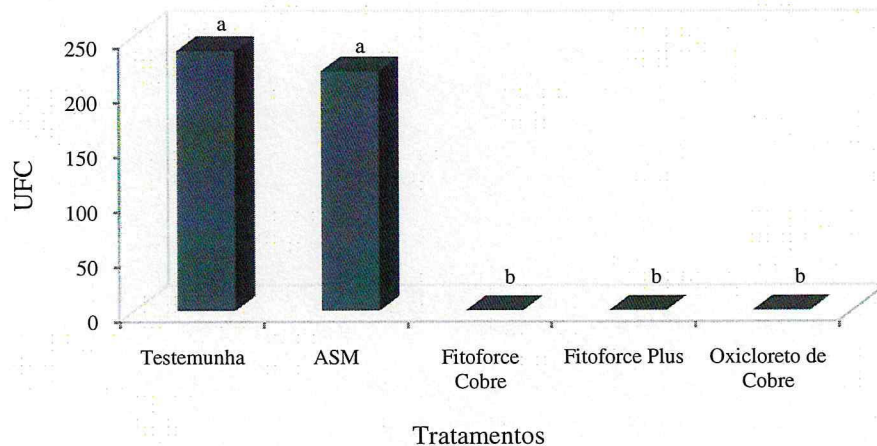
\* UFC - unidades formadoras de colônias.

\*\*Média seguida por letras distintas diferem entre si ao nível de significância de 5% pelo teste de Scott & Knott (1974).

### 3.3.1.2 Efeito *in vitro* de fertilizantes foliares sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

Os fertilizantes Fitoforce cobre e Fitoforce plus inibiram totalmente o crescimento de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* (Figura 1). Este efeito inibitório pode ter sido conferido por compostos tóxicos ao patógeno presentes na fração solúvel da casca de frutos de café, como taninos e compostos fenólicos (RAMIREZ, 1987). Resultado semelhante foi observado no tratamento de controle padrão, o oxiclureto de cobre (Figura 1). Entretanto, não houve efeito inibitório no crescimento bacteriano pelo ASM, o qual não diferiu significativamente da testemunha.

Zacaroni (2008) estudando o uso de formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com ASM, fertilizantes foliares e óleos no manejo da mancha angular do algodoeiro e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro, verificou que os fertilizantes foliares Fulland® e Agro-Mos® inibiram o crescimento *in vitro* de *X. axonopodis* pv. *malvacearum* e *X. axonopodis* pv. *phaseoli* e que o NEFID (extrato de folhas de café severamente infectadas com ferrugem, coletadas da superfície do solo de lavoura cafeeira) não inibiu o crescimento de *X. axonopodis* pv. *malvacearum*. Santos et al. (2010) verificando a possível atividade antibacteriana pelo uso de ASM e do fertilizante Agro-Mos®, não observaram inibição de *X. campestris* pv. *viticola*, causadora do cancro bacteriano.



**Figura 1-** Efeito de Fitoforce cobre, Fitoforce plus, Oxicloreto de Cobre e Acibenzolar-S-Metil sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Unidades Formadoras de Colônias - UFC). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (1974) a 5% de probabilidade. Coeficiente de Variação (CV): 20,7%

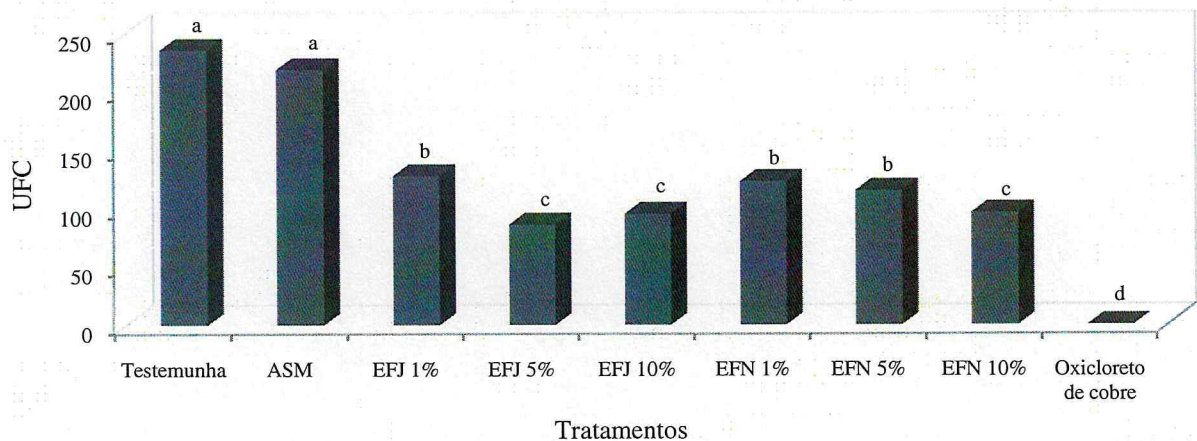
### 3.3.1.3 Efeito *in vitro* de extratos vegetais sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*

Os extratos aquosos de folhas de jaqueira e noni inibiram significativamente o crescimento do patógeno em todas as concentrações testadas (Figura 2), porém o maior efeito foi observado na concentração de 5 e 10% para o extrato de folhas de jaqueira e 10% para o extrato folhas de noni. O oxicloreto de cobre inibiu totalmente o crescimento da bactéria na dose testada, enquanto o ASM não teve efeito direto sobre o patógeno (Figura 2).

O efeito antimicrobiano de extratos de origem vegetal tem sido demonstrado sobre *X. axonopodis* pv. *passiflorae*. Os extratos de folha, fruto e raiz de *Capsicum chinense*

(BARATA et al., 2009) e de casca de *Copaifera reticulata* Ducke e *C. duckei* Dwyer (ISHIDA et al., 2008a) inibiram totalmente o crescimento do patógeno. O extrato aquoso de alho apresentou eficiência no controle do número de colônias formadas da mesma bactéria nas concentrações de 1 e 10% (BOITA, 2008)

Apesar do potencial inibitório *in vitro*, nenhum trabalho foi encontrado relatando o efeito antimicrobiano de extratos aquosos de folhas de jaqueira e noni sobre *X. axonopodis* pv. *passiflorae* ou outra fitobactéria.



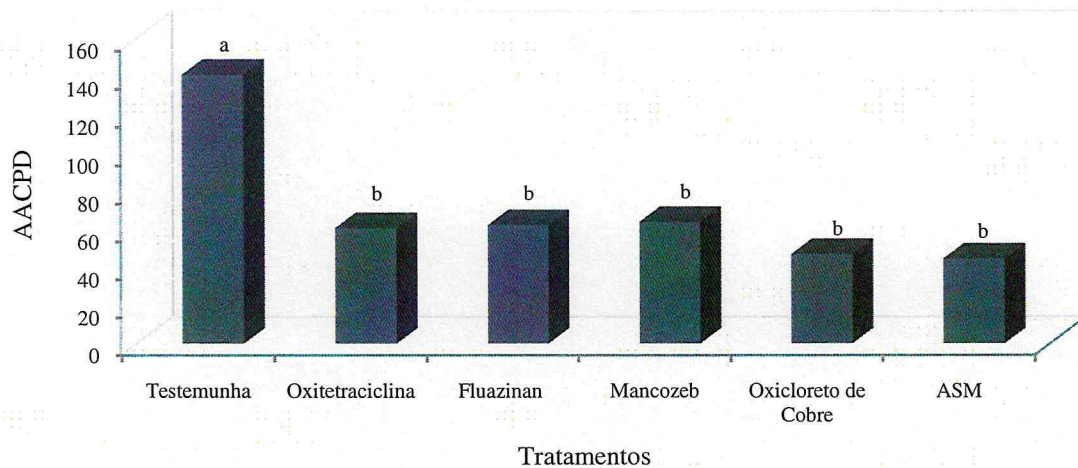
**Figura 2** - Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato aquoso de folhas de *A. heterophyllum* Lam. e *M. citrifolia* linn. sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (Unidades Formadoras de Colônias - UFC). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. CV: 14,14%

### 3.3.2 Ensaio *in vivo*

#### 3.3.2.1 Efeito de produtos químicos no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação

Estudando o efeito dos produtos químicos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxidocloreto de cobre e ASM, foi observado que todos os produtos testados proporcionaram redução significativa na severidade da mancha bacteriana, não diferindo entre si (Figura 3). Com a aplicação de ASM observou-se redução de 68,31%, oxidocloreto de cobre 66,54%, oxitetraciclina 56,81%, fluazinam 55,75% e mancozeb 54,51%.

Baysal et al. (2003) e Araújo et al. (2005) trabalhando com *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* e *R. solanacearum* em tomate obtiveram redução significativa no progresso da doença com a aplicação de ASM. O bom desempenho de ASM provavelmente está ligado à resistência sistêmica adquirida na qual o ASM um ativador, estando associado a respostas de defesa, como a síntese de proteínas relacionadas a patogênese (RYALS, 1996).



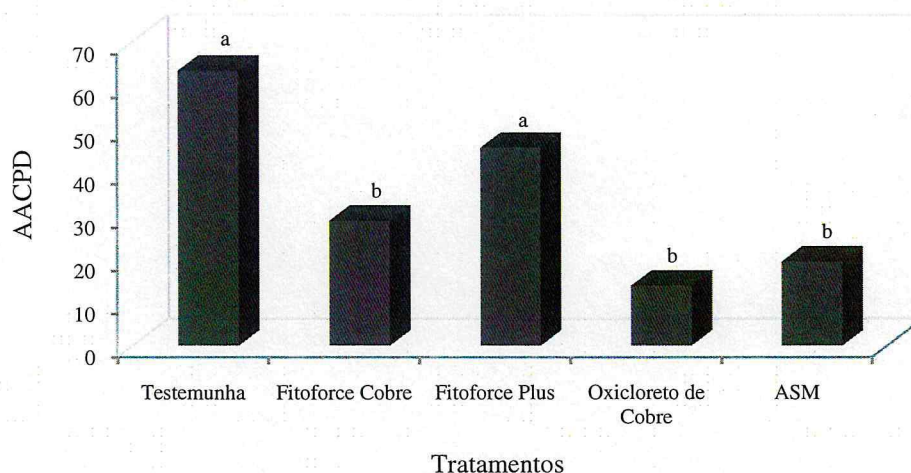
**Figura 3** - Efeito de produtos químicos na severidade (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença - AACPD) da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. CV: 40,01%

O cobre pode agir na proteção do tecido vegetal do hospedeiro contra infecção por bactérias, reduzindo o inóculo na superfície da folha. Entretanto, são necessárias várias aplicações de produtos para que se obtenha controle adequado de doenças bacterianas (LEITE JÚNIOR, 2000).

Em função dos fungicidas cúpricos serem amplamente utilizados, a resistência a esses produtos já foi reportada para patovares de *Pseudomonas syringae* (NAKAJIMA et al., 2002) e *Xanthomonas* spp. (MARCO; STALL, 1983; AGUIAR et al., 2000). A resistência ao cobre em *Xanthomonas* spp. está normalmente associada à presença de plasmídeos, que apresentam dimensões grandes e são autotransmissíveis (BENDER et al., 1990; STALL et al., 1986). A associação de resistência ao cobre à presença desses plasmídeos tem sido relacionada com o aumento da ocorrência da resistência a esse metal pesado em bactérias fitopatogênicas no campo. Fato que reforça a necessidade de se obter alternativas de controle para serem inseridas de forma integrada em programas de manejo de doenças de plantas.

### 3.3.2.2 Efeito de fertilizantes foliares no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação

Com exceção do Fitoforce plus, todos os tratamentos reduziram significativamente a severidade da doença e não diferiram entre si (Figura 4).



**Figura 4** - Efeito de fertilizantes foliares na severidade (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença - AACPD) da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. CV: 40,39%

A aplicação de oxidocloreto de cobre apresentou 78,06% de controle em relação à testemunha (Figura 4). A eficiência do oxidocloreto de cobre tem sido reportada na literatura. A aplicação semanal deste produto em plantas de pimentão resultou na redução da severidade da mancha bacteriana (*X. campestris* pv. *vesicatoria*) (CARMO et al., 2001).

A aplicação do ASM conferiu o controle de 69,23% em relação à testemunha (Figura 4). Resultados semelhantes têm sido encontrados em trabalhos com tomateiro, citros, cacauzeiro e algodão (PASCHOLATI, 1999; VENÂNCIO et al., 2000; PEREZ, 2002; CAVALCANTI; RESENDE, 2005; ISHIDA et al., 2008b).

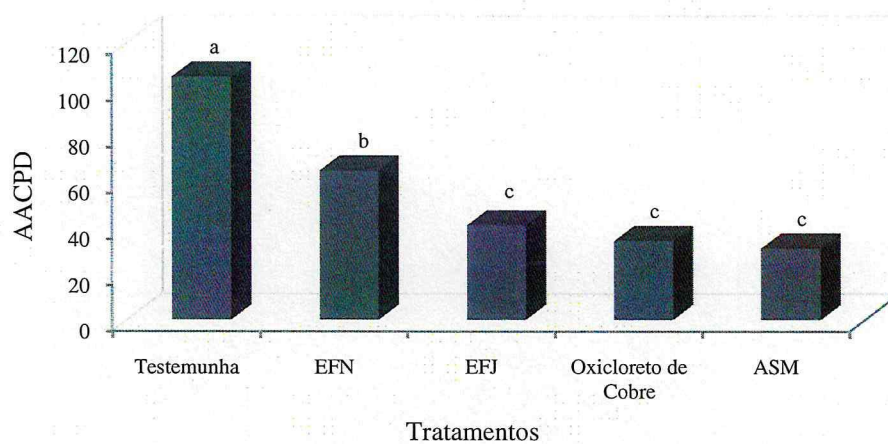
O Fitoforce cobre apresentou 54,41% de controle em relação à testemunha (Figura 4), supõem-se que seu efeito na redução na severidade da doença, esteja ligado à presença de eliciadores envolvidos em respostas de defesa de plantas, derivados do tecido do cafeeiro infectado por *Hemileia vastatrix* (GUZZO et al., 1987) e de diversos produtos da interação planta-patógeno, que quando percebidos pela planta, podem agir como sinalizadores químicos induzindo respostas de defesa (PASCHOLATI; LEITE, 1994).

Zacaroni (2008) verificou que o extrato proveniente de folhas de café microprocessadas (NEFID), quando em misturas, potencializou o efeito de todos os produtos usados, chegando a 66,37% de controle da mancha-angular do algodoeiro. Medeiros (2009) avaliando a mesma formulação à base de resíduos da lavoura de café, na indução de respostas de defesa de plantas de tomate a *X. vesicatoria*, constatou que a aplicação de NEFID proporcionou 35% de redução na severidade da doença enquanto o ASM proporcionou redução de 61%.

### 3.3.2.3 Efeito de extratos vegetais no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação

Todos os tratamentos diferiram significativamente da testemunha. Plantas tratadas com os extratos aquosos de *A. heterophyllus* (EFJ) e *M. citrifolia* (EFN) reduziram a severidade da doença em 61,14 e 38,54%, respectivamente (Figura 5). Os extratos vegetais são considerados eliciadores bióticos (PASCHOLATI; LEITE, 1995), e sua eficiência no controle a fitopatógenos pode ser observada em diversos patossistemas, possivelmente por possuírem substâncias bioativas capazes de atuarem como indutores de resistência em plantas (AMARAL, 2005; ISHIDA et al., 2008a, BARATA, 2009). Nas plantas tratadas com o oxiclureto de cobre foi observada redução de 67,53% e com ASM, de 70,58%, quando comparados à testemunha (Figura 5).

Assim como no ensaio *in vitro*, não foram encontrados trabalhos na literatura que comprovem os efeitos dos referidos extratos no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação, enfatizando a importância da pesquisa com esses produtos, uma vez que no presente trabalho ambos apresentaram potencial de controle da mancha bacteriana, podendo ser uma ferramenta adicional principalmente para o pequeno agricultor.



**Figura 5** - Efeito dos extratos aquosos de folhas de *A. heterophyllus* Lam. e *M. citrifolia* linn na severidade (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença - AACPD) da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. CV: 16,38

### 3.4 CONCLUSÕES

1. Os tratamentos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxicloreto de cobre, Fitoforce cobre, Fitoforce plus, extratos de folhas de jaqueira e de noni reduziram o número de unidades formadoras de colônias de *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.
2. Os tratamentos oxitetraciclina, fluazinam, mancozeb, oxicloreto de cobre, acibenzolar-S-metil, Fitoforce cobre, extratos de folhas de jaqueira e de noni reduziram significativamente a severidade da mancha bacteriana.



## REFERÊNCIAS

AGROFIT: **Sistema de agrotóxicos fitossanitários**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação-Geral de Agrotóxicos e Afins, 2008. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 24 fev. 2011.

AGUIAR, L. A.; KIMURA, O.; CASTILHO, A. M.; CASTILHO, K. S. C.; RIBEIRO, R. L. D.; AKIBA, F.; CARMO, M. G. F. Resistência ao cobre em isolados nacionais de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* de pimentão e tomateiro. **Agronomia**, Seropédica, v. 34, n.1/2 p.78-82, 2000.

AMARAL, D. R. **Indução de resistência em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* por eliciadores abióticos e extratos vegetais**. 2005. 96f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ARAÚJO, J. S. P.; GONÇALVES, K. S.; OLIVEIRA, B. C.; RIBEIRO, R. L. D.; POLIDORO, J. C. Efeito do acibenzolar-S-methyl sobre murcha-bacteriana do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.23, n.1, p.5-8. 2005.

BARATA, D. S.; VIEIRA, E. S.; ISHIDA, A. K.; SOUZA FILHO, A. P. S. Atividade antibacteriana de extratos etanólicos e hexânicos de diferentes frações de *Capsicum chinense* sobre o crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 49., 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre, 2009.

BARGUIL, B. M., RESENDE, M. L. V., RESENDE, R. S., BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; SALGADO, S. M. L. Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costaricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, lavras, v.30, n.5, p.535-537, 2005.

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

BENDER, C. L.; MALVICK, D. K.; CONWAY, K. E., GEORGE, S.; PRATT, P. Characterization of pXV10A, a copper resistance plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Applied and Environmental Microbiology**, Beltsville, v.56, n.1, p.170-175. 1990.

BERIAM, L. O. S.; MALAVOLTA JÚNIOR, V. A.; COSTA, F. Controle químico *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae*. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.5, n.1, p.26, 1999.

BIERMANN, A. C. S. **Bioatividade e de inseticidas botânicos sobre *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae)**. 2009. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Departamento de defesa fitossanitária - Universidade Federal de Santa Maria, 2009.

BOITA, D. C. **Efeito inibitório de extratos vegetais aquosos sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* – agente causal da mancha bacteriana do maracujazeiro**. 2008. 40 f. Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Bacharelado em Agronomia) – Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2008.

BORO, M. C.; BERIAM, L. O. S.; GUZZO, S. D. Induced resistance against *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* in passion fruit plants. **Tropical plant pathology**, Brasília, v.36, n.2, p.74-80, 2011.

CARMO, M. G. F.; MACAGNAN, D.; CARVALHO, A. O. Progresso da mancha-bacteriana do pimentão a partir de diferentes níveis iniciais de inóculo e do emprego ou não do controle com oxiclreto de cobre. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, n.3, p.342-347, 2001.

CAVALCANTI, L. S.; RESENDE, M. L. V. Efeito de épocas e doses de aplicação do acibenzolar-S-metil no controle de *Verticillium dahliae* em mudas de cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.1, p.67-71, 2005.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSC, 2000. p.255-258.

FRANCO, M. M.; TAKATSU, A. Sensibilidade de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* a cobre. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.20, n.2, p.207-210, 2004.

GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W. B. C. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*. I. Partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.12, n.4, p.377-385, 1987.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; NECHET, K. L. Ocorrência da mancha bacteriana do maracujazeiro em Roraima. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, n.2, p.214, 2006.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2010. **Produção Agrícola Municipal, 2010**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela>. Acesso em: 20 jan. 2011.

ISHIDA, A. K. N. **Resistência induzida por rizobactéria e acibenzolar-S-metil (ASM) no controle da mancha angular (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) do algodoeiro**. 2004. 130f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Departamento de fitopatologia - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

ISHIDA, A. K. N.; AMARAL, M. A. C. M.; GURGEL, E. S. C.; SOUZA FILHO, A. P. Extrato etanólico de *Copaifera duckei* Dwyer E. *Copaifera reticulata* Ducke sobre o crescimento in vitro de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 4, 2008a, Belém, PA. **Resumos...** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2008. p.47.

ISHIDA, A. K. N.; SOUZA, R. M.; RESENDE, M. L. V.; ZACARONI, A. B.; VILAS BÔAS, C. H.; SOUZA, J. E. T. Rizobactérias no controle da mancha angular do algodoeiro. **Ciência agrotécnica**. Lavras, v.32, n.1, p.149-156, 2008b.

ISHII, H., Y.; TOMITA, T.; HORIO, Y.; NARUSAKA, Y.; NAKAZAWA, K. NISHIMURA, IWAMOTO, S. Induced resistance of acibenzolar-S-methyl to cucumber and Japanese pear diseases. **European Journal of Plant Pathology**, v.105, n.1, p.77-85, 1999.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, St. Paul, v.60, n.6, p.969-976, 1970.

KOBAYASTI, L.; SILVA, L. H. C. P.; CAMPOS, J. R.; SOUZA, R. M.; REZENDE, M. L. V.; CASTRO, R. M. Efeito *in vitro* do indutor de resistência Acibenzolar-S-Methyl sobre bactérias patogênicas ao tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.293-293, 2001. (Suplemento).

LEITE JÚNIOR, R. P. Surviving with Citrus Canker in Brazil. CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR CITRICULTURE. 9, Orlando Flórida. **Proceedings...** Florida, 2000. p.890-896.

MALAVOLTA JÚNIOR, V. A. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.25, n.3, p.262-264, 1999.

MARCO, G. M.; STALL, R. E. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. **Plant Disease**, St. Paul, v.67, n.7, p. 779-781, 1983.

NAKAJIMA, M., GOTO, M.; HIBI, T. Similarity between copper resistance genes from *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and *P. syringae* pv. *tomato*. **Journal of General Plant Pathology**, Shizuoka v.68, p.68-74, 2002.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S.. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v.1, cap.6, p.139-153.

PASCHOLATI, S. F. Conclusões do grupo de discussão bioquímica fitopatológica e indução de resistência. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v.24, supl., p.241, 1999. (Suplemento).

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995. v.1, cap.22, p.417-454.

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

PEIXOTO, A. R.; KARASAWA, M.; TAVARES, S. C. C.; SILVA, W. A. Sensibilidade *in vitro* de isolados de *Pseudomonas solanacearum* e *Xanthomonas campestris* a alguns fungicidas e bactericidas comerciais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.21, supl., p.345, 1996. (Resumo).

PEREIRA, A. L. G., ZAGATTO, A. G.; FIGUEIREDO, M. B. Preservação e virulência de bactérias mantidas em água destilada. **O Biológico**, v.36, p.311-314, 1970.

PEREZ, J. O. **Caracterização de isolados de *Crinipellis pernicioso*, indução de resistência à vassoura-de-bruxa no cacaueteiro e análise de peroxidases na interação planta-patógeno**. 2002, 82f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2002.

RAMIREZ, J. Compuestos fenólicos em la pulpa de café. Cromatografia de papel da pulpa fresca de 12 cultivares de *Coffea arabica* L. **Turrialba**, San José, v.37, n.4, p.317-323, 1987.

RESENDE, M. L. V.; BARGUIL, B. M.; RESENDE, R. S.; BESERRA JÚNIOR, J. E. A.; SALGADO, S. M. L. Induction of resistance against *Phoma costarricensis* on coffee leaves and husks. In: **The international joint workshop on proteins and induced resistance**, Elsinore, p.79, 2004. (Abstract).

RUGGIERO, C.; SÃO JOSÉ, A. R.; VOLPE, C. A.; OLIVEIRA, J. C.; DURIGAN, J. F.; BAUMGARTNER, J. G.; SILVA, J. R.; NAKAMURA, K.; FERREIRA, M. E.; KAVATI, R.; PEREIRA, V. P. **Maracujá para exportação: Aspectos técnicos da produção.** Ministério da Agricultura e Abastecimento, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais. Brasília: Embrapa-SPI, 1996. 64p.

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

SANTOS, L. O.; COSTA, V. S. de O.; FREIRE, E. B.; BATISTA, D. da C.; TERAQ, D.; BARBOSA, M. A. G. Inibição *in vitro* de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* por indutores de resistência. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMIÁRIDO, 2010, Petrolina. **Anais...** Petrolina: Embrapa Semiárido, 2010. p.160-164.

SANTOS, F. S.; SOUZA, P. E.; RESENDE, M. L. V.; POZZA, E. A.; MIRANDA, J. C.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; MANERBA, F. C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.059- 063, 2007.

SCOTT, A.; KNOTT, M. A cluster-analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Raleigh, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SHANER, G.; FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox Wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, n.8, p.1051-1056, 1977.

SIDHU, G. S.; WEBSTER, J. M. The use of aminoacid fungal auxotrophs to study the predisposition phenomena in the root-knot: wilt fungus disease complex. **Physiological Plant Pathology**, London, v.11, n.2, p.117-127, 1977.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.3, p.189-196, 2007.

STALL, R. E.; LOSCHKE, D. C.; JONES, J. B. Linkage of copper resistance and avirulence loci on a self-transmissible plasmid in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Phytopathology**, Gainesville, v.76, p.240-243, 1986.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Brasília, v.16, p.265-304, 2008.

TORRES-FILHO, J.; PONTE, J. J.; SILVEIRA-FILHO, J. Oxícloreto de cobre e kasugamicina combinados ou não com poda de limpeza, no controle da bacteriose do maracujá amarelo. **Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.27, n.1-2, p.72-75,1996.

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

VIANA, F. M. P.; FREIRE, F. C. O.; CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C. **Principais Doenças do Maracujazeiro na Região Nordeste e seu Controle**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, p.12, 2003. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 86).

ZACARONI, A. B. **Desenvolvimento de formulações à base de extratos vegetais combinados ou não com ASM, fertilizantes foliares e óleos para o manejo da mancha angular do algodoeiro e do crestamento bacteriano comum do feijoeiro**. 2008. 79f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras. Departamento de Fitopatologia, Lavras, 2008.

#### 4 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA SISTÊMICA MEDIADA POR FITOFORCE COBRE, EXTRATO DE FOLHAS DE JAQUEIRA E ACIBENZOLAR-S-METIL EM MARACUJAZEIRO CONTRA MANCHA BACTERIANA

**RESUMO:** Foram avaliados os efeitos do acibenzolar-S-metil, extrato de folhas de jaqueira e Fitoforce cobre na redução dos sintomas da mancha bacteriana do maracujazeiro, bem como foi determinada a atividade das enzimas peroxidase, quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase, as quais possivelmente estão envolvidas nas respostas de defesa de plantas de maracujazeiro a *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Os tratamentos foram aplicados sete dias antes da inoculação com suspensão bacteriana na concentração de  $10^9$  Unidades Formadoras de Colônias/mL (UFC/mL). O delineamento experimental foi em blocos casualizados. As avaliações de severidade da doença foram realizadas em intervalos de 48 horas após a inoculação. Para obtenção de extrato enzimático e determinação da atividade enzimática de peroxidase, quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase amostras de folhas foram coletadas aos 3, 7, 10 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos. Acibenzolar-S-metil, extrato de folhas de jaqueira e Fitoforce cobre reduziram significativamente a severidade da mancha bacteriana do maracujazeiro, sendo o melhor tratamento para o controle da doença proporcionado pelo acibenzolar-S-metil. As aplicações de acibenzolar-S-metil, Fitoforce cobre e extrato de folhas de jaqueira aumentaram a atividade das enzimas peroxidase, quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase.

**Palavras-chave:** Indução de Resistência, Proteínas Relacionadas à Patogênese, Peroxidase, Quitinase,  $\beta$ -1,3-Glucanase.

**ABSTRACT:** The effects of acibenzolar-S-methyl, jackfruit leaf extract and Fitoforce copper were evaluated in reducing symptoms of bacterial spot of passion fruit, and the activity of peroxidase, chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase were determined. The treatments were applied seven days before inoculation of bacterial suspension at a concentration of  $10^9$  CFU / mL. The experimental design was randomized blocks. Evaluations of disease severity were made at intervals of 48 hours after inoculation. To obtain the enzymatic extracts and determination of enzymatic activity of chitinase, peroxidase,  $\beta$ -1,3-glucanase, leaf samples were collected at 3, 7, 10 and 14 days after treatment application. The acibenzolar-S-methyl, jackfruit leaf extract and Fitoforce copper significantly reduced the severity of bacterial spot of passion fruit, the best treatment for the bacterial disease control was provided by acibenzolar-S-methyl. The applications of acibenzolar-S-methyl, Fitoforce copper and jackfruit leaf extract increased the activity of peroxidase, chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase.

**Keywords:** Induced resistance, Pathogenesis related proteins, Chitinase, Peroxidase,  $\beta$ -1,3-Glucanase.



## 4.1 INTRODUÇÃO

A resistência induzida ativa mecanismos de defesa da planta, evitando ou atrasando a entrada ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos. (BONALDO et al., 2005; CAVALCANTI et al., 2006b), está relacionada a mecanismos latentes de defesa da planta, que são ativados em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (PASCHOLATI; LEITE, 1995). O estado induzido é caracterizado pela presença de proteínas relacionadas à patogênese, enzimas envolvidas na rota da síntese de fitoalexinas e o acúmulo de lignina em tecidos adjacentes ao sítio de infecção do patógeno, que fazem parte da expressão de genes que codificam diversas respostas de defesa a patógenos nas plantas (DURRANT; DONG, 2004).

Trabalhos têm demonstrado a viabilidade do emprego de indutores de resistência no controle a bacterioses em diversas culturas, como feijão, melão, tomate, maracujá, entre outros (BAYSAL, 2003; CAVALCANTI, et al., 2006b; SALES JÚNIOR et al., 2007; BORO, 2011), podendo estar relacionado com o aumento da atividade das enzimas envolvidas nas respostas de defesa de plantas (BAYSAL; ZELLER, 2005; CAVALCANTI et al., 2006b).

Aumento da atividade de quitinase foi detectado por Cavalcanti et al. (2006a) em plantas pulverizadas com água e sem inoculação de *X. vesicatoria*, logo à primeira hora após a pulverização de tomateiros com ASM, Ecolife, suspensão de quitosana proveniente de micélio de *Crinipellis pernicioso* (MCp) e extrato aquoso de ramos de lobeira infectados por *C. pernicioso* (VLA). Os mesmos autores também observaram aumento na atividade de  $\beta$ -1,3-glucanase nas plantas tratadas com ASM e VLA em iguais condições. Baysal et al. (2003), Cavalcanti et al. (2006a) e Silva et al., (2007) verificaram aumento na atividade da enzima peroxidase em tomateiros induzidos à resistência pelo ativador ASM em plantas desafiadas por *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis*, *X. vesicatoria* e *Ralstonia solanacearum*, respectivamente.

Além do fator ambiental, com a utilização de produtos menos tóxicos ao meio ambiente, a proteção contra amplo espectro de patógenos faz da resistência induzida uma opção adicional para o agricultor, sendo complementar à resistência genética e ao uso de fungicidas contra um amplo espectro de patógenos (ISHIDA et al., 2008).

Assim, os objetivos deste trabalho foram avaliar os efeitos do acibenzolar-S-metil, extrato de folhas de jaqueira e Fitoforce cobre na redução dos sintomas da mancha bacteriana do maracujazeiro, bem como determinar a atividade das enzimas peroxidase, quitinase e  $\beta$ -

1,3-glucanase, nas respostas de defesa de plântulas de maracujazeiro a *X. axonopodis* pv. *passiflorae*.

## 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram instalados no Laboratório de Fitopatologia e em casa-de-vegetação da Embrapa Amazônia Oriental, Belém – PA.

### 4.2.1 Origem, isolamento e preservação do patógeno

O isolado de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* foi obtido a partir de folhas de maracujazeiro apresentando lesões típicas de mancha bacteriana, provenientes do município de Igarapé-Açu, PA. O isolamento foi realizado em meio 523 de Kado e Heskett (1970), pelo método de estrias paralelas e posterior incubação por 48 h a 28 °C. O isolado se encontra preservado em água destilada esterilizada (PEREIRA et al., 1970) no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Amazônia Oriental.

### 4.2.2 Efeitos de Fitoforce Cobre, Extrato de folhas de jaqueira e Acibenzolar-S-Metil no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação

Foram avaliados os efeitos de Fitoforce Cobre (100 mL/L), extrato de folhas de jaqueira – EFJ (1%) e acibenzolar-S-metil – ASM (0,2 g/L) na indução de resistência sistêmica a mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação. A aplicação dos tratamentos foi realizada sete dias antes da inoculação do patógeno, pulverizando-se as mudas até o ponto de escorrimento. Plantas da testemunha foram pulverizadas com água de torneira. A inoculação de *X. axonopodis* pv. *passiflorae* foi realizada, pulverizando-se a face inferior das folhas com suspensão bacteriana na concentração de  $10^9$  Unidades Formadoras de

Colônias/mL (UFC/mL). Após a inoculação, as plântulas foram mantidas por 24 h em câmara úmida.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 4 tratamentos e 4 repetições com 2 plantas/repetição. As avaliações de severidade da doença foram realizadas aos 2, 4, 6, 8, 10, e 12 dias após a inoculação do patógeno. Para avaliação da severidade foi utilizada uma adaptação da escala de avaliação de Sidhu e Webster (1977). Os valores obtidos foram integrados para obter a AACPD (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença) utilizando-se a seguinte equação:  $AACPD = S((Y_i + Y_{i+1}) / 2) (t_{i+1} - t_i)$ , onde Y representa a intensidade da doença, t o tempo e i o número de avaliações de campo (SHANER; FINNEY, 1977). Em seguida, foi realizada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

Após a última avaliação da severidade, aos 12 dias após a inoculação do patógeno, plantas foram coletadas e levadas ao Laboratório de Fitopatologia, onde o sistema radicular foi lavado para a retirada de solo. Em seguida, as plantas foram secas em papel toalha e pesadas em balança analítica, obtendo-se assim, o peso da massa fresca (MF). A seguir, as plantas foram acondicionadas em sacos de papel e levadas à estufa de circulação de ar forçado regulada a 60 °C, onde permaneceram até peso constante, e então, foram pesadas novamente em balança analítica. Desta forma, foi mensurado o peso da massa seca (MS) e os resultados expressos em gramas. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e as médias discriminadas pelo teste de Scott-Knott (1974) para comparação de médias, em nível de 5% de significância.

#### **4.2.3 Atividades de enzimas envolvidas nas respostas de defesa de plantas de maracujazeiro**

Foram semeadas seis sementes de maracujá por vaso, porém apenas duas plantas foram mantidas após a emergência. As plantas permaneceram na mesma casa-de-vegetação utilizada no experimento de quantificação da mancha bacteriana, com condições similares. O delineamento experimental foi em blocos casualizados, com 8 tratamentos e 4 repetições com 4 plantas/repetição. A análise de variância foi realizada para cada variável e as médias comparadas pelo teste de Scott e Knott (1974) a 5% de probabilidade.

Para a determinação das atividades enzimáticas foram utilizados os seguintes tratamentos:

- 1) Pulverização foliar com Acibenzolar-S-Metil + Inoculação
- 2) Pulverização foliar com Acibenzolar-S-Metil
- 3) Pulverização foliar com Fitoforce Cobre + Inoculação
- 4) Pulverização foliar com Fitoforce Cobre
- 5) Pulverização foliar com Extrato de folhas de jaqueira + Inoculação
- 6) Pulverização foliar com Extrato de folhas de jaqueira
- 7) Testemunha inoculada
- 8) Testemunha absoluta

#### 4.2.3.1. Preparo das amostras para determinação das atividades enzimáticas

As amostras de folhas para a realização das análises bioquímicas foram coletadas durante o período da manhã, 3, 7, 10 e 14 dias após a aplicação dos tratamentos. Cada amostra foi devidamente identificada, acondicionada em papel alumínio e imediatamente colocada em caixa de isopor com nitrogênio líquido e, posteriormente, armazenadas em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

O preparo dos extratos para cada amostra congelada foi realizado manualmente, mediante maceração individual em nitrogênio líquido, com auxílio de pistilo e almofariz de porcelana, mantidos resfriados durante o processo. As amostras foram homogeneizadas em tampão acetato de sódio 50 mM, pH 5, gelado, na proporção de 1g para 10 mL de tampão. O extrato obtido foi filtrado em gaze, transferido para tubos plásticos de 2 mL e centrifugado a 10.000 g a  $4^{\circ}\text{C}$ , por 15 minutos, o sobrenadante obtido foi armazenado em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  e considerado como extrato enzimático para a determinação da atividade de peroxidase, quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanase e o conteúdo protéico.

#### 4.2.3.2 Determinação de proteínas totais

A quantificação do conteúdo total de proteínas nas amostras foi determinada utilizando albumina bovina como padrão (BRADFORD, 1976). Foram adicionados a cada 10

$\mu\text{L}$  de amostra, 790  $\mu\text{L}$  de água Milli-Q e 200  $\mu\text{L}$  do reagente de Bradford. Após a incubação por 5 minutos em temperatura ambiente, foi efetuada a leitura da absorbância a 595 nm em espectrofotômetro. A concentração de proteínas foi expressa em mg de proteína/mL do extrato total.

#### 4.2.3.3 Atividade de peroxidases

A atividade de peroxidases foi determinada pela adição de 50  $\mu\text{L}$  do extrato da planta, ajustado para 1 mL de solução contendo 450  $\mu\text{L}$  acetato de sódio 50 mM pH 5,2, 250  $\mu\text{L}$  de guaiacol 20 mM e 250  $\mu\text{L}$  peróxido de hidrogênio 60 mM. Após incubação a 30 °C, por 10 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 480 nm (URBANEK et al., 1991). Os resultados foram expressos em unidade de absorbância por miligrama de proteína por minuto (UA mgP/min). Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 4.2.3.4 Atividade de quitinases

A atividade de quitinases foi determinada pela adição de 70  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático à solução com 130  $\mu\text{L}$  de acetato de sódio 50 mM pH 5,2 e 60  $\mu\text{L}$  de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta (CM-Chitin-RBV 2 mg/mL), substrato específico para quitinase fornecido por Loewe Biochemica GmbH, em microplacas de 96 cavidades. Após incubação a 35 °C, por 80 min, a reação foi paralisada com a adição 50  $\mu\text{L}$  de solução de HCl 0,5 N, seguida de resfriamento em gelo por 10 min e centrifugadas (10.000 g por 5 min). Alíquota de 210  $\mu\text{L}$  do sobrenadante de cada amostra foi transferida para uma microplaca para determinação da absorbância a 492 nm, em um leitor EIA - compatível (WIRTH; WOLF, 1990), tendo-se tampão de extração na cubeta de referência, em substituição ao extrato enzimático. Os resultados foram expressos em unidade de absorbância por miligrama de proteína por minuto (UA mgP/min). Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

#### 4.2.3.5 Atividade de $\beta$ -1,3-glucanases

Para a determinação espectrofotométrica da atividade de  $\beta$ -1,3-glucanase nos extratos, foi procedido de modo análogo ao da quitinase, apenas trocando o substrato para uma solução de carboximetilcurdlan-remazol brilhante azul (CM-Curdlan-RBB 4 mg/ mL, LOEWE Biochemica GmbH). Para promover a ação hidrolítica de  $\beta$ -1,3-glucanase foi adotado tempo de incubação de 35 °C por 100 min. Em seguida, as amostras foram acidificadas com 50  $\mu$ L de HCl 0,5 N, resfriadas em banho de gelo por 10 minutos e centrifugadas (10.000 g/5 min), (WIRTH; WOLF, 1990). O sobrenadante teve sua absorbância medida em filtro de 620 nm de um leitor EIA. Os resultados foram expressos em unidade de absorbância por miligrama de proteína por minuto (UA mgP/min). Os ensaios foram realizados em duplicata.

### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

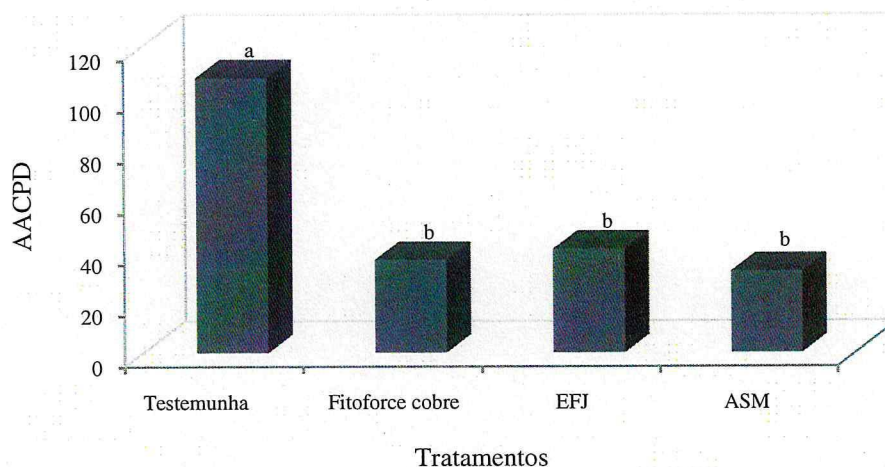
#### 4.3.1 Efeitos de Fitoforce Cobre, Extrato de folhas de jaqueira e Acibenzolar-S-Metil em maracujazeiro contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* em casa-de-vegetação

Todos os tratamentos proporcionaram redução significativa na severidade da mancha bacteriana em relação à testemunha, não diferindo entre si (Figura 6). ASM proporcionou 70,37% de controle em relação à testemunha, Fitoforce cobre e EFJ controlaram 66,12 e 62,18%, respectivamente.

O indutor de resistência ASM é comumente utilizado no controle de bacterioses, tendo sido relatado em ensaios em casa-de-vegetação, conferindo redução na severidade de doenças em tomateiro, feijoeiro e algodoeiro (CAVALCANTI, 2006a; 2006b; ISHIDA et al., 2008; KUHN; PASCHOLATI, 2010).

A redução no progresso da doença com a aplicação de Fitoforce cobre, está de acordo com a hipótese da presença de elicitores derivados do tecido do cafeeiro infectado por *Hemileia vastatrix*, ligados a respostas de defesa da planta, (GUZZO et al., 1987) e também de componentes existentes na fração solúvel da casca de frutos de café, como carboidratos e

proteínas, entre outros, que podem atuar induzindo respostas de defesa vegetal (PASCHOLATI; LEITE, 1994).



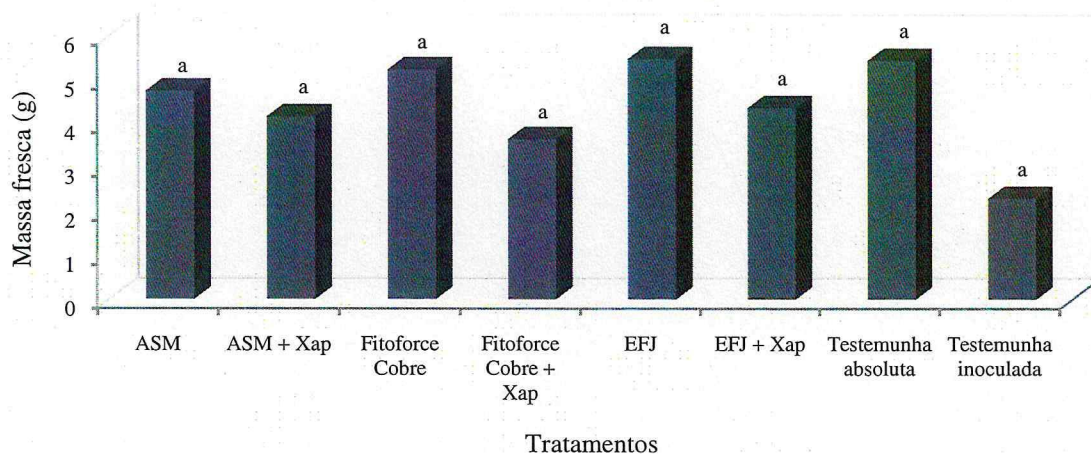
**Figura 6-** Efeito de Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ) e Acibenzolar-S-Metil (ASM) sobre a severidade (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença - AACPD) da mancha bacteriana do maracujazeiro em casa-de-vegetação. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade. CV: 17,33%

Romero et al. (2001) citam trabalhos em que plantas tratadas com indutor de resistência apresentaram maiores produções que plantas não tratadas, na presença de patógenos, mas menores produções na ausência de patógenos, ou seja, há um gasto energético durante as respostas de defesa das plantas, o qual não é significativo na presença de patógenos.

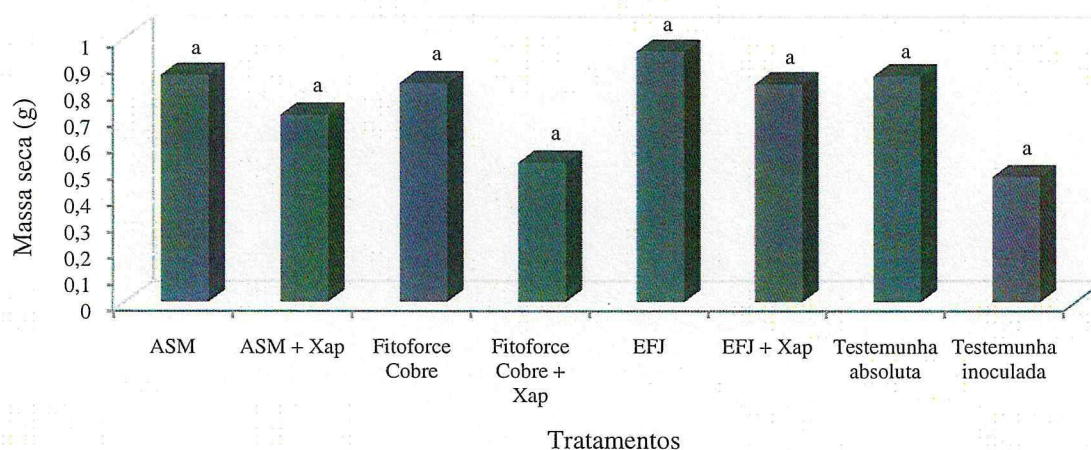
No presente estudo, quando se avaliou o teor de massa fresca e seca de mudas de maracujazeiro tratadas com Fitoforce cobre, EFJ e ASM, foi verificado que não houve diferença significativa entre os tratamentos aplicados, seguidos ou não de inoculação (Figuras 7 e 8), não havendo alteração no comportamento de rendimento de plantas de maracujazeiro, podendo-se inferir que, neste caso, apesar da alteração da relação planta-patógeno, não houve interferência no crescimento. Resultados semelhantes foram encontrados por Iriti e Faoro (2003) em experimento com feijoeiro em casa-de-vegetação, onde a aplicação de ASM não proporcionou diferenças na taxa de crescimento.

Durante o processo de indução de resistência a ativação de defesa da planta pode gerar gastos de energia que podem tornar a planta menos produtiva. Heil et al. (2000) relataram esse custo trabalhando com trigo induzido por ASM em dose única (150 mg i.a./L), observando

redução no crescimento das plantas. Segundo esses autores, a produção de enzimas pode competir com proteínas necessárias aos processos básicos da planta, o que pode comprometer seu crescimento. No entanto, o presente trabalho não mostra evidências de um custo mensurável associado ao patossistema *X. axonopodis* pv. *passiflorae* e maracujazeiro amarelo. O comportamento diferenciado entre as culturas, em termos de custo adaptativo associado aos tratamentos, pode ser devido a diferentes necessidades nutricionais para manter o metabolismo primário durante a ativação da resistência induzida.



**Figura 7** - Efeito da aplicação de Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ), seguidos ou não da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* no teor de massa fresca de mudas de maracujazeiro. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (1974) a 5% de probabilidade. CV: 27,87%



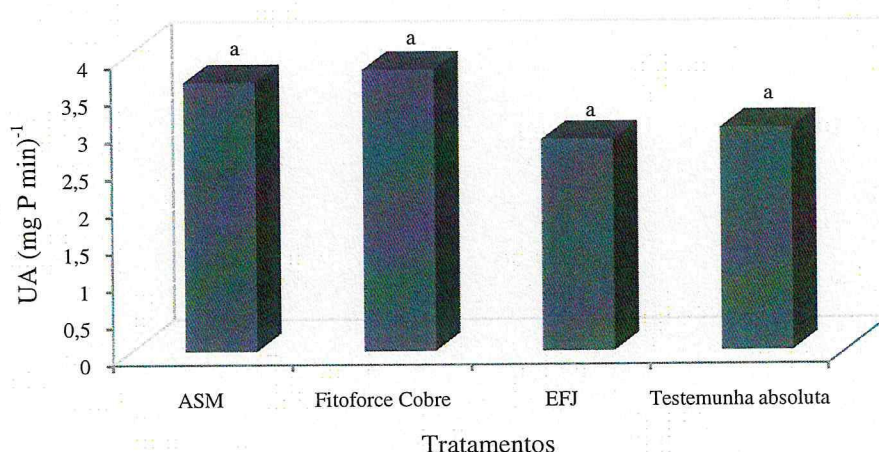
**Figura 8** - Efeito da aplicação de Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ), seguidos ou não da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* no teor de massa seca de mudas de maracujazeiro. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott (1974) a 5% de probabilidade. CV: 40,82



## 4.3.2 Atividades de enzimas envolvidas nas respostas de defesa de plantas de maracujazeiro

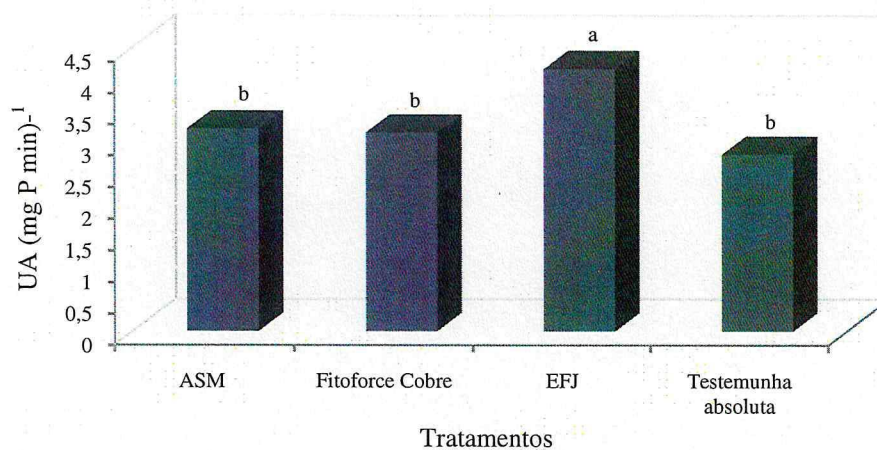
### 4.3.2.1 Atividade de peroxidases

Verificou-se que na primeira coleta, realizada 3 dias após a aplicação dos tratamentos (DAP), a atividade da enzima foi similar em todos os tratamentos, não havendo diferença significativa (Figura 9).

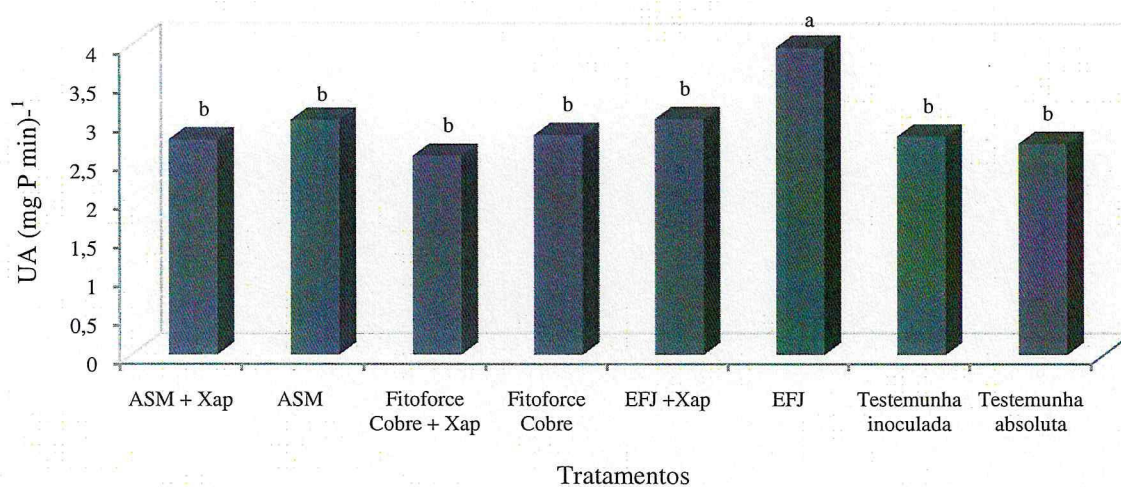


**Figura 9-** Atividade de peroxidases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 3 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ) e testemunha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

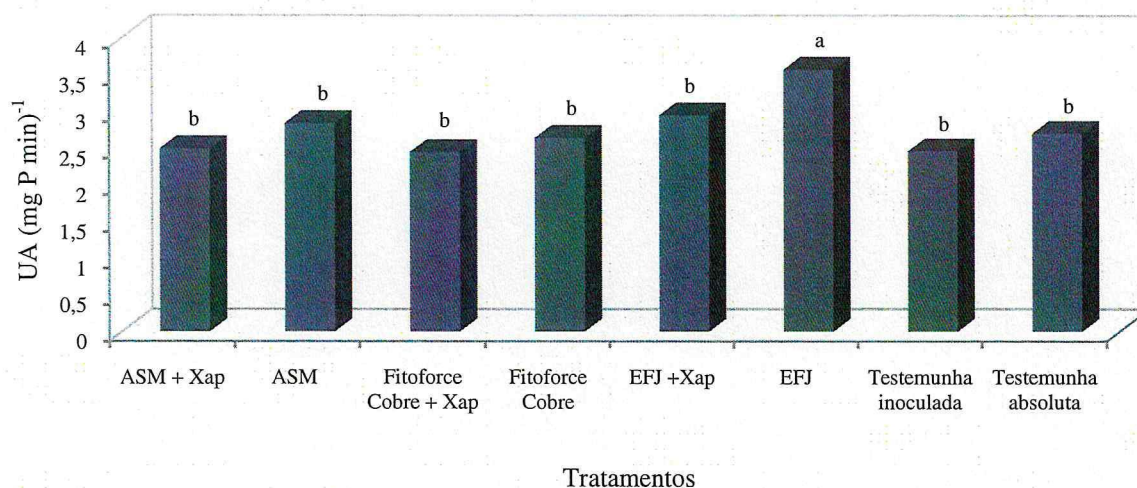
No entanto, na segunda, terceira e quarta coletas, aos 7, 10 e 14 DAP respectivamente, foi observado que somente as plantas tratadas com o extrato de folhas de jaqueira apresentaram atividade de peroxidases significativamente maior que a testemunha absoluta e inoculada, enquanto que os demais tratamentos não diferiram significativamente da testemunha (Figuras 10, 11, 12 e 13).



**Figura 10** - Atividade de peroxidases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 7 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ) e testemunha. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.



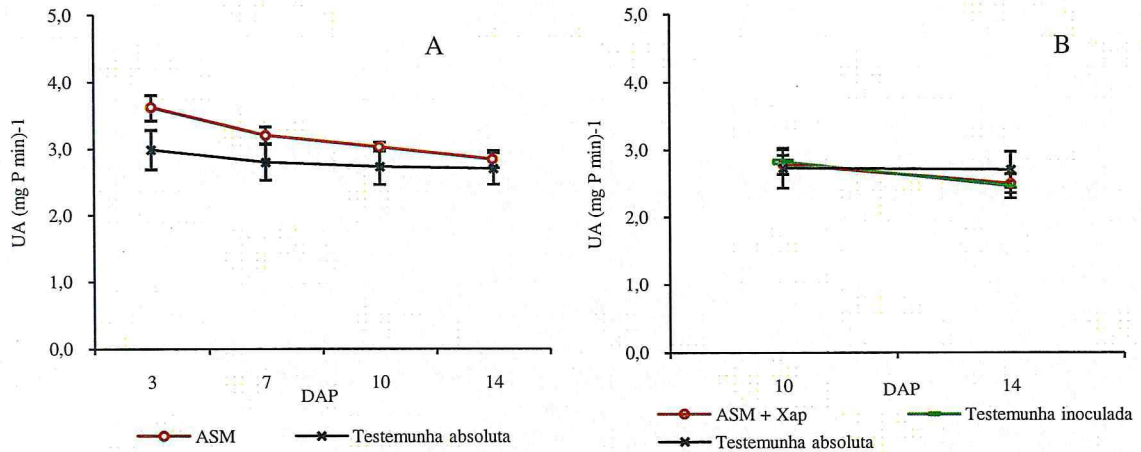
**Figura 11** - Atividade de peroxidases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 10 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ) e testemunha, seguidos ou não da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.



**Figura 12** - Atividade de peroxidases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 14 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ), seguidos ou não da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

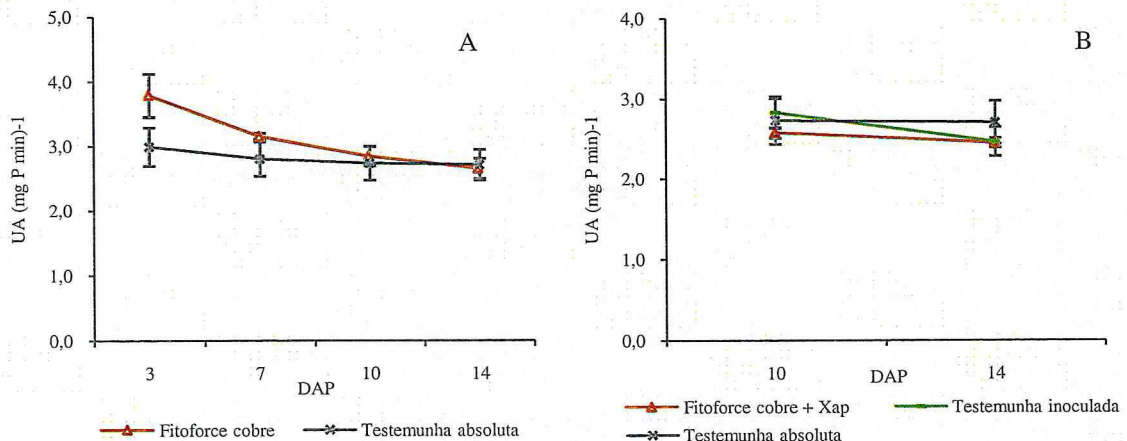
A atividade de peroxidases em plantas tratadas com ASM não apresentou aumento significativo em relação à testemunha absoluta e inoculada (Figura 13A e B). O aumento na atividade da enzima foi mais acentuado, apenas em termos numéricos, aos 3 dias após a aplicação do tratamento, com redução gradativa a partir de 7 DAP, não diferindo significativamente da testemunha absoluta (Figura 13A). Também não foi constatada diferença significativa entre as plantas tratadas com ASM e inoculadas em relação à testemunha inoculada aos 10 e 14 DAP (Figuras 11, 12).

Em ensaios conduzidos por Silva et al. (2007) em tomateiro, a atividade de peroxidases foi aumentada em relação ao controle 3 dias após o tratamento com ASM. Cavalcanti et al. (2006a), ao trabalhar com o patossistema tomateiro e *X. vesicatoria*, também constataram aumento da atividade da enzima peroxidase após a pulverização com o ASM. Kilic-Ekici e Yuen (2004) observaram maior atividade de peroxidase em plantas de *Festuca aurundinacea* 5 dias após a aplicação de ASM, enquanto que Ishida et al. (2008) trabalhando com plantas de algodoeiro, detectou atividade máxima de peroxidases aos 14 dias após a aplicação dos tratamentos, assim, constata-se que a atividade máxima de peroxidases, induzida por ASM, pode variar de acordo com a espécie de planta estudada.



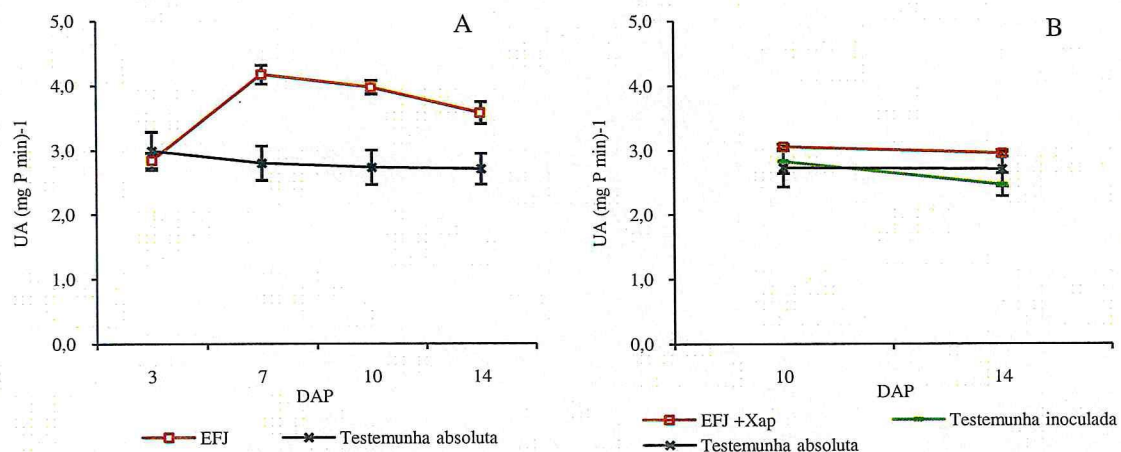
**Figura 13** - Atividade de peroxidases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Acibenzolar-S-Metil (ASM) (A), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (B). As barras representam o desvio padrão.

Com a aplicação do Fitoforce cobre, a atividade de peroxidases em mudas de maracujazeiro foi semelhante à observada em plantas pulverizadas com ASM seguidas ou não de inoculação, as quais não apresentaram diferença significativa nas coletas realizadas (Figuras 9, 10, 11, 12, 14A e B). Em ambos os tratamentos não foi observada tendência de aumento de atividade desta enzima em função das diferentes datas de coleta.



**Figura 14** - Atividade de peroxidases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Fitoforce Cobre (A), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (B). As barras representam o desvio padrão.

A atividade da enzima peroxidase em plantas de maracujazeiro após tratamento com extrato de folhas de jaqueira foi estatisticamente superior aos outros tratamentos a partir da segunda coleta e apresentou pico de produção 7 DAP (Figuras 10, 15A), para logo em seguida apresentar queda gradativa. O aumento desta enzima somado a redução dos sintomas na planta (Figura 6) demonstram evidências da ativação dos mecanismos de defesa das plantas de maracujazeiro *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, essa indução pode ter ocorrido em razão da rapidez de acúmulo da enzima nessa cultivar, que é susceptível à esse patógeno. De acordo com Anterola e Lewis (2002) as peroxidases geralmente têm sua atividade aumentada em resposta a condições de estresse, ataque de patógenos e tratamento com indutores.

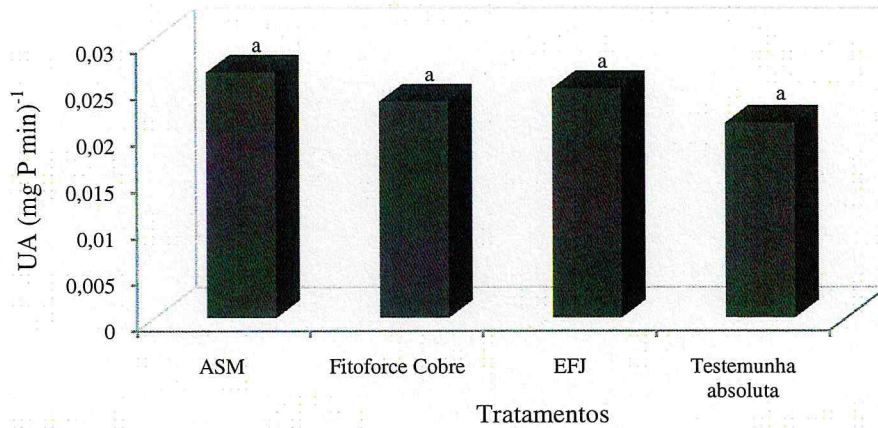


**Figura 15** - Atividade de peroxidases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Extrato de folhas de jaqueira (EFJ), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (B). As barras representam o desvio padrão.

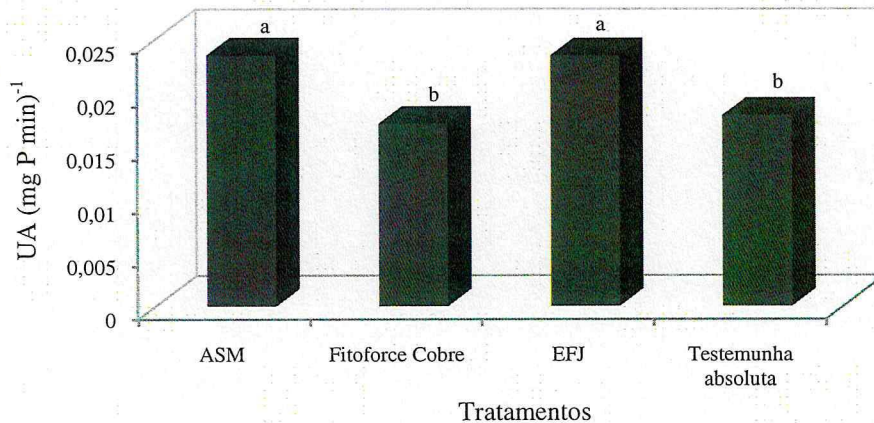
#### 4.3.2.2 Atividade de quitinasases

Quanto à atividade de quitinasases, na primeira coleta (3 DAP) não houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 16). No entanto, esta diferença passou a ser significativa na segunda coleta, quando foi verificada elevada atividade de quitinasases em plantas tratadas com ASM e extrato de folhas de jaqueira, diferindo do Fitoforce cobre e da testemunha absoluta (Figura 17). Após a inoculação, 10 dias após a aplicação dos tratamentos, apenas os tratamentos Fitoforce cobre seguidos ou não de inoculação com *X. axonopodis* pv. *passiflorae* apresentaram-se inferiores às testemunhas, já os demais tratamentos mostraram

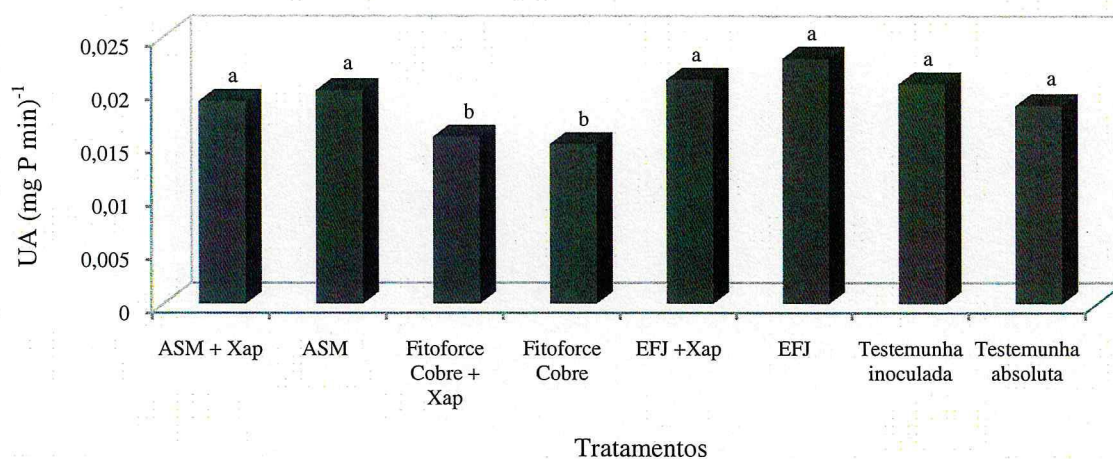
desempenho similar ao observado nas testemunhas (Figura 18). Na última coleta, somente Fitoforce cobre mostrou-se significativamente inferior à testemunha absoluta (Figura 19). Segundo Van Loon e Pieterse (2006), pesquisas mostram que a super expressão de genes da enzima quitinase, está relacionada ao aumento da resistência dessas plantas a patógenos, uma vez que a enzima catalisa a hidrólise dos polímeros quitina, podendo apresentar atividade antimicrobiana.



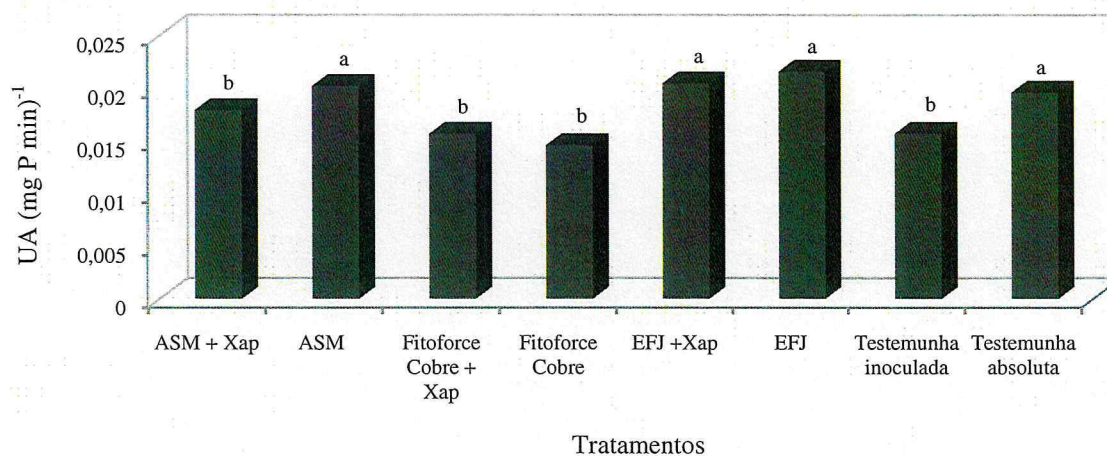
**Figura 16** - Atividade de quitinases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 3 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.



**Figura 17** - Atividade de quitinases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 7 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

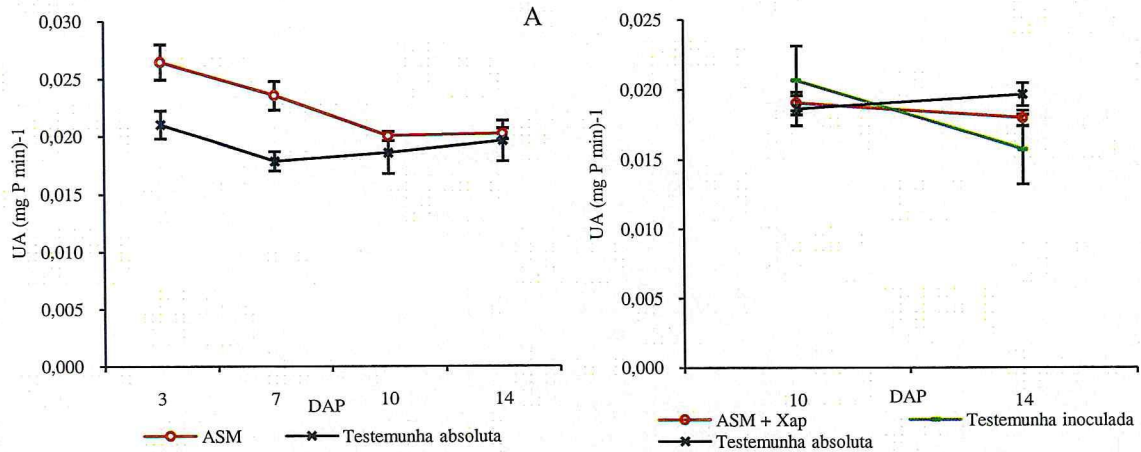


**Figura 18** - Atividade de quitinases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 10 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ) e testemunha, seguidos ou não da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.



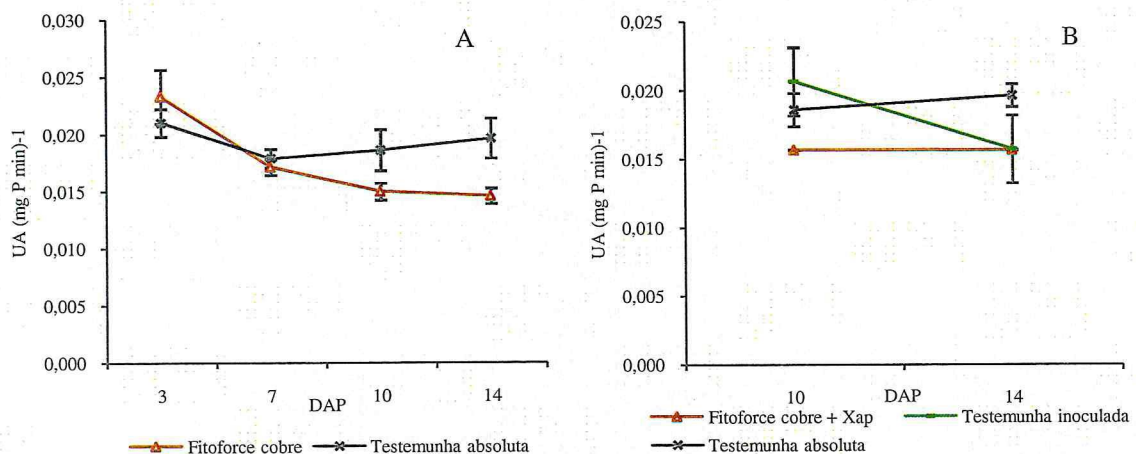
**Figura 19** - Atividade de quitinases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 14 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ) e testemunha, seguidos ou não da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

No tratamento com ASM, a maior atividade de quitinase ocorreu aos 3 DAP (Figura 16 e 20A), entretanto, ASM foi estatisticamente superior à testemunha absoluta e B s aos 7 DAP, para logo em seguida apresentar redução de atividade (Figuras 17, 20A). O aumento da atividade da enzima pode estar ligado à capacidade do ASM em ativar mecanismo de defesa da planta, como a atividade hidrolítica da quitinase. Para as plantas tratadas com o indutor, seguidas de inoculação, não foi constatada diferença significativa nas coletas realizadas (Figuras 18, 19, 20B).



**Figura 20** - Atividade de quitinases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Acibenzolar-S-Metil (ASM) (A), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (B). As barras representam o desvio padrão.

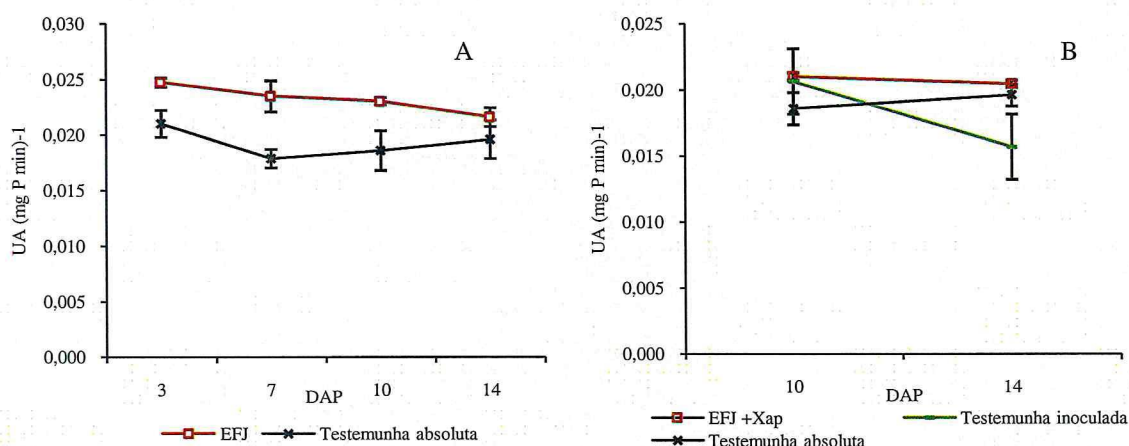
Ainda que as plantas tratadas com Fitoforce cobre tenham apresentado atividade máxima de quitinases aos 3 DAP, essa diferença não foi significativa (Figuras 16, 21A). Aos 7 DAP este tratamento foi o único que não diferiu da testemunha absoluta (Figura 17), o que não se repetiu 10 DAP (Figura 18), quando foi superado estatisticamente pela testemunha absoluta até a última coleta, sendo este, portanto, o tratamento que apresentou o pior desempenho juntamente com Fitoforce cobre seguido de inoculação, o qual mostrou resultados semelhantes na terceira coleta, mostrando atividade similar à observada na testemunha aos 14 DAP (Figuras 19, 21B).



**Figura 21** - Atividade de quitinases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Fitoforce Cobre (A), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (B). As barras representam o desvio padrão



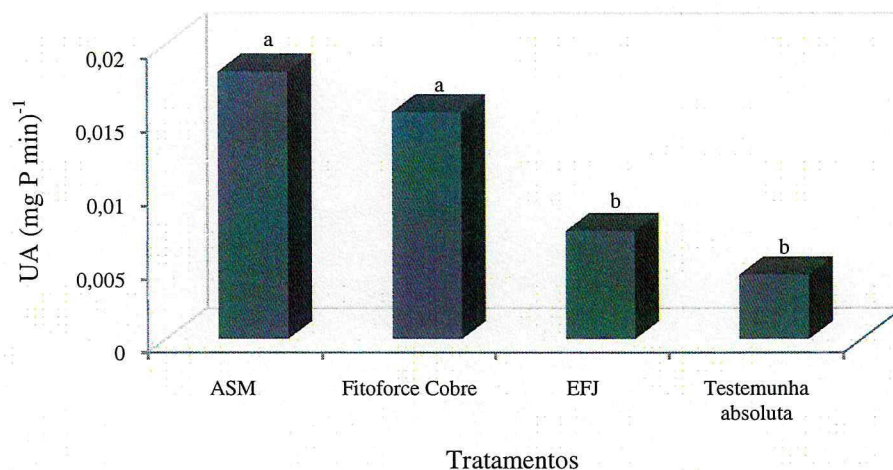
A atividade de quitinases em plantas tratadas com extrato de folhas de jaqueira diferiu da testemunha absoluta apenas aos 7 DAP (Figura 17), no entanto, mostrou-se numericamente superior aos demais tratamentos até a última coleta (Figuras 18, 19, 22A), o mesmo foi visualizado nas plantas inoculadas (Figuras 18, 19, 22B). Cavalcanti et al (2006a) também detectaram aumento significativo na atividade de quitinases em folhas de tomateiro, porém, este aumento foi verificado logo à primeira hora após a pulverização com Ecolife e ASM.



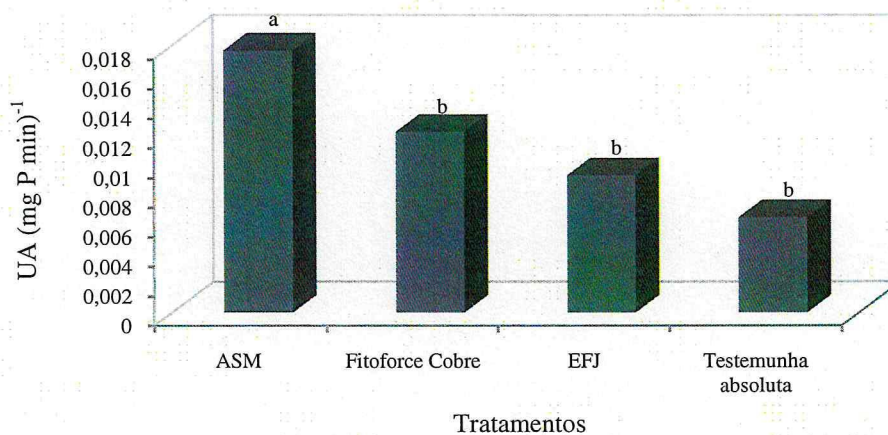
**Figura 22** - Atividade de quitinases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Extrato de folhas de jaqueira (EFJ) (A), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. As barras representam o desvio padrão.

#### 4.3.2.3 Atividade de $\beta$ -1,3-glucanases

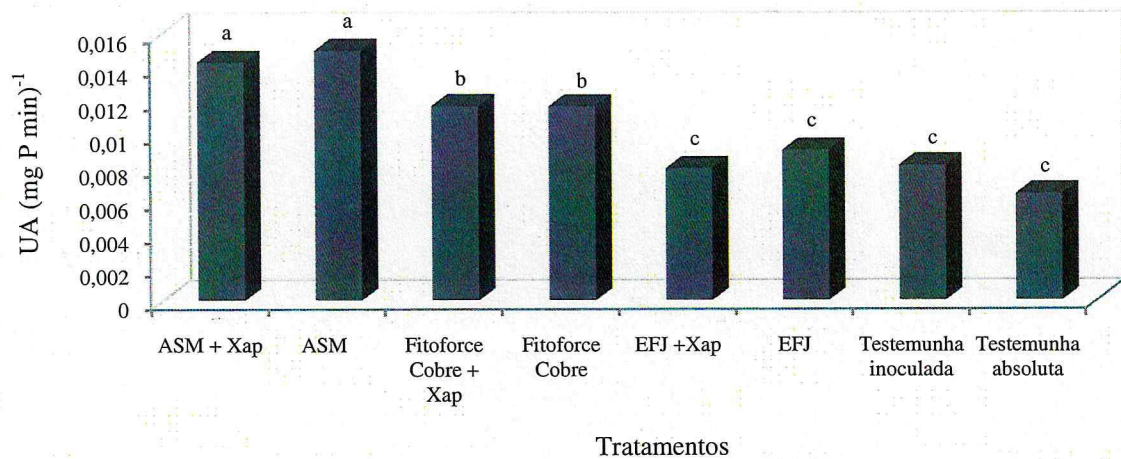
A atividade da enzima  $\beta$ -1,3-glucanase 3 DAP (primeira coleta) foi superior nas plantas tratadas com ASM e Fitoforce cobre (Figura 23). Na segunda coleta, realizada 7 DAP, somente ASM apresentou diferença significativa em relação aos demais tratamentos (Figura 24). Após a inoculação com *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, aos 10 DAP, verificou-se aumento na atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases nas plantas tratadas com ASM e Fitoforce cobre, seguidas ou não de inoculação, em relação à testemunha inoculada e não inoculada (Figura 25), enquanto que na quarta coleta somente o tratamento ASM, seguido ou não de inoculação, apresentou diferença estatística em relação às testemunhas, juntamente com o tratamento Fitoforce cobre seguido de inoculação (Figura 26).



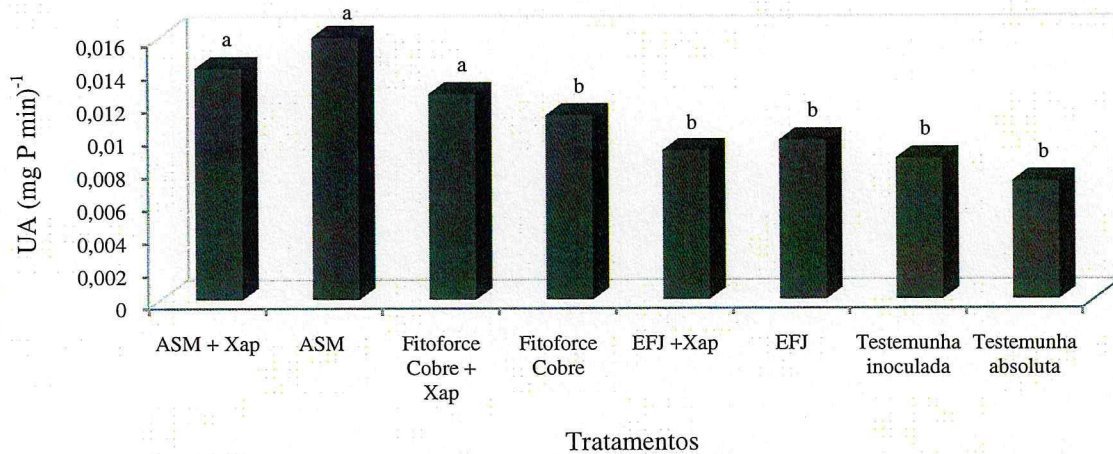
**Figura 23** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 3 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.



**Figura 24** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 7 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre, Extrato de folhas de jaqueira (EFJ). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.



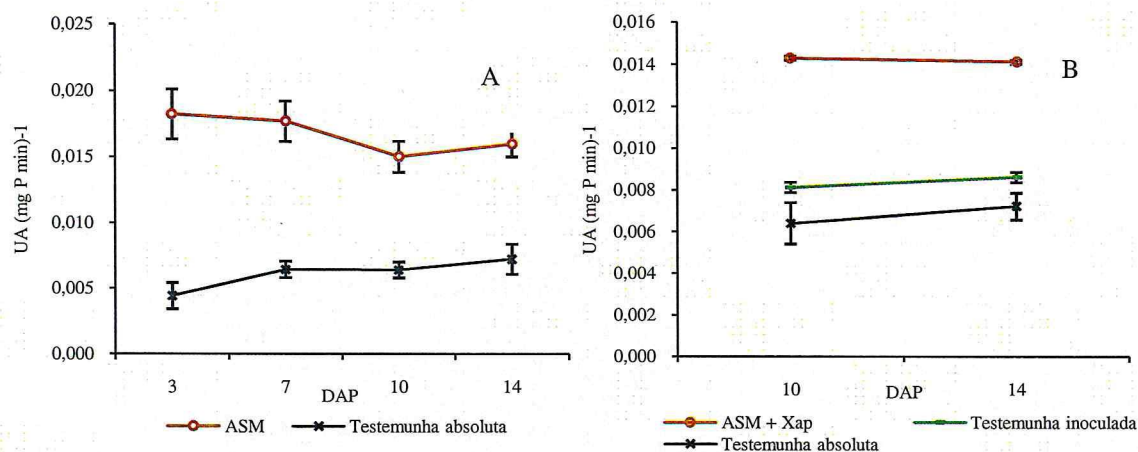
**Figura 25** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 10 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre e Extrato de folhas de jaqueira (EFJ), seguidos ou não da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.



**Figura 26** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases determinada em amostras de plantas de maracujazeiro, aos 14 dias após aplicação dos tratamentos (DAP) com Acibenzolar-S-Metil (ASM), Fitoforce cobre e Extrato de folhas de jaqueira (EFJ), seguidos ou não da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

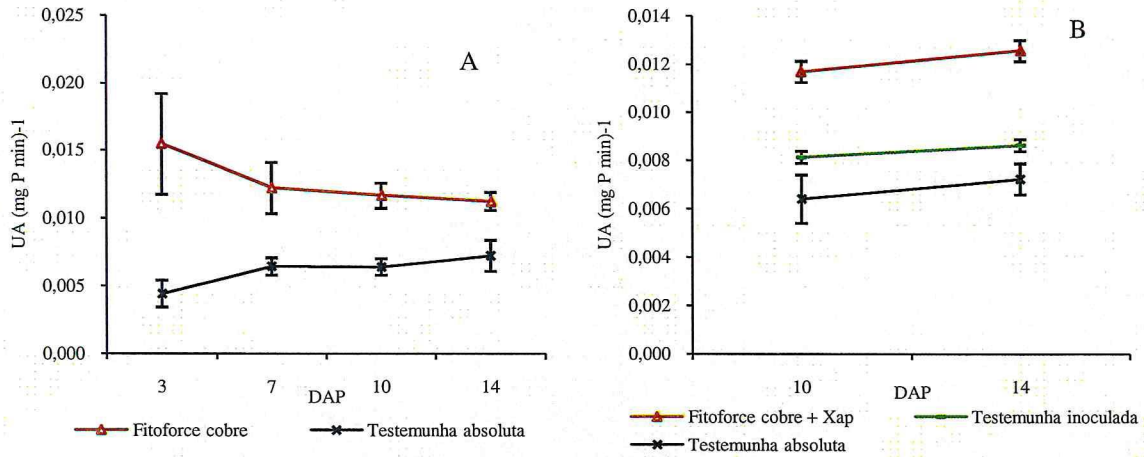
Paralelamente à redução da severidade da mancha bacteriana pela aplicação de ASM (Figura 6), o mesmo foi responsável pela atividade mais acentuada de  $\beta$ -1,3-glucanases, apresentando pico de produção aos 3 DAP, sendo o único tratamento no qual foi observada diferença estatística em relação à testemunha absoluta e inoculada em todas as coletas realizadas (Figuras 23, 24, 25, 26, 27A e B). Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que o aumento de atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases promovido por ASM está positivamente correlacionado com a resistência sistêmica, induzida por esse composto, o que

pode ter sido determinante para a sua eficiência no controle da mancha bacteriana do maracujazeiro. Cavalcanti et al. (2006a) constataram que o aumento da atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases e peroxidases são os primeiros indicativos da ativação de respostas de defesa das plantas, a partir da aplicação do eliciador.



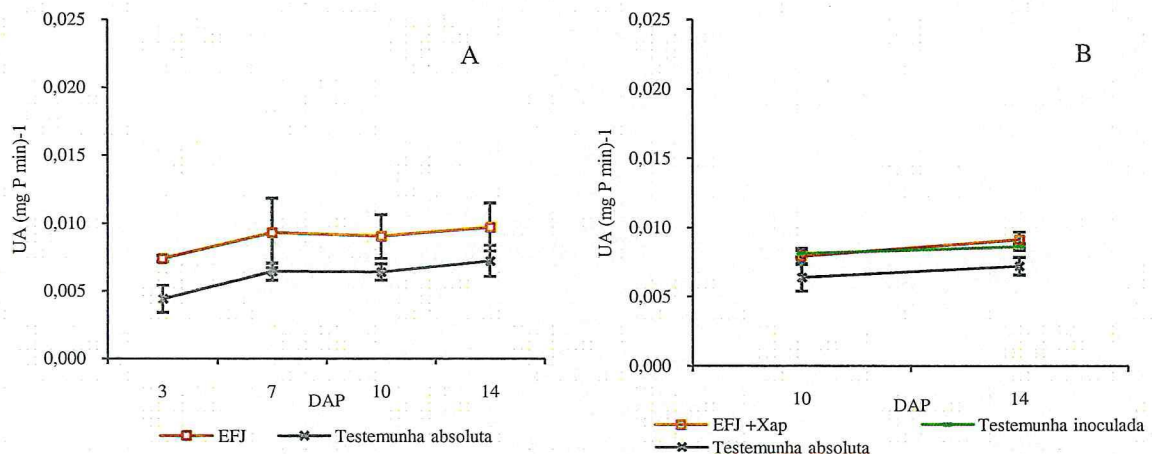
**Figura 27** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Acibenzolar-S-Metil (ASM) (A), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (B). As barras representam o desvio padrão

A expressão da enzima  $\beta$ -1,3-glucanase em plantas tratadas com Fitoforce cobre foi maior que a testemunha absoluta aos 3 e aos 10 DAP (Figuras 23, 25, 28A). Após a inoculação com *X. axonopodis* pv. *passiflorae*, as mudas de maracujazeiro que foram tratadas previamente com Fitoforce cobre, apresentaram níveis de  $\beta$ -1,3-glucanases superiores aos da testemunha inoculada aos 10 e 14 DAP (Figuras 25, 26, 28B). O aumento de  $\beta$ -1,3-glucanases também foi observado por Ishida et al. (2008), que verificaram que as plantas de algodoeiro tratadas com ASM apresentaram maior atividade desta enzima 14 dias após aplicação dos tratamentos. Plantas de feijão tratadas com ASM também apresentaram aumento na atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases, porém, decorridos 14 dias, o nível de atividade retornava a valores próximos ao controle (KHUN, 2006).



**Figura 28** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Fitoforce Cobre (A), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* (B). As barras representam o desvio padrão.

Plantas pulverizadas com extrato de folhas de jaqueira, seguidas ou não de inoculação, não diferiram significativamente da testemunha absoluta ou inoculada (Figura 23, 24, 25, 26, 29A e B). No entanto, ainda que apenas numericamente, a atividade desta enzima aumentou gradativamente a partir da segunda coleta, com atividade máxima constatada aos 14 DAP (Figuras 26, 29A e B), mostrando tendência em elevar a atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases. O controle de bacterioses com extratos de origem vegetal foram descritos por Kuhn et al. (2006) e Baysal e Zeller (2005). De acordo com Baysal e Zeller (2005) o bom desempenho de extratos pode estar relacionado ao aumento na atividade de PRPs.



**Figura 29** - Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases determinada em amostras de plantas submetidas ao tratamento com Extrato de folhas de jaqueira (EFJ) (A), seguido da inoculação de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*. As barras representam o desvio padrão.

#### 4.4 CONCLUSÃO

Fitoforce cobre, extrato de folhas de jaqueira e acibenzolar-S-metil induziram resistência sistêmica contra mancha bacteriana do maracujazeiro e reduziram a severidade da doença.

## REFERÊNCIAS

- ANTEROLA, A. M.; LEWIS, N. G. Trends in lignin modification: a comprehensive analysis of the effects of genetic manipulations/mutations on lignification and vascular integrity. **Phytochemistry**, v.61, n.3, p.221-294, 2002.
- BAYSAL, O.; SOYLU, E. M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp *michiganensis*. **Plant Pathology**, Berlin, v.52, n.6, p.747-753, 2003.
- BAYSAL, O.; ZELLER, W. Extract of *Hedera helix* induces resistance on apple rootstock M26 similar to Acibenzolar-S-methyl against Fire Blight (*Erwinia amylovora*). **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.65, n.6, p.305-315, 2005.
- BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTE, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, v.13, cap.1, p.11-28. 2005.
- BORO, M. C.; BERIAM, L. O. S.; GUZZO, S. D. Induced resistance against *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* in passion fruit plants. **Tropical plant pathology**. Brasília, v.36, n.2, p.74-80, 2011.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. Academic Press, **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, n.3, p.248-254, 1976.
- CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; PEREIRA R. B.; COSTA, J. C. B.; CARVALHO, C. P. S. Atividades de quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase após elicitação das defesas do tomateiro contra a mancha-bacteriana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1721-1730, 2006a.
- CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; ZACARONI, A. B.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; COSTA, J. de C. B.; SOUZA, R. M. de. Acibenzolar-S-Metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.31 n.4, p.372-380, 2006b.
- DURRANT, W. E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, n.1, p.185-209, 2004.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de variância) para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45, 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSC, 2000. p.255-258.

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

IRITI, M.; FAORO, F. Does benzothiadiazole-induced resistance increase fitness cost in bean? **Journal of Plant Pathology**, Bari, v.85, n.4 special issue, p.265-270, 2003.

ISHIDA, A. K. N.; SOUZA, R. M.; RESENDE, M. L. V.; CAVALCANTI, F. R.; OLIVEIRA, D. L.; POZZA, E. A. Rhizobacterium and acibenzolar-S-methyl (ASM) in resistance induction against bacterial blight and expression of defense responses in cotton. **Tropical Plant Pathology**, v.33, n.1, p.27-34, 2008.

KADO, C. I.; HESKETT, M. G. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. **Phytopathology**, St. Paul, v.60, n.6, p.969-976, 1970.

KILIC-EKICI, O.; YUEN, G. Y. Comparison of strains of *Lysobacter enzymogenes* and PGPR for induction of resistance against *Bipolaris sorokiniana* in tall fescue. **Biological Control**, San Diego, v.30, n.2, p.446-455, 2004.

KUNH, 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**, Botucatu, v.36 n.2, p.107-114, 2010.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F.; CARDOSO FILHO, J. A.; PORTZ, R. L.; OSSWALD, W. Indução de resistência sistêmica em plantas: aspectos gerais, efeitos na produção e sobre microrganismos não-alvo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.14, p.249-300, 2006.

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

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, v.1, cap.22, p.417-454, 1995.



PEREIRA, A. L. G.; ZAGATTO, A. G.; FIGUEIREDO, M. B. Preservação e virulência de bactérias mantidas em água destilada. **O Biológico**, v.36, p.311-314, 1970.

ROMERO, A. M.; KOUSIK, C. S.; RITCHIE, D. F. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-S-methyl. **Plant Disease**, v.85, n.2, p.189-194, 2001.

SALES JÚNIOR, R.; PONTES FILHO, F. S. T.; NUNES, G. H. S.; TORRES, G. R. C. Eficiência de acibenzolar-S-metil e oxiclureto de cobre no controle de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, agente causal da mancha-aquosa no meloeiro. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.7, n.1, p.66-70, 2007.

SCOTT, A.; KNOTT, M. A cluster-analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Raleigh, v.30, n.3, p.507-512, 1974.

SHANER, G.; FINNEY, R. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox Wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, n.8, p.1051-1056, 1977.

SIDHU, G. S.; WEBSTER, J. M. The use of amino acid fungal auxotrophs to study the predisposition phenomena in the root-knot: wilt fungus disease complex. **Physiological Plant Pathology**, London, v.11, n.2, p.117-127, 1977.

SILVA, R. F., PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.3, p.189-196, 2007.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, K. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum**, Lodz, v.13, n.1, p.43-50, 1991.

VAN LOON, L. C. M.; PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, Amsterdam, v.44, n.1, p.135-62, 2006.

WIRTH, S. J.; WOLF, G. A. Dye-labelled substrates for the assay and detection of chitinase and lysozyme activity. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v.12, n.3-4, p.197-205, 1990.