

Universidade Federal do Amazonas
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical

INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM PEPINEIRO (*Cucumis sativus* L.) CONTRA A MANCHA DE CORINÉSPORA
[*Corynespora cassiicola* (Berk. e Curt.) Wei]

ELISÂNGELA DE JESUS DA SILVA BEZERRA

MANAUS

2009

Universidade Federal do Amazonas
Faculdade de Ciências Agrárias
Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical

ELISÂNGELA DE JESUS DA SILVA BEZERRA

INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM PEPINEIRO (*Cucumis sativus* L.) CONTRA A MANCHA DE CORINÉSPORA
[*Corynespora cassiicola* (Berk. e Curt.) Wei]

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia Tropical.

Orientadora: Jânia Lília da Silva Bentes Dra.

MANAUS
2009

Ficha Catalográfica
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

Bezerra, Elisângela de Jesus da Silva

B574e Indutores de resistência em pepineiro (*Cucumis sativus* L.)
contra a mancha de corinéspora [*Corynespora cassiicola* (Berk.
e Curt.) Wei] / Elisângela de Jesus da Silva Bezerra. – Manaus:
UFAM, 2009.

89 f.; il. color.

Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) —
Universidade Federal do Amazonas, 2009.

Orientadora: Prof^a. Dra. Jânia Lília da Silva Bentes

1. Pepino - Cultivo 2. Defensivos vegetais 3. Plantas – Doenças e
pragas I. Bentes, Jânia Lília da Silva II. Universidade Federal do
Amazonas III. Título

CDU 635.63(043.3)

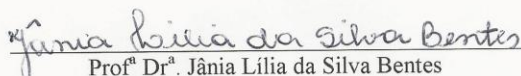
ELISÂNGELA DE JESUS DA SILVA BEZERRA

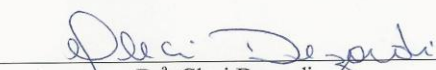
INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM PEPINEIRO (*Cucumis sativus* L.) CONTRA A MANCHA DE CORINÉSPORA [*Corynespora cassiicola* (Berk. e Curt.) Wei]

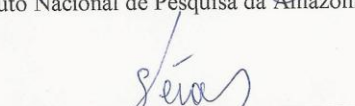
Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia Tropical.

Aprovado em 30 de setembro de 2009.

BANCA EXAMINADORA


Profª Drª. Jânia Lília da Silva Bentes
Universidade Federal do Amazonas


Drª. Cleci Dezordi
Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia


Profª Drª. Solange de Melo Vêras
Universidade Federal do Amazonas

Ao meu pai (João Bezerra), minha
mãe (Terezinha Bezerra) e irmãos
pelo incentivo para realização
deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre guiar-me por meus caminhos e por ter sido fonte inesgotável de auxílio em todos aqueles momentos que, à primeira vista, pareciam intransponíveis;

Aos membros de minha família pelo incentivo e por ter compreendido a importância e as dificuldades do desenvolvimento desse trabalho;

Aos órgãos Fundação de Amparo a Pesquisa (FAPEAM) e (PROCAD) pelo apoio financeiro;

À Instituição Universidade Federal do Amazonas (UFAM) pela infra-estrutura para o desenvolvimento do projeto de pesquisa;

A minha orientadora, Professora Dra. Jânia Lília da Silva Bentes, por ter compartilhado comigo muito do seu conhecimento, e pelas orientações que, sem as quais, esta dissertação jamais teria se concretizado;

Ao professor Dr. José Ferreira da Silva que contribuiu na utilização do programa estatístico;

Ao Alessandro Machado da Silva pela amizade e valiosos momentos durante a maioria das etapas deste trabalho;

Ao meu irmão João de Sousa Bezerra Filho pela presença e apoio nos finais de semana e feriados para a realização deste trabalho.

A Liane Cristine Rebouças Demosthenes pelos momentos de apoio;

Aos amigos da graduação e mestrado que me apoiaram e estiveram presentes em momentos difíceis;

E a todos que contribuíram para a realização deste trabalho e que, embora não citados aqui, não deixam de merecer meu profundo agradecimento.

AGRADEÇO

RESUMO

INDUTORES DE RESISTÊNCIA EM PEPINEIRO (*Cucumis sativus* L.) CONTRA A MANCHA DE CORINÉSPORA [*Corynespora cassiicola* (Berk. e Curt.) Wei]

A busca por métodos alternativos para o controle de doenças de plantas tem sido alvo de diversas pesquisas, visando reduzir o uso de agrotóxicos. Neste sentido buscou-se avaliar o efeito de indutores químicos de resistência no controle da mancha de corinéspora [*Corynespora cassiicola* (Berk. e Curt.) Wei] em pepineiro. Inicialmente foi avaliado o efeito dos indutores *in vitro* sobre o desenvolvimento de *C. cassiicola*. Foram estudados os produtos Bion[®] nas doses de 0,050 e 0,025g/500, Ecolife[®] nas doses de 1,0 e 2,5mL/500 e Fertilil[®] nas doses de 0,025 e 0,050g/500 incorporado no meio de cultura BDA. O delineamento experimental foi ao acaso com dez repetições. As avaliações foram realizadas através de medição do diâmetro das colônias e a produção de esporos foi avaliada pelo método de contagem em gota. Os genótipos comerciais de pepineiro Aodai, General Lee F1, Hokushim, Japonês Híbrido F1 (Soudai), Jóia, Marketmore 76 (verde comprido), Natsubayashi, Natsu suzumi, Sprint 440 II e Tsuyataro foram avaliados quanto à resistência e suscetibilidade à doença. As plantas foram inoculadas aos 30 dias de idade com uma suspensão de esporos na concentração de 10⁴ conídios/mL do patógeno. A avaliação da severidade da doença foi feita de acordo com escala de notas descrita por Oliveira et al. (2006). Foram selecionados os genótipos Tsuyataro, como suscetível e Aodai, como resistente à doença, para serem usados nos experimentos com os indutores de resistência. Os indutores foram testados em casa de vegetação, utilizando plantas dos genótipos Tsuyataro e Aodai, em delineamento ao acaso com cinco repetições. Os tratamentos constituíram nas doses de 0,025, 0,050, 0,075 e 0,15g de Bion[®]/500mL; 1,0, 2,5, 3,0 e 7,5mL de Ecolife[®]/500mL; 4,0, 7,5, 12,0 e 22,5g de Fertilil[®]/500mL aplicados 48 horas antes da inoculação com o patógeno. Foi avaliado a severidade, número e tamanho de lesões e período de incubação do fungo em cada tratamento. Os dados foram analisados estatisticamente e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey (5%) utilizando o programa estatístico SAEG. Nos ensaios *in vitro* o fungo foi sensível ao Fertilil[®] nas dosagens utilizadas causando em efeito fungitóxico. Nos tratamentos com Bion[®] e Ecolife[®] não houve efeito sobre o crescimento micelial e a produção de esporos do fungo. A aplicação dos indutores em casa de vegetação não foi eficiente para controlar a doença nas doses testadas.

Palavras chave: *Corynespora cassiicola*, manejo, resistência induzida.

ABSTRACT

RESISTANCE INDUCTORS IN CUCUMBER PLANTS AGAINST CORINESPORA'S LEAF SPOT [*Corynespora cassiicola* (BERK. end CURT.) WEI]

The search for alternative methods for plant disease control has been the target of several researches aiming to reduce the use of pesticides. Accordingly, this research evaluated the effect of chemical resistance inductors in the control of the corinespora's leaf spot [*Corynespora cassiicola* (Berk. end Curt.) Wei] in cucumber plants in a green house. Initially, an experiment was established to evaluate the effect *in vitro* of the inductors in the development of *C. cassiicola*. The products studied were the following Bion[®] in dose of 0.050 and 0.025g/500, Ecolife[®] in dose of 1.0 and 2.5 mL/500 and Fertisil[®] in dose of 0.025 and 0.05g/500 incorporated the BDA culture medium. The experiment was randomly delineated with ten repetitions. The evaluations were achieved by measuring the colony diameters and evaluating the spore's production by the counting method in drop. The following commercial genotypes of cucumber plants were evaluated regarding the resistance and susceptibility to the aforementioned disease: Aodai, General Lee F1, Hokushim, Hybrid Japanese F1 (Soudai), Joia, Marketmore 76 (long green), Natsubayashi, Natsu suzumi, Sprint 440 II and Tsuyataro. The plants were inoculated at an age of 30 days with an inoculum's suspension in the concentration of 10⁴ conidia/mL of the pathogen. The evaluation of the disease severity was made in agreement with the scale of gradings described by Oliveira et al. (2006). The genotypes Tsuyataro and Aodai were selected as susceptible and disease resistance, respectively, and used in the experiments with the resistance inductors. The inductors were tested in a green house, using plants of the Tsuyataro and Aodai genotypes, in random delineation with five repetitions. Doses in the range of 0.025, 0.050, 0.075 and 0.15g of Bion[®]/500mL; 1.0, 2.5, 3.0 and 7.5 mL of Ecolife[®]/500mL; 4.0, 7.5, 12.0 and 22.5g of Fertisil[®]/500mL were tested in cucumber plants. These products were applied 48 hours before inoculation with the pathogen. The severity, number and lesion size and the fungal incubation period were evaluated for each treatment. The data was statistically analyzed and the average compared by the Tukey's test (5%) using the SAEG statistic program. In the *in vitro* assays, the fungus was highly sensible to Fertisil[®] for the dosage used, causing a fungitoxic effect. The treatments with Bion[®] and Ecolife[®] had no effect upon mycelial growth and the fungal spore production. The application of inductors in a green house was not efficient to control the disease in the tested dose.

Keywords: *Corynespora cassiicola*, management, induced resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – (A) - Colônia de <i>Corynespora cassiicola</i> . (B) - Conídios visualizados em microscópio óptico e objetiva de 40X.....	19
Figura 2 - Planta de pepineiro com sintomas de mancha de corinéspora.....	21
Figura 3 - Desbaste de pepineiro.....	44
Figura 4 - Plantas de pepineiro em câmara úmida após a inoculação em casa de vegetação.....	46
Figura 5 - Medição do diâmetro das colônias de <i>Corynespora cassiicola</i>	58
Figura 6 - Preparo de suspensão de esporos de <i>Corynespora cassiicola</i>	60
Figura 7 – Avaliação do número de lesões por cm ² de área foliar (A) e tamanho médio de lesões (B) em folha de pepineiro.....	63
Figura 8 – Reação dos genótipos de pepineiro à mancha de corinéspora com aplicação de indutores de resistência. 1- testemunha sem indutor e patógeno; 2 - testemunha sem indutor e com patógeno; 3 - Fertilisil [®] 22,50g; 4 - Fertilisil [®] 12,00g; 5 - Ecolife [®] 7,50ml; 6 - Ecolife [®] 4,00ml; 7 - Bion [®] 3.00g; 8 - Bion [®] 2.50g; 9 - testemunha sem indutor e patógeno; 10 - testemunha sem indutor e com patógeno; 11 - Fertilisil [®] 22,50g; 12 - Fertilisil [®] 12,00g; 13 - Ecolife [®] 7,50ml; 14 - Ecolife [®] 4,00ml; 15 - Bion [®] 3.00g; 16 - Bion [®] 2.50g.....	71

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva de progressão da mancha de corinéspora (CPMC) em plantas de pepineiro em casa de vegetação com dez genótipos.....	50
Gráfico 2. Curva de progresso da doença da mancha de corinéspora (<i>Corynespora cassiicola</i>) nos genótipos Aodai (A) e Tsuyataro (B) de pepineiro no primeiro experimento.....	69
Gráfico 3. Curva de progresso da doença da mancha de corinéspora (<i>Corynespora cassiicola</i>) nos genótipos Aodai (A) e Tsuyataro (B) de pepineiro no segundo experimento.....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Severidade média de genótipos de pepineiro inoculados com <i>Corynespora cassiicola</i>	48
Tabela 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença dos dez genótipos de pepineiro.....	49
Tabela 3 - Efeito de acibenzolar-s-metil, produto a base de extrato cítrico e silicato de potássio no índice de crescimento micelial (I.C.M.) e número de conídios <i>in vitro</i> de <i>Corynespora cassiicola</i>	65
Tabela 4 - Efeito dos indutores químicos de resistência na severidade, número e tamanho das lesões causadas por <i>Corynespora cassiicola</i> em pepineiro.....	68
Tabela 5 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha de corinéspora (<i>Corynespora cassiicola</i>) em pepineiro tratados com indutores químicos de resistência.....	70
Tabela 6 - Efeito dos indutores à severidade da doença em pepineiro.....	71
Tabela 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha de corinéspora (<i>Corynespora cassiicola</i>) em pepineiro tratados com indutores químicos de resistência.....	73

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 OBJETIVOS.....	14
Objetivo geral:	14
Objetivos específicos:.....	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	15
3.1 Cultura do pepino	15
3.2 Problemas fitossanitários da cultura.....	18
3.3 Aspectos gerais sobre resistência de plantas a fitopatógenos.....	22
3.4 Mecanismos de defesa das plantas contra patógenos	25
3.5 Indução de resistência em plantas a patógenos	31
3.6 Resistência induzida por produtos químicos	34
3.7 O Silício como indutor de resistência.....	38
Capítulo 1	41
REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE PEPINEIRO À MANCHA DE CORINÉSPORA (<i>Corynespora cassiicola</i>).....	41
1 INTRODUÇÃO.....	41
2 OBJETIVOS.....	43
Objetivo geral	43
Objetivo específico	43
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
Preparo e cultivo das plantas	44
Obtenção e cultivo do patógeno	45

Inoculação das plantas	46
Avaliação	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5 CONCLUSÕES	53
Capítulo 2	54
EFEITO DE INDUTORES QUÍMICOS DE RESISTÊNCIA NA SEVERIDADE DA MANCHA DE CORINÉSPORA (<i>Corynespora cassiicola</i>) EM PEPINEIRO	54
1 INTRODUÇÃO	54
2 OBJETIVOS	56
Objetivo geral:	56
Objetivos específicos:	56
3 MATERIAL E MÉTODOS	57
Determinação do efeito dos indutores de resistência no crescimento micelial de <i>Corynespora cassiicola</i> , <i>in vitro</i>	57
Determinação do efeito dos indutores de resistência na esporulação de <i>Corynespora cassiicola</i> , <i>in vitro</i>	59
Efeito dos indutores de resistência na severidade da mancha de corinéspora (<i>Corynespora cassiicola</i>) em pepineiro	60
Preparo das mudas	61
Aplicação dos indutores	61
Inoculação com o patógeno	62
Avaliação	63

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
Efeito dos indutores de resistência na severidade da mancha de corinéspora (<i>Corynespora cassicola</i>) em pepineiro	67
5 CONCLUSÕES	76
REFERÊNCIAS	77

1 INTRODUÇÃO

A produção do pepino (*Cucumis sativus* L.) tem crescido na comercialização. Segundo o IDAM (2006) observou-se um aumento de 152% no período de 2002 e 2006 no Estado do Amazonas. É muito apreciado e consumido em todo Brasil, na forma de fruto imaturo cru, em saladas, curtido em salmoura ou vinagre e, raramente, maduro e cozido (CARDOSO, 2002). Segundo Lopes (1991), além do valor econômico e alimentar, o cultivo de cucurbitáceas possui uma outra vantagem, pois, também, tem grande importância social, na geração de empregos diretos e indiretos, pois demanda grande quantidade de mão-de-obra, desde o cultivo até a comercialização. Entretanto, o maior entrave é a suscetibilidade a mancha de corinéspora causada pelo fungo *Corynespora cassiicola*, o qual ocorre em várias espécies cultivadas de cucurbitáceas, com grande importância para a cultura de pepino (KUROZAWA et al., 2005).

Antes do ano 2000, a mancha alvo era citada como uma doença de pouca importância para esta cultura, tanto em cultivo convencional quanto em ambiente protegido (KUROZAWA e PAVAN, 1997). No entanto, nos últimos anos, esta doença tem se tornado importante para os produtores de pepino, tanto em estufas como em cultivo convencional, devido à frequentes epidemias desta doença. Segundo Verzignassi et al. (2003), e, Vida et al. (2004), na região Norte do Estado do Paraná, essa doença tem ocorrido com frequência, em cultivos de pepino tipo 'japonês' acarretando perdas de até 60% na produção.

A resistência de plantas a patógenos baseia-se, em grande parte, na multiplicidade de barreiras e mecanismos de defesa já existentes e que independem da chegada do inóculo ao sítio de infecção. Essas defesas são genericamente denominadas de constitutivas, inespecíficas ou estáticas. As plantas superiores possuem, ainda, outros mecanismos de defesa, supostamente mais

eficientes, os quais aparentemente permanecem inativos ou latentes, somente sendo acionados após serem elas expostas a agentes ativadores (abióticos ou bióticos). Nestes casos, a resistência é dita dinâmica, pós-infeccional ou induzida (AGRIOS, 1997). Uma forma de ativar tais mecanismos de defesa é por meio de resistência induzida que se trata de um fenômeno biológico complexo o qual envolve a ativação de genes relacionados com várias respostas de defesa da planta com síntese de fitoalexinas, aumento de compostos fenólicos, lignina, e proteínas relacionadas com a patogênese (proteínas-RP), como a hidrolase β -1,3-glucanase que degrada paredes celulares de patógenos fúngicos (HAMMERSCHMIDT, 1999).

Segundo Quezado-Duval et al. (2005), o emprego de produtos ativadores de mecanismos de defesa das plantas é uma abordagem que vem sendo recentemente avaliada para o controle de fitopatógenos. Esse tipo de resistência seria sistêmica, duradoura e de amplo espectro (LOPES, 2001). O produto comercial Bion[®] (acibenzolar-S-metil do grupo químico benzotiazol - BTH) tem sido avaliado para o controle de diversas doenças, com resultados experimentais promissores de ensaios em condições de casa-de-vegetação (SILVA et al., 2000; OBRADOVIC et al., 2005, CASTRO et al., 2007). Pesquisas têm demonstrado outros compostos capazes de induzir o sistema de defesa das plantas tais como o ácido *DL*-aminobutírico (BABA) (QUERINO et al., 2005), Ecolife[®] (DANTAS et al., 2002) e Agro-Mos[®] (DANTAS et al., 2004).

Tendo em vista o potencial do uso de indutores de resistência para o controle de doenças de plantas e a importância do fungo *C. cassicola* como agente da mancha de corinéspora em pepino, o presente trabalho visa verificar o efeito de indutores de resistência no controle da mancha de corinéspora em pepineiro.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral:

- Verificar o efeito de indutores químicos de resistência no controle da mancha de corinéspora em pepineiro.

Objetivos específicos:

- Avaliar a resistência de genótipos de pepineiro a *Corynespora cassicola*;

- Determinar o efeito dos indutores de resistência Acibenzolar-S-Metil, silicato de potássio, e Ecolife[®] no crescimento de *C. cassicola in vitro*;

- Determinar o efeito de diferentes indutores de resistência na severidade da mancha de corinéspora em pepineiro em casa de vegetação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cultura do pepino

O pepino (*Cucumis sativus* L.) é uma planta da classe das Dicotiledoneae, pertencente à família Cucurbitáceae (FILGUEIRA, 2003). O seu centro de origem é a Índia, tendo sido levado para a China e para as Filipinas e as Ilhas Formosas. Da região Norte da China originou-se uma linhagem ou grupo de pepinos com frutos mais alongados e diâmetro reduzido. Outro grupo, que se desenvolveu no sul da Ásia, chegou às Ilhas Formosas e depois à Ilha Okinawa, no arquipélago de Rui Kyu, e em 1923, foi levado para o Japão dando origem ao pepino do grupo "Aodai" e "Aonaga", hoje conhecidos no mercado como pepinos Comum e Japonês, respectivamente. Outros tipos de pepino que existem no mercado são "Caipira" e "Conserva" (GOTO, 2007).

A planta é herbácea, anual, com hastes longas. O hábito de crescimento é “indeterminado”, e a planta desenvolve-se no sentido vertical ou prostrado, dependendo da presença ou ausência de suporte. As ramas apresentam gavinhas, que se fixam a qualquer tipo de suporte (WHITAKER; BEMIS, 1976). As folhas são inteiras, cordiformes (formato de coração), ásperas ao tato na sua face inferior, verde-claras a verde-escuras. O hábito de florescimento é monóico, ou seja, há flores unissexuadas, masculinas e femininas na mesma planta, com nítida predominância das primeiras, o que é uma característica normal da espécie. Entretanto, os fitomelhoristas criaram híbridos ginóicos. Tanto as cultivares monóica como ginóica exigem a polinização para desenvolverem os frutos. Os híbridos ginóicos exigem a proximidade de plantas monóicas que assegurem o fornecimento de pólen, podendo-se plantar uma cultivar polinizadora na mesma área. Uma solução melhor, utilizada por firmas produtoras de sementes, é adicionar às

sementes de tais híbridos ginóicos 15% de sementes da cultivar monóica. Atualmente, também, há híbridos ginóicos e partenocárpicos – desenvolvidos especialmente para o cultivo em casa de vegetação, nos quais o desenvolvimento dos frutos independe da polinização (FILGUEIRA, 2003).

O pepino é uma baga suculenta, cheia, de formato cilíndrico, com três a cinco lóculos, sendo o fruto trilocular, o mais comum. A coloração varia de verde-clara a verde-escura, conforme a cultivar. Apresenta acúleos moles (“espinhos”), de coloração branca ou escura. A característica genética “acúleos brancos” é ligada à maior resistência ao amarelecimento pós-colheita, sendo, portanto, desejável e buscada pelos fitomelhoristas. Inversamente, a característica “acúleos escuros” está ligada ao amarelecimento rápido, sendo menos desejável. O sistema radicular é superficial (FILGUEIRA, 2003).

As cultivares atualmente plantadas podem ser reunidas em quatro grupos ou tipos, conforme as características e a finalidade dos frutos produzidos. Híbridos modernos vêm substituindo cultivares não-híbridas apresentando produtividade mais elevada, frutos de melhor qualidade – geralmente com acúleos brancos – e maior amplitude em termos de resistência a doenças (FILGUEIRA, 2003).

Pepino do grupo Caipira, os frutos são colhidos com 10-16 cm de comprimento, de acordo com as preferências regionais, apresentando coloração predominantemente verde-clara, com manchas verde-escuras na região do pedúnculo. Na maioria das cultivares o fruto é trilocular, porém há cultivares pentaloculares. O sabor é adocicado, livre de amargo. A cultura tutorada predomina, embora, também, ocorra a cultura rasteira. O tipo caipira é preferido em alguns mercados tendo boa aceitação em várias regiões do País (FILGUEIRA, 2003).

O grupo Aodai, caracteriza-se pelos frutos cilíndricos, colhidos com 20-25 cm, de coloração verde-escura pronunciada, triloculares. Cultivares tradicionais, como Aodai Nazaré,

monóicas, tem sido substituído por híbridos ginóicos brasileiros, como Rio Verde e Jóia (FILGUEIRA, 2003).

Os pepinos do grupo Japonês apresentam frutos tipicamente afilados e alongados, com 20-30 cm, de coloração verde-escura e triloculares, com acúleos brancos. O sabor é típico e agradável, sendo os frutos preferidos em mercados exigentes. Caracteristicamente, não há formação de sementes, já que a maioria dos híbridos desse grupo são ginóico-partenocárpico. A cultura tutorada é conduzida em casas de vegetação fechadas, sendo a polinização indesejável, por alterar o formato dos frutos. Bons exemplos são os híbridos Yoshinari e Flecha (FILGUEIRA, 2003).

Os pepinos do grupo Industrial são curtos, com 5-9 cm, de coloração verde-escura e triloculares. Os frutos são utilizados na fabricação de pickles. Um exemplo é o híbrido ginóico Supremo. A cultura rasteira e de semeadura direta predomina na produção destinada à agroindústria, devido ao menor custo de produção (FILGUEIRA, 2003).

De modo geral o cultivo de pepino se dá em clima quente, se desenvolve bem em temperaturas superiores a 16 °C; não tolera geada; comporta-se melhor em locais com temperaturas entre 20 e 30 °C (mínimo de 20 °C à noite e 24 °C durante o dia) e umidade relativa entre 60 e 65% (SOUZA e MATA, 2007). As plantas se desenvolvem e frutificam bem em condições de solos férteis, ricos em matéria orgânica, solos com boa drenagem, profundos e com boa disponibilidade de água durante todo seu ciclo, porém não tolera solos encharcados. Para contornar o problema de baixa temperatura ou época de muita chuva no verão, os produtores têm produzido pepino em estufas cobertas com plástico. A diferença entre essas duas situações está no manejo da estufa. No frio, faz-se o fechamento lateral com uma cortina de plástico e abertura nas horas mais quentes do dia; enquanto, que no verão, deixa-se sempre aberta lateralmente. Com esse procedimento, consegue-se produzir pepino o ano todo (FILGUEIRA, 2003).

Quando cultivado em campo aberto, o pepino deve ser plantado nas épocas em que a temperatura se mantém entre 22 e 30 °C, inclusive no período do noturno. Abaixo de 15 °C a planta não se desenvolve adequadamente, podendo ter seu crescimento paralisado. Além do estresse que causam á planta, temperaturas acima de 30 °C provocam diminuição do número de flores femininas, quando conjugadas com dias longos (FILGUEIRA, 2003).

A planta do pepino é uma trepadeira, possui hábito de crescimento com gavinhas que sustentam a planta na posição vertical, com o uso de tutores; isto possibilita a obtenção de frutos de maior qualidade, facilita os tratos fitossanitários e a colheita (SOUZA e MATA, 2007).

A produtividade esperada para os pepinos dos tipos: Caipira, Aodai e Japonês são de 40 a 50 t/ha e para o pepino indústria, de 20 a 40 t/ha (ARAGÃO, 2003). No Amazonas a cultura do pepino ocupa o oitavo lugar em importância econômica totalizando 203,35 hectares de área plantada com uma produção aproximadamente de 4.984 toneladas de acordo com estimativa do IDAM (2007).

3.2 Problemas fitossanitários da cultura

A cultura do pepino como as demais cucurbitáceas, apresenta diversos problemas relacionados ao ataque de fitopatógenos, dentre os quais se destacam oídio, antracnose, cancro das hastes (podridão de micofarela), míldio, mancha-angular, mancha de leandria, virose (vírus da mancha-anelar do mamoeiro). O controle destas doenças é baseado principalmente no uso de produtos químicos como: captan, carbenzadín, chlorothalonil, enxofre, fenarimol, folpet, hidróxido de cobre, mancozeb, oxicloreto de cobre, oxicloreto de cobre + mancozeb, pyrazophos, quinomethionate, thiophanate methyl, thiophanate methyl + chlorothalonil e ziram (www.herbario.com.br acessado em agosto de 2007).

Nos últimos anos tem-se observado ataques severos de mancha de corinéspora causada por *Corynespora cassiicola* em cultivos de pepino em diversas propriedades em Manaus-AM e no Município de Iranduba-AM, reduzindo drasticamente a produção e o tempo de colheita nas lavouras, tanto em cultivo protegido como em campo aberto (Informação pessoal do produtor Ednilson Silva Gomes – Iranduba - AM).

O fungo *C. cassiicola* (Berk. e Curt.) Wei (Figura 1A) pertencente ao grupo mitosporicos anteriormente denominado de classe Deuteromycetes, ordem Moniliales e família Dematiaceae. Possui conidióforo curto, cinza, que produz conídios solitários (Figura 1B) ou em cadeias de dois a seis, de forma variada, podendo ser clavado, cilíndrico, reto ou curvo, liso, alongado e com até 20 pseudo-septos (REGO e CARRIJO, 2000).

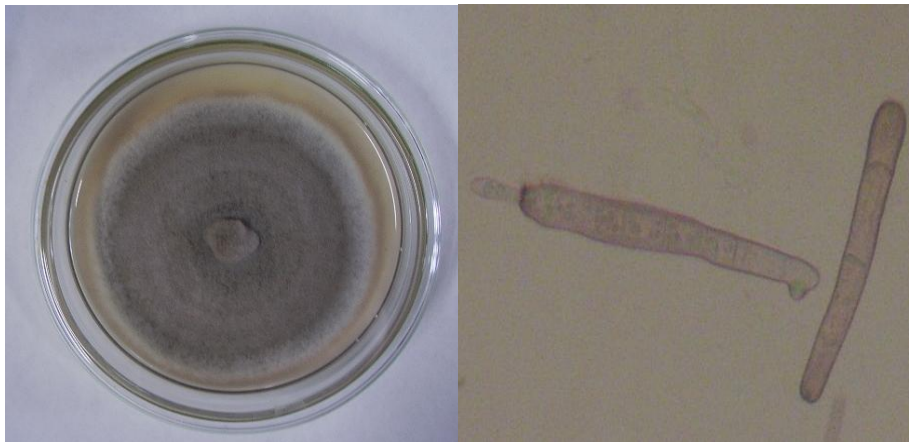


Figura 1 – (A) - Colônia de *Corynespora cassiicola*. (B) - Conídios visualizados em microscópio óptico e objetiva de 40X.

Segundo Kurozawa et al. (2005), o fungo possui ampla gama de hospedeiros em diversas famílias de plantas cultivadas e em várias plantas daninhas. Cutrim e Silva (2003), estudaram a patogenicidade de isolados *C. cassiicola* em diferentes espécies de plantas, e observaram que as plantas daninhas trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.) e “assa peixe” (*Vernonia cinérea* L.), foram hospedeiras do fungo, podendo contribuir para o aumento da fonte de inóculo do patógeno

no campo. Além destas, outras espécies como abóbora (*Cucurbita pepo* L.), maxixe (*Cucumis anguria* L.), pimentão (*Capsicum annum* L.), quiabeiro [*Abelmoschus esculentus* (L.) Monch] e vinagreira (*Hibiscus sabdariffa* L.), também, apresentaram sintomas da doença, sendo não recomendado o cultivo destas, especialmente, nas áreas de ocorrência de *C. cassiicola*. De acordo com Rego e Carrijo (2000), a doença pode ser encontrada em todas as espécies cultivadas de cucurbitáceas, embora seja mais severa em pepino.

Os primeiros sintomas da doença surgem logo após o transplântio, inicialmente sob a forma de pequenas manchas angulares, com o centro de cor palha e pequeno halo claro, posteriormente as manchas crescem, tomando formato arredondado, e apresentam centro marrom claro e bordos encharcados de coloração olivácea. O coalescimento das manchas pode provocar a seca do limbo foliar. Não tem sido observados sintomas da doença em caule, frutos e raízes (VERZIGNASSI et al., 2003). Segundo Kurozawa et al. (2005), as manchas em ramos e pecíolos são mais alongadas.

Verzignassi et al. (2003) relatam que a mancha de corinéspora tem ocorrido com intensidade nas estufas plástica nos períodos de primavera e verão, atingindo níveis epidêmicos dentro de poucos dias após a visualização dos primeiro sintomas nas plantas de pepino. O patógeno sobrevive em restos de cultura, por pelo menos dois anos (REGO e CARRIJO, 2000). A disseminação de esporos se dá pelo vento (KUROZAWA et al., 2005). Segundo Boiteux e Reis (2007), a mancha de corinéspora é típica de clima tropical úmido sendo muito destrutiva sob alta temperatura (acima de 28 °C) e alta umidade (acima de 90%).

Como medidas de controle recomendam-se rotação de culturas por período superior a dois anos (KUROZAWA et al., 2005) Os fungicidas utilizados para o controle de outras manchas foliares em cucurbitáceas não têm apresentado resultados práticos no controle dessa doença. Outras práticas de manejo da cultura como eliminação de restos culturais, maior espaçamento

entre plantas e manejo de cortinas laterais das estufas, não tem reduzido a severidade da doença (VERZIGNASSI et al., 2003).

Na região Norte do país *C. cassiicola* é um dos principais patógenos na cultura do tomate, com ou sem cobertura plástica, podendo ser altamente destrutivo (LOURD et al., 1988; LOPES e SANTOS, 1994). Em pepineiro este fungo também tem se tornado o principal patógeno desta cultura em áreas produtoras no Amazonas (Figura 2). Um dos grandes agravantes para o controle deste patógeno, além do ambiente favorável, é a falta de produtos químicos eficientes e registrados para este patossistema. Pesquisas sobre a doença nas condições regionais são inexistentes, sendo necessário estudos visando entendimento das relações patógeno-hospedeiro, epidemiologia e medidas de controle, com o objetivo final de definir estratégias para o manejo da doença.



Figura 2 - Planta de pepineiro com sintomas de mancha de corinéspora.
FONTE: Bentes, 2007.

3.3 Aspectos gerais sobre resistência de plantas a fitopatógenos

De acordo com Pascholati e Leite (1995), pode-se dizer que uma planta resistente é aquela capaz de atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos. As plantas podem ser resistentes ou não a certos patógenos, por pertencerem a grupos taxonômicos que estão fora da gama de hospedeiros (resistência tipo não-hospedeira); por possuírem genes de resistência (R) cujas proteínas interagem diretamente com proteínas produzidas por genes de avirulência no patógeno (resistência verdadeira, raça-específica ou resistência vertical), ou por outras razões pelas quais as plantas escapam ou toleram a infecção pelo patógeno (AGRIOS, 2005). Ainda o mesmo autor afirma que as plantas não são hospedeiras da grande maioria dos patógenos conhecidos, desta forma a resistência é uma regra na natureza enquanto que a susceptibilidade é uma exceção. Muitas vezes a ausência da doença, deve-se ao patógeno não possuir a habilidade de ligar-se à superfície hospedeira, de não produzir enzimas e toxinas ou de não tolerar as defesas da planta (LAMB et al., (1989) apud MORAES, 1998). A variação na suscetibilidade ou resistência a um patógeno é devida a diferentes tipos e número de genes para resistência presente em cada cultivar. O efeito individual dos genes, varia de extremamente grande à mínimo, dependendo das funções que ele controla (AGRIOS, 2005).

Do ponto de vista genético, a resistência a doenças é denominada monogênica ou poligênica. A resistência monogênica, também, chamada de qualitativa ou resistência raça-específica, é controlada pela presença de um ou poucos genes, chamados de genes R, que controlam o reconhecimento entre patógeno e hospedeiro, tornando esta interação incompatível. Neste caso, a planta e o patógeno são incompatíveis devido à falta de reconhecimento proteína-proteína entre o patógeno e o hospedeiro (AGRIOS, 2005). Estes genes exercem um efeito sobre o fenótipo de resistência tal que pode ser distinguido em uma população de plantas, causando

uma descontinuidade fenotípica, mesmo na presença de outros genes de efeito menor e de variação ambiental. Neste caso o hospedeiro pode responder com uma reação de hipersensibilidade, imunidade ou com a inibição da reprodução do patógeno. A resistência monogênica também é chamada de resistência qualitativa, devido à fácil diferenciação entre plantas resistentes e suscetíveis, inexistindo reações intermediárias, onde a planta está livre da doença ou completamente tomada por ela (CAMARGO, 1995; AGRIOS, 2005).

Todas as plantas possuem certo nível de resistência inespecífica que é efetiva contra alguns dos seus patógenos, e que em geral, mas nem sempre, é controlada por alguns genes, sendo assim denominada de resistência poligênica. Estes genes parecem estar envolvidos no controle de processos fisiológicos que fornecem materiais e estruturas relacionadas com mecanismos de defesa das plantas. A característica mais marcante da resistência poligênica é a variação contínua nos graus de resistência, apresentados em uma população de plantas, indo desde a extrema suscetibilidade até extrema resistência, sendo por isso, também denominada de resistência quantitativa, pois para distinguir os fenótipos resistentes de suscetíveis é necessário quantificar a doença (CAMARGO, 1995; AGRIOS, 2005).

Epidemiologicamente, a resistência é classificada de acordo com sua efetividade contra raças do patógenos, conforme Vanderplank (1963). Esta classificação epidemiológica permite prever o efeito dos tipos de resistência no progresso da doença no campo, permitindo calcular as suas consequências e subsidiar a tomada de decisão quanto medidas de controle a serem adotadas (CAMARGO e BERGAMIM FILHO, 1995). A resistência que é efetiva contra uma ou poucas raças do patógeno é dita resistência vertical ou raça-específica, já a resistência que é efetiva contra todas as raças é denominada de resistência horizontal ou raça-inespecífica.

Em geral, a literatura relaciona resistência vertical como sendo monogênica e resistência horizontal como sendo poligênica. Apesar desta relação ser verdadeira para muitos casos, existem

relatos onde esta não foi confirmada (CAMARGO e BERGAMIM FILHO, 1995). Em *Coffea canephora* Pierre ex. Froehn., estudos genéticos sobre resistência à ferrugem são limitados, mas indicam uma herança complexa. De acordo com Bettencourt e Rodrigues Jr. (1988), de maneira geral *Coffea canephora* é resistente a *Hemileia vastatrix*, mas os resultados de inoculações de raças fisiológicas do patógeno indicaram que algumas populações são altamente suscetíveis, outras totalmente resistentes, e ainda há aquelas que apresentam um tipo de reação heterogênea, com um ataque moderado do patógeno. Estudos da avaliação da resistência de 150 progênies de Catimor em geração F4 e F5 mostraram que a maioria das plantas de populações segregantes apresentou reação intermediária (CHAVES, 1976). Entretanto Abreu (1984), realizando inoculações em germoplasma de Catimor com seis raças de *H. vastatrix* obteve plantas altamente resistentes e plantas altamente suscetíveis.

Quanto à durabilidade estima-se que a resistência vertical (monogênica) seja possível de ser mais facilmente suplantada, devido à seleção de raças capazes de vencer os mecanismos de defesa do hospedeiro, controlados por este tipo de resistência. Já a resistência horizontal (poligênica) é mais difícil de ser vencida, pois tem maior capacidade de resistir às mudanças genéticas no patógeno. Desta forma, assume-se que resistência poligênica é muito mais estável do que a monogênica, pois para que surjam formas variantes do patógeno são requeridas mudanças genéticas em vários loci de patogenicidade, ao contrário do sistema monogênico, onde a mudança deve ocorrer em apenas um locus (CAMARGO e BERGAMIM FILHO, 1995).

Em relação ao efeito sobre a epidemia observa-se que a resistência vertical, por ser efetiva contra algumas raças do patógeno, atua reduzindo a quantidade de inóculo inicial, atrasando o início da epidemia, sendo que o hospedeiro manifesta a resistência como imunidade ou reação de hipersensibilidade (RH). Já a resistência horizontal, apesar de ser efetiva contra todas as raças do patógeno, não previne a ocorrência da doença e sim reduz seus sintomas, como: diminui o

tamanho das lesões, aumenta o período latente, reduz a produção de esporos e a severidade. Estes efeitos são todos parecidos e quantitativos. E quando somados resultam na redução da taxa de desenvolvimento da doença, sem afetar o inóculo inicial.

3.4 Mecanismos de defesa das plantas contra patógenos

Conforme Pascholati e Leite (1995) e Agrios (1997), mecanismos de resistência de uma planta ao ataque patogênico são geralmente divididos em duas categorias, as quais são denominadas de pré-formados (passivos ou constitutivos), ou seja, estão presentes na planta mesmo antes do contato com o patógeno, e pós-formados (ativos ou induzidos), sendo ativados ou sintetizados após o contato entre patógeno-hospedeiro, ambas classificadas, quanto à natureza, em estrutural e bioquímica.

De modo geral as plantas se defendem do ataque de patógenos utilizando mecanismos estruturais de defesa, os quais atuam como barreira física e inibem a entrada e disseminação do patógeno no interior do hospedeiro, e pelo uso de mecanismos bioquímicos, os quais reagem nas células e tecidos da planta, produzindo substâncias que são tóxicas para o patógeno ou inibem seu crescimento no hospedeiro (AGRIOS, 2005).

Dentre os fatores estruturais de resistência pré-formados, pode-se citar a cutícula, os tricomas, estômatos, fibras e vasos condutores. Já os estruturais pós-formados, incluem as papilas, camadas de cortiças, camadas de abscisão, tiloses entre outros (PASCHOLATI e LEITE, 1995; AGRIOS, 2005).

É na cutícula, em geral, que ocorre o primeiro contato entre o patógeno e o hospedeiro. É constituída por uma mistura de ceras e cutina, e recobre os órgãos da parte aérea. O efeito da cutícula no desenvolvimento da doença pode ser devido à sua molhabilidade, formando uma camada hidrofóbica na superfície dos órgãos devido à sua composição, o que impede a formação

de um filme de água, necessário para a germinação, movimentação e multiplicação de fungos e bactérias. Devido à sua composição química, a cutícula, também pode ser vista como uma barreira tóxica, devido à liberação de substância antifúngica. Portanto, a presença de componentes mais resistentes à degradação enzimática na cutícula e/ou sua maior espessura, pode reduzir a eficiência de penetração e colonização, ou pelo menos atrasar esses eventos, contribuindo assim para a resistência (LIMA et al., 2005).

De acordo com Lichston e Godoy (2006), ao estudarem o efeito da aplicação de fungicidas na morfologia e no teor de cera epicuticular em cultivares de café resistente e suscetível à ferrugem, observaram que a aplicação de fungicidas diminuiu o teor da cera e alterou sua morfologia da cutícula das plantas, provocando rupturas e desaparecimento dos cristalóides, o que pode tornar as plantas mais suscetíveis a patógenos, além de que o tipo de cera nas cultivares estudada apresentava com características diferentes, o que pode estar relacionado com a resistência à ferrugem do café.

Tricomas são prolongamentos unicelulares ou multicelulares que se estendem a partir da epiderme, podendo ocorrer em diferentes superfícies de plantas e exibir várias formas. Embora a possível contribuição dos pêlos, que são os tricomas mais comuns, na resistência tenha sido aventada, pouca evidência existe demonstrando o envolvimento dessas estruturas. Por exemplo, em função do número de pêlos por área de tecido, os mesmos poderiam interferir na continuidade do filme d'água sobre a superfície do hospedeiro, dificultando, portanto, a germinação dos esporos e a multiplicação das bactérias. Além disso, como os tricomas podem repelir insetos, poderiam contribuir de maneira indireta para com a resistência das plantas, visto manterem as mesmas livres de insetos vetores de microrganismos patogênicos (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

Jerba et al. (2005), ao avaliarem as características estruturais da superfície foliar cultivares de feijoeiro, suscetível, moderadamente resistente e resistente a antracnose em relação à pré-infecção pelo fungo *Glomerella cingulata* f.sp. *phaseoli*, observaram que a cultivar resistente apresentou menor área de nervuras secundárias e maior quantidade de tricomas e que as demais cultivares, nos quais o patógeno permaneceu retido, evidenciando que existe relação entre a resistência e características estruturais da superfície foliar, como pilosidade neste patossistema.

Os estômatos, em função do número, morfologia, localização e período de abertura, são estruturas que podem contribuir para a resistência das plantas em algumas interações com fitopatógenos. Os estômatos normalmente ocorrem em densidade de 100-300/mm² na superfície das folhas e, quando completamente abertos, apresentam o ostíolo com uma área para a penetração ativa de tubos germinativos de fungos, bem como para a penetração passiva de células bacterianas (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

Embora a maioria dos patógenos tente penetrar mesmo com os estômatos fechados, somente alguns penetram quando estão abertos. Algumas variedades de trigo resistentes ao *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* apresentam abertura estomática tardia, acarretando dessecação do tubo germinativo devido à evaporação do orvalho combinada com a demora na abertura dos estômatos. As próprias estruturas do estômato (abertura estreita, células guarda elevadas) também se constituem em fatores de resistência (BALARDIN, 2002).

Papilas são caracterizadas pela deposição de material heterogêneo entre a membrana plasmática e a parede celular no sítio de infecção, sob a hifa de penetração. As papilas podem ser formadas dentro de 2-3 horas após a inoculação com fungos. Existem evidências que a deposição de material papilar pode ser iniciada antes da penetração e continuar após a penetração. Em geral, são constituídas de calose (β -1,3-glucana), podendo também conter lignina, derivados fenólicos, celulose, silício e suberina (RIOUX e BIGGS, 1994). As papilas funcionam como barreiras

visco-elásticas contra a penetração e troca de metabólitos entre o hospedeiro e o patógeno, além de servirem como um mecanismo de reparo da parede celular após a invasão do patógeno (RESENDE et al., 2008).

As camadas de cortiça podem ser formadas em resposta à injúria mecânica e à presença de patógenos, principalmente fungos e bactérias. As camadas de cortiça originam-se de células formadas a partir do felogênio (tecido meristemático). Essas se caracterizam pela presença de suberina (polímero insolúvel associado com ceras solúveis) e protoplasma morto. A atividade do felogênio nos pontos de penetração e crescimento dos patógenos origina as células de cortiça, as quais impedem a invasão dos tecidos saudáveis da planta por esses patógenos, além de interromper o fluxo de nutrientes e água em direção ao invasor e o fluxo de metabólitos tóxicos em direção ao hospedeiro. Os tecidos mortos envolvidos pelas camadas de cortiça, os quais incluem o patógeno, podem permanecer na planta, originando manchas necróticas (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

Outra estrutura de resistência pós-formada é a camada de abscisão. Na maioria das espécies vegetais, a abscisão de folhas, flores, frutos ou partes de alguns desses órgãos é precedida pela formação de uma camada ou zona de abscisão. No caso de folhas, zonas de abscisão podem ser formadas em torno dos sítios de infecção fúngica, bacteriana ou viral. Essas zonas podem ser precedidas pela formação de zonas de lignificação internamente às mesmas. A zona de abscisão é caracterizada pela dissolução da lamela média entre duas camadas de células adjacentes, através da ação de enzimas, principalmente celulolíticas e pectinolíticas. Essa dissolução causa a separação das células, com o conseqüente afrouxamento dos tecidos envolvidos, o que pode levar à queda dos tecidos contendo o patógeno. Dessa forma, nas interações planta-patógeno, a camada de abscisão separa o tecido saudável do doente, protegendo o restante da planta contra a subsequente invasão pelo patógeno e contra a ação de metabólitos tóxicos do mesmo (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

Dentre os mecanismos de defesa intravascular, a oclusão dos vasos do xilema em resposta a estresse biótico ou abiótico, é um fenômeno de ocorrência generalizada, que pode ser causada pelo acúmulo de géis de pectina e hemicelulose ao redor da placa perfurada da terminação do vaso e/ou pelo supercrescimento de protoplastos de células do parênquima vascular adjacente, que se expandem para dentro dos vasos através das pontuações, formando as chamadas tiloses (RESENDE et al., 2008). Essas projeções protoplasmáticas podem aumentar em tamanho e número no interior dos vasos, levando à obstrução parcial ou total dos mesmos. Essa obstrução irá restringir o transporte de água, bem como poderá conter o avanço do patógeno para outros locais do hospedeiro. Obviamente, a formação de tiloses pode contribuir com a resistência da planta apenas quando esta ocorre precocemente e nas áreas próximas ao sítio inicial de infecção (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

As plantas podem se defender bioquimicamente também, ou seja, as reações bioquímicas que ocorrem nas células do hospedeiro produzem substâncias que mostram-se tóxicas ao patógeno ou criam condições adversas para o crescimento do mesmo no interior da planta. Embora os mecanismos estruturais possam atuar, em diferentes níveis, na defesa das plantas contra alguns patógenos, pesquisas mostram que, na maior parte das interações, são as substâncias produzidas nas células do hospedeiro, antes ou após a infecção, que contribuem significativamente para a resistência (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

Dentre os fatores de resistência bioquímicos destacam-se as fitoalexinas, reação de hipersensibilidade (RH) e as proteínas relacionadas à patogênese (PRPs). As fitoalexinas são definidas como compostos antimicrobianos de baixo peso molecular, que são sintetizados pelas plantas e que se acumulam nas células vegetais em resposta à infecção microbiana. Diversas classes de produtos naturais como alcalóides, compostos fenólicos e flavonóides, entre outros, têm sido descritas como fitoalexinas (AGRIOS, 2005).

Acredita-se que a maioria das plantas seja capaz de sintetizar fitoalexinas, mas algumas a fazem de maneira muito lenta, permitindo que o microrganismo complete a infecção antes que haja o acúmulo dessas substâncias em quantidades suficientes para inibi-lo. Para diversas interações planta-patógeno foi demonstrado que a velocidade de acúmulo das fitoalexinas é um dos fatores decisivos para o estabelecimento ou não da infecção (BRAGA, 2007).

Uma defesa comum é a reação de hipersensibilidade (RH), na qual é caracterizada pela morte programada das células em torno da infecção e atua contra patógenos biotróficos, pois restringe o acesso a água e nutrientes, sendo ativada pelo sinal do AS (GLAZEBOOK, 2005). A reação é considerada como uma resposta de defesa induzida, culminando na parada do crescimento e do desenvolvimento do patógeno nos tecidos da planta. A resposta ocorre em função do reconhecimento da infecção, por parte do hospedeiro, como uma consequência da incompatibilidade entre a planta e o patógeno. Portanto, a RH ocorre somente em interação incompatíveis. O processo de morte celular na RH é caracterizado pela agregação do citoplasma, parada dos movimentos citoplasmáticos, perda da permeabilidade das membranas, degeneração do núcleo e organelas, além de aumento acentuado da respiração e do acúmulo de compostos fenólicos e fitoalexinas (PASCHOLATI e LEITE, 1995). Se a resposta de hipersensibilidade tiver sucesso uma pequena região do tecido morto permanece no local do ataque do patógeno, mas o restante da planta não é afetado (TAIZ e ZEIGER, 2004).

As proteínas relacionadas com patogênese (PRPs) começaram a ser investigadas no início da década de 70, por Van Loon e Van Kammen (1970), como macromoléculas envolvidas em resistência induzida, tendo fumo-TMV como patossistema-modelo. Hoje, tem-se conhecimento de que as PRPs são produzidas por muitas plantas como resposta à infecção por patógenos (STICHER et al., 1997). Van Loon et al. (1994) propuseram uma nomenclatura para as PRPs, classificando-as em 11 “famílias”. As mais comumente investigadas são PR-1, PR-2 (β -1,3-

glucanases), PR-3 (Quitinases) e PR-5 (Osmotina). Estas proteínas são polipeptídeos produzidos pelo hospedeiro e que não estão presentes em tecidos saudáveis, sendo sintetizados somente em resposta a estresses diversos ou à especificamente devido ao ataque de um patógeno. São proteínas localizadas intra ou extracelularmente, que se acumulam em resposta a substâncias químicas, elicitores, senescência natural, ferimentos ou ataque de patógenos (BALARDIN, 2002). As PRPs acumulam-se em locais distantes do sítio de infecção, (STICHER et al., 1997). Sua síntese e acúmulo possuem caráter de resposta ativa e de sistemicidade, em casos de resistência induzida (LAWRENCE et al., 1996; van LOON, 1997).

3.5 Indução de resistência em plantas a patógenos

A indução de resistência envolve a ativação dos mecanismos latentes de resistência (bioquímicos e estruturais) em uma planta através de tratamentos com agentes bióticos ou abióticos. A manifestação da resistência induzida depende do intervalo de tempo entre o tratamento indutor e a subsequente inoculação com patógeno (desafiador), indicando que mudanças específicas no metabolismo da planta, como a síntese e/ou acúmulo de substância, são importantes e necessárias (PASCHOLATI e LEITE, 1995).

Os indutores de resistência em plantas a patógenos podem ser bióticos ou abióticos. Assim, pode ele ser um ativador químico como os derivados benzotiadiazólicos e outros compostos (ARAÚJO et al., 2005; TÖFOLI, e DOMINGUES, 2005; GURGEL et al., 2005; CAVALCANTI et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006), extratos de células de (MOTOYAMA et al., 2003; BONALDO et al., 2003) ou microrganismos vivos (HOFFLAND, et al., 1996; LIU, et al., 1995). Nesse último caso, quase sempre os agentes são rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (ALSTRÖM, 1991; KLOEPPER 1996; KLOEPPER et al., 1997). Essas

rizobactérias são, internacionalmente, designadas PGPR (“Plant Growth-Promoting Rhizobacteria”).

A proteção induzida pode se manifestar de forma local e/ou sistêmica. De acordo com Agrios (2005), a resistência induzida inicialmente é localizada próximo ao ponto necrótico causado pela infecção ou indutor abiótico. Em seguida a resistência se “espalha” sistemicamente para locais distantes não tratados na planta, tendo efeito prolongado, podendo se estender por toda a vida da planta, dependendo do indutor utilizado, e ainda ser inespecífica, ou seja, de amplo espectro, protegendo a planta contra diversos fitopatógenos (PASCHOLATI e LEITE, 1995; AGRIOS, 2005).

A resistência sistêmica induzida (ISR- Induced Systemic Resistance) e a adquirida (SAR- Systemic Acquired Resistance) são fenômenos distintos, porém, fenotipicamente semelhantes, onde a planta após a exposição a um agente indutor tem seus mecanismos de defesa ativados não só no sítio de indução como, também, em locais distantes de forma generalizada (STICHER et al., 1997). No entanto, SAR e ISR, são fenômenos distintos quanto à forma pela qual são induzidos e desencadeados por mecanismos bioquímicos diferentes, mas semelhantes no resultado final que se expressa sob a resistência sistêmica (ROMEIRO, 1999).

De modo geral, de acordo com Metraux (2007), o termo SAR foi usado inicialmente para descrever a resistência sistêmica observada em muitas plantas após a infecção local por um patógeno necrosante, sendo dependente de ácido salicílico (AS). Já o termo ISR, descreve a resistência sistêmica, induzida pela exposição a um microrganismo não patogênico, como rizobactérias, e não é dependente de AS estando associada à jasminatos e etileno. Assim, ISR foi proposto como um termo genérico, e SAR é usada somente para resistência sistêmica induzida por um patógeno sendo AS-dependente. Durrant e Dong (2004) e Pieterse et al., (2005), afirmam que SAR envolve o acúmulo de proteína PR (Protéínas Relacionadas com Patogênese), é

salicitato-dependente, pode resultar em alterações visuais, como necroses na planta que sofreu a indução, e pode ser induzida por patógenos ou ativadores químicos. No caso ISR, não há acúmulo de proteínas PR, a planta não exhibe necrose, o indutor em geral é um microrganismo não-patogênico, a indução não é dependente de ácido salicílico.

O primeiro estudo a caracterizar em detalhes a ocorrência de SAR, foi realizado por Ross (1961), trabalhando com o patossistema fumo (*Nicotiana tabacum* L.) e o vírus do mosaico do fumo (TMV). Neste estudo, o autor inoculou folhas fumo var. *Samsun* NN com o TMV e observou a indução de alto nível de resistência nas demais folhas não inoculadas, sete dias após o tratamento inicial, resultando em lesões com tamanho e em número reduzido.

Uma cascata de eventos moleculares e bioquímicos está envolvida na expressão de SAR. A iniciação da SAR ocorre pela percepção de indutores (patógenos ou químicos) pela planta, e formação de lesões necróticos resultando na geração de moléculas sinal que são translocadas para pontos distantes do local necrosado. A percepção dos indutores é efetuada através da ligação entre moléculas derivadas do patógenos (elicitors) ou produtos químicos, com um sítio receptor na membrana plasmática ou parede celular vegetal (MORAES, 1998; EDREVA, 2004). A geração e natureza dos sinais bem como o modo de translocação e interação entre eles ainda são alvo de extensos estudos (EDREVA, 2004).

De acordo com Moraes (1998), para que uma molécula atue como sinalizadora, ela deve ser sintetizada pela planta, aumentar sistemicamente após o ataque do patógeno ou outro agente indutor, mover-se através da planta, induzir fitoalexinas e proteínas relacionadas à defesa vegetal, resultando no aumento da resistência a patógenos. A resistência de plantas contra doenças está associada a um conjunto de resposta de defesa ativadas pelo hospedeiro após o contato com agentes patogênicos, que depende da eficiência do hospedeiro em reconhecer a presença de patógenos pelos mecanismos de percepção e transdução de sinais, ocorrendo a ativação de fatores

de transcrição no núcleo da célula vegetal, com a expressão subsequente de genes de defesa (GUZZO, 2004).

O ácido salicílico (AS) é reconhecidamente tido como uma molécula sinal ou pré-requisito para produção de sinais em SAR (CHASAN, 1995; DURRANT e DONG, 2004; EDREVA, 2004). A aplicação exógena de AS induz a expressão gênica de proteínas envolvidas em SAR e reforça a resistência contra patógenos. Após aplicação o AS endógeno acumula-se em níveis altos no local da infecção com um subsequente aumento (em menor quantidade) nos tecidos não infectados.

Evidências sobre o envolvimento do AS em SAR estão descritas em diversos estudos, como os de Gaffiney et al. (1993), onde os autores demonstraram que plantas transgênicas expressando o gene nahG (bacteriano), que codifica o salicilato hidroxilase (Nahg), enzima que catalisa a conversão de AS para catecol, e portanto deixaram de acumular AS e não expressaram SAR em resposta à patógenos, sugerindo a necessidade deste composto para indução de SAR (MORAES, 1998).

A indução de resistência em plantas, além de ser utilizada como uma ferramenta para estudo bioquímicos e fisiológicos dos mecanismos de resistência e suscetibilidade contra fitopatógenos, pode também ser vista como uma possível medida de controle de doenças das culturas.

3.6 Resistência induzida por produtos químicos

O controle químico de doenças de plantas está baseado amplamente no uso de fungicidas, bactericidas e inseticidas através de sua ação direta sob os patógenos ou sobre os vetores de doenças (CASTRO et al., 2007). Pesquisas intensivas em busca de novos conceitos e alternativas

para o controle de doenças têm levado ao desenvolvimento de substâncias capazes de induzirem o sistema de defesa da planta, tornando-a resistente à ação de patógenos sem a alteração de sua constituição genética básica (LEROUX, 1996; RYALS et al., 1996).

A ativação de resistência pode ocorrer em condições controladas ou no campo, além de exibir vantagens como: efetividade contra vírus, bactérias, fungos e nematóides; estabilidade devido à ação de diferentes mecanismos de resistência; caráter sistêmico, persistente e natural da proteção; transmissão por enxertia; economia de energia metabólica e utilização do potencial genético para resistência em todas as plantas suscetíveis (PASCHOLATI, 2002). A desvantagem é uma resistência parcial, incompleta e que pode requerer reativações temporárias, porém, por ser parcial e inespecífica, a resistência induzida não impõe pressão de seleção sobre o patógeno, dificultando, assim, a quebra de resistência (SILVA e RESENDE, 2001).

Qualquer composto ou fator capaz de ativar mecanismos de defesa da planta é denominado agente indutor, e a molécula presente em um indutor responsável diretamente pela ativação dos mecanismos de defesa é denominado eliciador (BONALDO et al., 2005).

Ativação de defesa natural da planta tem sido demonstrada após a aplicação exógena de compostos como 2, 6-dicloroisonicotínico (INA), ácido DL- α -aminobutírico (BABA), acibenzolar-S-methyl (ASM), ácido poliacrílico, tianina, Ecolife[®] (DANTAS et al., 2002), Agro-Mos[®] (DANTAS et al., 2004) e quitosana (JAKAB et al., 2001) dentre outros.

O indutor abiótico BABA é um aminoácido que ao ser aplicado sobre a superfície foliar ou no solo, induz a resistência contra vários patógenos foliares e radiculares. O BABA induz a acumulação de PR-proteínas por diferentes caminhos, dependendo do sistema patógeno-hospedeiro (COHEN, 2001). A aplicação de BABA na dosagem de 2,100 mg.ml⁻¹, em banana ‘Maçã’, propiciou redução de 35,29% na severidade de do mal- do- Panamá quando aplicado quatro semanas antes da inoculação com *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (QUERINO et al., 2005).

Existem relatos de que o benzothiadiazole (acibenzolar-S-methyl) (BTH), análogo do ácido salicílico, tem demonstrado ser um potente ativador de resistência sistêmica induzida, possibilitando a proteção de plantas em condições de campo com relação a um amplo espectro de doenças em várias espécies vegetais (SILVA, et al., 2000). Segundo Yamagushi (1998), o benzotiadiazol (acibenzolar-S-methyl), não possui ação antifúngica direta, atuando supostamente, com papel semelhante ao ácido salicílico na via de transdução do sinal que leve à resistência sistêmica adquirida. A aquisição de resistência através de BTH deve-se principalmente ao acúmulo nas células de PR-proteínas como as proteinases, quitinases e peroxidases. Tais proteínas apresentam a capacidade de degradar as paredes celulares de fungos e bactérias, impedindo o processo infeccioso (MADAMANCHI e KUC, 1991).

O indutor abiótico acibenzolar-S-methyl-ASM (nome comercial BION[®]), considerado ativador de defesas de plantas, possui propriedades de elicitar respostas de resistência em plantas contra um amplo espectro de patógenos (QUERINO et al., 2005). BION[®] é utilizado no Brasil em escala comercial na cultura do tomate, promovendo, além de menor severidade das doenças, incrementos na produção e na qualidade dos frutos (CASTRO et al., 2007). O uso do ASM, formulado com 50 % do i.a. em grânulos (BION WG 50), foi aplicado na concentração de 5,0 mg do i.a.mL⁻¹ de água, aos cinco dias após a germinação do feijão caupi, no qual proporcionou um controle da murcha de fusário na cultivar BR-17 Gurguéia, suscetível à murcha de fusário, na qual apresentou um controle de 68,90%, enquanto a cultivar IPA-206, com resistência intermediária, apresentou 71,59% do controle (RODRIGUES et al., 2006). A ativação da resistência em cultivares suscetíveis foi também observada por Dann e Deverall (2000), em ervilha tratada com ASM e demonstrada pela menor percentagem de área foliar afetada por *U. viciae-fabae*: 1,5% comparado a 9,39% do controle.

Em um trabalho desenvolvido por Smith-Becker et al. (1998), com aplicação de ASM em 50 ou 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, resultou na proteção completa em melões contra *C. lagenarium* (Pass.) Ell. And Halst. Redução de até 55,4% na severidade da doença e um acréscimo na ordem de 10,5% no peso fresco e 35,7% na altura das plantas foram observadas, quando da utilização da dosagem de 20 g do i.a./100 l de água, em comparação com as plantas somente inoculadas com o fungo, evidenciando a eficácia do ASM como indutor e resistência em plântulas de cacaueteiro suscetíveis à murcha-de-Verticillium (CAVALCANTI e RESENDE, 2005). Castro et al. (1999), por sua vez, verificaram proteção do tomateiro contra *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye e Wilkie, agente causal da pinta bacteriana, empregando igual dosagem do ASM (2,5 g i.a./100 L água).

Segundo alguns autores (OOSTENDORP et al., 2001; LOUWS et al., 2001), o ASM apresenta as vantagens de perfil ecotoxicológico aceitável, amplo espectro de ação, com base em mecanismo que não apresenta risco maior de seleção de estirpes resistentes de fitopatógenos.

O Ecolife[®] é uma formulação comercial constituída de diversos composto orgânicos (bioflavonóides cítrico, ácido ascórbico, fitoalexinas cítricas, ácidos orgânicos e açúcares), obtido industrialmente por extração e/ou fermentação de um substrato orgânico derivado de plantas cítricas (SOBRINHO et al., 2005), que bioestimulam as plantas a produzirem suas próprias defesas. Pode ser aplicado alternadamente com outros produtos, é atóxico, não corrosivo e não volátil e tem uso na pré e pós-colheita sem período de carência (DANTAS et al., 2004).

Entre os indutores bióticos, o Agro-Mos[®] que é um mananoligossacarídeo fosforilado derivado da parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (Hansen), tem demonstrado eficiência no controle de doenças (DANTAS et al., 2004).

A ação do indutor quitosana pode se dar através da criação de uma barreira estrutural, pela lignificação da parede celular, ou pelo efeito inibitório sobre o crescimento de fungos

fitopatogênicos (BENHAMOU et al., 1998). De acordo com Rodrigues et al. (2006), o uso da quitosana na concentração de 2 mg/mL, proporcionou o segundo maior controle da murcha de *Fusarium* do feijão caupi, com redução de 65,40% para a cultivar BR-17 Gurguéia e 47,59% para a cultivar IPA-206.

3.7 O Silício como indutor de resistência

A nutrição mineral é um fator ambiental passível de ser manipulado pelo homem com relativa facilidade e utilizado como complemento ou método alternativo no controle de doenças (MARSCHNER, 1995).

O silício (Si) como fertilizante é muito utilizado em vários países como Japão e, atualmente, está sendo muito pesquisado no Brasil, Austrália e África do Sul. O Japão utiliza o silício no cultivo de arroz há várias décadas. Em Maurícius, uma pequena ilha localizada no Oceano Índico, grande produtor de cana-de-açúcar, usa-se cimento como fonte de Si. Ainda nesse país a análise de Si no solo é rotina nos laboratórios de fertilidade do solo. Os EUA já incorporam a adubação com Si nas culturas de arroz e cana-de-açúcar, utilizando, principalmente, o silicato de cálcio e magnésio, um subproduto da indústria siderúrgica e da produção de fósforo elementar. No Brasil existem várias marcas comerciais de produtos contendo Si. Por exemplo, o adubo fosfatado termofosfato possui aproximadamente 22% de SiO_2 na sua composição (KORNDÖRFER, 2003).

Um número grande de materiais tem sido utilizado como fonte de Si para as plantas tais como: escórias de siderurgia, wolastonita, sub-produtos da produção de fósforo elementar, em fornos elétricos, metasilicato de cálcio, metasilicato de sódio, cimento, termofosfato, silicato de magnésio (serpentinitos) e silicato de cálcio. A wolastonita é o silicato de cálcio considerado

padrão internacional, e dessa forma, muito empregado em experimentação (KORNDÖRFER et al., 2002).

Entre os elementos minerais, o silício tem proporcionado resultados promissores no controle de doenças em plantas, embora não atenda aos critérios de essencialidade. O silício é considerado elemento útil e benéfico para as plantas. Plantas em ambiente enriquecido com silício diferem das cultivadas com deficiência do elemento, principalmente, quanto à composição química, resistência mecânica das células, características de superfície foliar, tolerância ao estresse abiótico e a ocorrência de pragas e doenças (EPSTEIN 1999; EPSTEIN e BLOOM, 2006).

O Si é absorvido pela planta na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4) (YOSHIDA, 1975; TAKAHASHI, 1996). No interior da planta, 99% de Si acumulado encontram-se na forma de ácido silícico polimerizado, o restante, 1%, encontra-se na forma coloidal ou iônica (YOSHIDA, 1975).

Segundo Faria (2000), a produção de grãos do arroz cresceu de forma positiva com o aumento das doses de Si aplicada. Independentemente do tipo de solo, houve um aumento linear da produção que variou de 38,6 para 54,3 g vaso⁻¹ na Areia Quartzosa e de 60,6 para 79,0 g vaso⁻¹ no Latossolo Vermelho-amarelo, respectivamente para as doses 0 de 600 Kg ha⁻¹ de Si. Com esse comportamento linear, o autor sugere que a produção de grãos poderia ser maior, caso fossem utilizadas doses de Si superiores a 600 Kg ha⁻¹.

Também foram encontrados em plantas de pepino, cultivadas em solução nutritiva, suplementada com 100 mg.kg⁻¹ de silicato de potássio houve redução no crescimento das colônias de oídio nas folhas das plantas tratadas, atribuída à presença de silício ao redor das hifas (SAMUELS et al., 1991b). Os mesmos autores em outro experimento (1991a) observaram em plantas de pepino suplementadas com 0,1g kg⁻¹ de solo de silicato de potássio, o depósito de Si na

base do tricoma, ao redor das hifas e dos conidióforos de *Sphaerotheca fuliginea*. Em estudos realizados na superfície de folhas de videira e de pepino pulverizadas com 1g de Si.l⁻¹, também foi observado o acúmulo de Si, de maneira a constituir barreira física e impedir o crescimento das hifas de *Uncinula necator* (BOWEN et al., 1992) e *S. fuliginea* (SAMUELS et al., 1991a).

Feijoeiro (*Phaseolum vulgaris*) com silicato apresentaram menor área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) quando comparadas ao tratamento com óxido de cálcio (1,76g.kg⁻¹ de CaO) incorporado ao solo, inoculadas com a maior concentração de inóculo, ou seja, 10⁶ conídios/mL de *Colletotrichum lindemuthianum*, evidenciando o efeito do Si em reduzir a intensidade da antracnose (MORAES et al., 2006).

O Si tem sido avaliado como um potencial agente envolvido na manifestação de defesa de plantas a patógenos, segundo Rodrigues e Datnoff (2007), o uso de Si pode ser uma prática desejável no controle de doenças de plantas, principalmente para aquelas culturas capazes de acumular este elemento.

Capítulo 1

REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE PEPINEIRO À MANCHA DE CORINÉSPORA (*Corynespora cassicola*)

1 INTRODUÇÃO

As hortaliças exercem um importante papel econômico, social e nutricional na cadeia produtiva de alimentos. Sua produção, entretanto, tem sido constantemente ameaçada pelo ataque de grande número de doenças causadas por diferentes patógenos.

A cultura do pepino (*Cucumis sativus* L.) em algumas localidades do Estado do Amazonas tem sido grandemente afetada pelo fungo *Corynespora cassicola* (Berk e Curt.) Wei principalmente em época de chuva, atingindo níveis epidêmicos de mancha de corinéspora dentro de poucos dias após a visualização dos primeiros sintomas nas plantas. O patógeno é considerado de difícil controle, uma vez que pode atacar outras culturas importantes, como pimentão (*Capsicum annum* L.), quiabeiro [*Abelmoschus esculentus* (L.) Monch], vinagreira (*Hibiscus sabdariffa* L.), abóbora (*Cucurbita pepo* L.), maxixe (*Cucumis anguria* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e alface (*Lactuca sativa* L.) (CUTRIM e SILVA, 2003; BOITEUX e REIS, 2007; SANTOS et al., 2007). Segundo Verzignassi et al. (2003), os fungicidas utilizados para o controle de outras manchas foliares em cucurbitáceas não têm apresentado resultados práticos no controle dessa doença.

Sabendo-se que o uso de cultivares resistente constitui o método mais eficiente, racional e econômico para evitar ou ao menos diminuir os danos causados por patógenos, e devido à grande importância que a mancha de corinéspora tem assumido em cultivo de pepino, estudos sobre o

comportamento de híbridos comercializados em Manaus são necessários visando avaliar a suscetibilidade destes materiais e a busca de medidas de manejo da doença e a identificação de híbridos com maior nível de resistência à doença que possam ser recomendados aos agricultores locais.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar a resposta de genótipos comerciais de pepineiro (*Cucumis sativus*) à mancha de corinéspora (*Corynespora cassiicola*), em casa de vegetação.

Objetivo específico

- Selecionar genótipos de pepineiro resistentes e suscetíveis à mancha de corinéspora.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Setor de Produção da Faculdade de Ciências Agrárias da UFAM no período de janeiro a março de 2008.

A severidade da mancha de corinéspora foi avaliada em dez genótipos de pepineiro, sendo estes a cultivar Aodai, General Lee F1, Hokushim, Japonês Híbrido F1 (Soudai), Jóia, Marketmore 76 (verde comprido), Natsubayashi, Natsu suzumi, Sprint 440 II e Tsuyataro. Sendo todos os genótipos obtidos no comércio.

Preparo e cultivo das plantas

Para produção das mudas duas sementes de cada cultivar foram semeadas em copos de plástico com capacidade de 180 mL, contendo o substrato para produção de mudas Plantimax HT[®]. Sete dias após a germinação procedeu-se o desbaste das plântulas (Figura 3), permanecendo uma planta em cada copo. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, sendo irrigadas diariamente.



Figura 3 - Desbaste de pepineiro.
FONTE: Silva, 2008.

Obtenção e cultivo do patógeno

O isolado do fungo *C. cassicola* foi obtido a partir de plantas de pepineiro naturalmente infectadas, apresentando sintomas típicos da doença, coletadas em cultivos na periferia de Manaus-AM. As amostras foram coletadas em sacos de papel e transportadas para o Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Agrárias da UFAM, onde foi feito o isolamento indireto do fungo.

Inicialmente as folhas foram analisadas sob lupa e foram confeccionadas lâminas de microscopia para a confirmação da presença do patógeno nas lesões. Em seguida as folhas foram lavadas em água corrente e selecionadas àquelas com lesões mais novas, visando reduzir a presença de microrganismos saprófitas. Com um auxílio de um bisturi foram retirados fragmentos foliares de 5mm² da área de transição entre parte lesionada e a sadia, onde se espera que o patógeno esteja em crescimento ativo. Os fragmentos foram submetidos a uma desinfestação superficial em álcool 70% durante 30 segundos, hipoclorito de sódio 2% por 30 segundos, seguida de três lavagens em água destilada esterilizada. O excesso de água foi removido em papel de filtro esterilizado. Após a desinfestação, em ambiente asséptico (câmara de fluxo laminar vertical) foram depositados cinco fragmentos equidistantes em placas de Petri contendo meio de cultura AA (ágar-água 1L de água destilada, 20g Agar), e mantidos em ambiente de laboratório durante 48 horas. Ao surgirem os primeiros fragmentos de hifas no meio, estes foram repicados para novas placas contendo meio BDA (batata-dextrose-agar: 200g de batata, 20g de dextrose e 20g de Agar), para a individualização das colônias. Os isolados obtidos foram mantidos em tubos de ensaio contendo o meio BDA inclinado em incubadora BOD em temperatura de 27 °C até a montagem dos ensaios.

Inoculação das plantas

Por ocasião da inoculação foi selecionado um isolado do patógeno que apresentou melhor capacidade de esporulação. O isolado foi repicado para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e mantido sob iluminação contínua durante dez dias para induzir a produção de esporos.

Foi utilizada uma suspensão de inóculo na concentração de 10^4 conídios/mL, obtida a partir da coleta dos conídios produzidos na placa de Petri, onde foi adicionado 40mL de água destilada esterilizada e com o auxílio de um pincel de cerdas macias foi feita a remoção dos conídios para a solução, que em seguida foi coletada em um béquer e a suspensão foi ajustada para concentração utilizada (10^4 conídios/mL), por meio do método de contagem em gota.

Foram inoculadas plantas de pepineiro dos dez genótipos, com 30 dias de idade (30 dias após a germinação). As plantas foram pulverizadas com a suspensão de inóculo, na face adaxial e abaxial, evitando o escorrimento do inóculo pelas folhas. Em seguida as plantas foram mantidas em câmara úmida, feitas com sacos de plástico transparentes umedecidos (Figura 4), durante 48 horas. Após este período a câmara úmida foi removida e iniciou a avaliação da severidade da doença.



Figura 4 - Plantas de pepineiro em câmara úmida após a inoculação em casa de vegetação.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso, com dez repetições, sendo cada unidade experimental constituída por uma planta/copo. A testemunha constou de dez plantas de cada genótipo avaliado, pulverizadas com água destilada esterilizada.

Avaliação

A avaliação foi feita diariamente por meio da quantificação da severidade da doença nos diferentes materiais estudados, através da escala de notas descrita por Oliveira et al. (2006), onde: 0 = ausência de sintomas; 1 = < 1% de área foliar afetada (afa), 2 = 1 a 3% afa; 3 = 3 a 6% afa; 4 = 6 a 12% afa; 5 = 12 a 25% afa; 6 = 25 a 50% afa e 7 = >50% afa. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente, utilizando o programa SAEG[®] versão 9.0 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas, Universidade Federal de Viçosa – MG, 2003), construídas a curva de progresso da doença e calculada a área abaixo da curva de progresso da doença AACPD, de acordo com a fórmula descrita por Campbell e Madden (1990) e Jesus Junior (2004).

$$AACPD = \sum_i^{n-1} \left(\frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

Onde:

n= número de avaliações

y= intensidade da doença (severidade)

t = tempo quando da avaliação da severidade da doença (24 horas)

$(y_i + y_{i+1})$ = altura média do retângulo entre os pontos y_i e y_{i+1}

$(t_{i+1} + t_i)$ = diferença da base do retângulo entre os pontos t_{i+1} e t_i .

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da severidade da doença permitiu distinguir quatro grupos entre os dez genótipos de pepino avaliados (Tukey 5%), apresentando diferentes níveis de resistência/suscetibilidade à *C. cassiicola*, conforme a Tabela 1.

Genótipos	Severidade (%)	Reação
Aodai	5,44a	R
Hokushim	15,55b	MR
Soudai (Japonês Híbrido F1)	20,95b	MR
Natsubayashi	22,53b	MR
Verde Comprido (Marketmore 76)	34,85b	MR
General Lee F1	54,60c	MS
Natsu-suzumi	67,33c	MS
Jóia	72,80c	MS
Sprint 440 II	75,40c	MS
Tsuyataro	90,00d	S

Tabela 1- Severidade média de genótipos de pepineiro inoculados com *Corynespora cassiicola*. Reação: R – resistente, MR – moderadamente resistente, MS – moderadamente suscetível, S – suscetível. Letras distintas representam diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A severidade da doença foi maior no híbrido Tsuyataro, diferindo estatisticamente dos demais genótipos avaliados, com severidade média de 90%. A cultivar Aodai apresentou severidade média da doença de 5,4%, sendo considerada como mais resistente. Os demais genótipos apresentaram reações intermediárias à doença, sendo agrupados como moderadamente resistentes e moderadamente suscetíveis (Tabela 1).

Estes resultados concordam parcialmente com os obtidos por Oliveira et al. (2006), em estudo avaliando a reação de híbridos de pepino contra *C. cassiicola* em cultivo protegido no

Norte do Paraná, onde o híbrido Tsuyataro foi o mais suscetível aos isolados testados, e o híbrido Natsubayashi foi o mais resistente. Neste estudo o híbrido Tsuyataro demonstrou ser o de maior suscetibilidade e o Natsubayashi foi moderadamente resistente. É provável que esta diferença entre os resultados deste trabalho esteja relacionada com a agressividade do isolado utilizado, condições ambientais durante a condução dos ensaios e com a gama de genótipos avaliados, já que no trabalho destes autores somente quatro híbridos foram testados.

A análise de variância da AACPD constatou diferenças significativas (Tukey 5%) entre os genótipos, demonstrando que há variabilidade na resposta à infecção de *C. cassicola*, assim, como a magnitude da severidade foi suficiente para discriminar os híbridos resistentes e suscetíveis.

A cultivar Aodai que foi a mais resistente pela análise de severidade, também, foi a que apresentou menor AACPD (386,88), em contraposição ao híbrido Tsuyataro que foi o mais suscetível e apresentou maior valor da AACPD (7390,80).

Híbridos	AACPD
Aodai	386,88d
Hokuchin	1244,64c
Soudai	1608,24c
Verde Comprido	1735,68c
Natsubayashi	1950,96c
General Lee F1	2981,52b
Sprint	4555,68b
Jóia	4724,88b
Natsu-suzumi	5401,92b
Tsuyataro	7390,80a
Média	3198,12

Tabela 2 - Área abaixo da curva de progresso da doença dos dez genótipos de pepineiro. Letras distintas representam diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

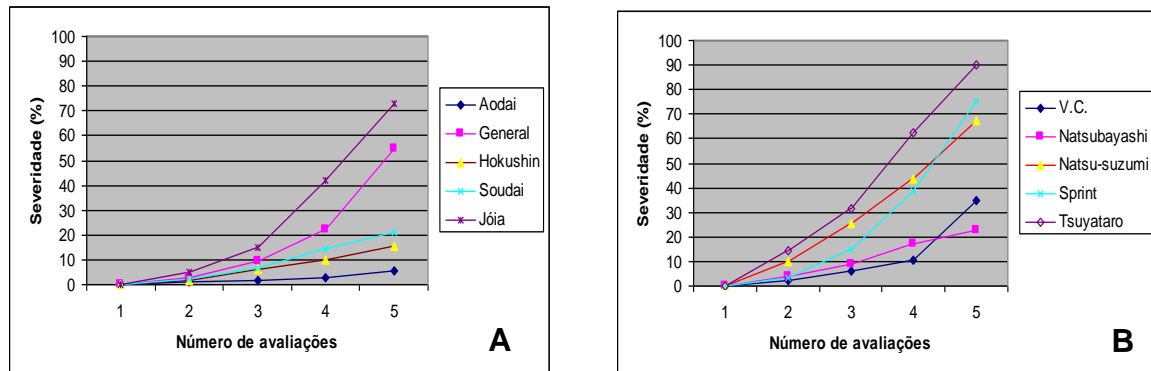


Gráfico 1 – Curva de progressão da mancha de corinéspora (CPMC) em plantas de pepineiro em casa de vegetação com dez genótipos.

Conforme demonstrado na curva do progresso da doença (Gráfico 1 A e B), que a partir da segunda avaliação o híbrido Tsuyataro já apresentava severidade superior a 10% seguido pelo híbrido Natsu suzumi com 10% de severidade (Gráfico 1 B). Ao final da avaliação o híbrido Tsuyataro apresentou 90% de severidade (Gráfico 1 B), enquanto que a cultivar Aodai não chegou a 10% de severidade. A curva de progresso da doença foi menos acentuada para os genótipos Natsubayashi, Verde Comprido, Soudai, Hokushin e Aodai que foram os menos suscetíveis à doença (Gráfico 1).

Diversos mecanismos de defesa tanto estrutural como bioquímicos podem estar envolvidos na manifestação de resistência das plantas aos fitopatógenos (PASCHOLATI e LEITE, 1995; AGRIOS, 2005). Para o patossistema *C. cassiicola* e pepineiro a literatura ainda é escassa, no entanto Vallad et al. (2008), citam que na Europa o controle desta doença em pepineiro tem sido feito com as plantas resistentes por mais de 15 anos e que plantas resistentes a este fungo, também, tem sido relatados para soja e tomateiro, sendo que neste último o fungo *C. cassiicola* é um importante patógeno, principalmente, na Região Norte do Brasil (LOPES et al.,

2005). Boiteux e Reis (2007) relatam que no país não existem cultivares comerciais de tomate resistentes à mancha alvo, apesar de que fontes de resistência já tenham sido identificadas em outros países, além disso a literatura é escassa sobre fontes de resistência à mancha alvo. Esta escassez de informações pode ser explicada pelo fato desta doença, tanto em tomateiro como em pepineiro ser de importância regional, o que não desperta o interesse por ações de pesquisa visando o desenvolvimento de cultivares resistentes.

Recentemente a empresa Agristar lançou no mercado nacional o híbrido de pepino japonês KOUKI F1, como sendo resistente a *C. cassicola*. Este híbrido tem sido utilizado por produtores no município de Iranduba-AM e tem apresentado baixa incidência da doença (informação pessoal técnico Agrícola Aildo).

Sabe-se que uso de cultivares resistentes constitui o método mais eficiente, racional e econômico para evitar ou ao menos diminuir os danos causados por fitopatógenos. No entanto é necessário avaliar continuamente o comportamento de genótipo em relação às doenças, não só para direcionar estudos futuros de melhoramento visando à obtenção de cultivares resistentes, mas também para orientar a escolha e a recomendação de cultivares. Além disso, a durabilidade da resistência das cultivares em campo pode ser comprometida pelo surgimento de raças do patógeno capazes de vencer a resistência das plantas (CAMARGO, 1995; AGRIOS, 2005), sendo necessário o desenvolvimento de novas cultivares.

Embora o melhoramento de plantas tente explorar a variabilidade genética existente dentro de cada espécie, esta tem se tornado limitado em alguns casos, com o rápido aparecimento de patógenos e seus variantes. Recursos genéticos adicionais têm sido requeridos para preencher as necessidades de geração de variabilidade, sendo esta imprescindível no combate às doenças de plantas (PRESTES, 1995).

Conforme o comportamento dos pepineiros testados em relação à *C. cassicola*, é possível sugerir que o cultivo dos genótipos Tsuyataro, Sprint 440II, Natsu suzumi e Jóia sejam evitados em locais onde exista histórico da ocorrência de *C. cassicola* no Amazonas, devido à suscetibilidade observada.

5 CONCLUSÕES

Os dez genótipos de pepineiro avaliados apresentaram variabilidade quanto à resistência e suscetibilidade à mancha de corinéspora.

O genótipo Aodai foi o mais resistente à doença.

O genótipo Tsuyataro foi suscetível ao patógeno.

Capítulo 2

EFEITO DE INDUTORES QUÍMICOS DE RESISTÊNCIA NA SEVERIDADE DA MANCHA DE CORINÉSPORA (*Corynespora cassiicola*) EM PEPINEIRO

1 INTRODUÇÃO

O controle químico de doenças de plantas é uma das medidas mais empregadas na agricultura por prevenir infecção de patógenos que podem se instalar na cultura e ou erradicar infecções já instaladas nos tecidos da planta hospedeira.

Apesar da diversidade de fungicidas disponíveis no mercado, o produtor agrícola ainda enfrenta dificuldade no controle de doenças, especialmente quando as condições climáticas tornam-se extremamente favoráveis aos patógenos, reduzindo assim o resultado potencial de controle (CASTRO et al., 2007).

De modo geral as plantas se defendem do ataque de patógeno, utilizando mecanismos estruturais de defesa, os quais atuam como barreira física e inibem a entrada e disseminação do patógeno no interior do hospedeiro, e pelo uso de mecanismos bioquímicos, os quais reagem nas células e tecidos da planta, produzindo substâncias que são tóxicas para o patógeno ou inibem seu crescimento no hospedeiro (AGRIOS, 2005). Apesar da contribuição dos mecanismos estruturais na defesa da planta ser significativa, os mecanismos bioquímicos, sem dúvida, representam a via mais importante de resistência (LIMA et al., 2005).

Nos últimos anos o uso de indutores de resistência à patógenos vem sendo estudado nos mais variados patossistemas e envolve múltiplos eventos bioquímicos e fisiológicos compondo um mecanismo de resistência induzida contra a infecção. Diversos mecanismos podem ser ativados durante o fenômeno de indução de resistência (CAVALCANTI e RESENDE, 2005). A planta procura ativar todas as rotas de defesa para evitar o estabelecimento de relações parasitárias e o patógeno tenta anular o efeito inibitório gerado (GÓMEZ-GOMEZ, 2004).

Costuma-se diferenciar o tipo de resistência envolvido com cada via. Assim, tem-se assumido que a RSA envolve o acúmulo de PR-proteínas (proteínas relacionadas à patogênese) como mecanismos induzidos de defesa da planta, sendo sua indução salicilato dependente, podendo resultar em alterações visuais (necrose, por exemplo) na planta que sofreu indução e é geralmente induzida por patógenos ou ativadores químicos. No caso da RSI, não há acúmulo de PR-proteínas, a planta que sofreu indução não exhibe alterações, o agente indutor é usualmente um microrganismo não-patogênico e sua indução não é salicilato-dependente, havendo outra rota de sinalização associada à jasmonatos e etileno (BONALDO et al., 2005).

Diante do potencial que os indutores químicos apresentam para o controle de doenças de plantas, é de grande interesse que estes produtos sejam avaliados nas condições regionais, como uma medida alternativa para o controle da mancha de corinéspora em pepineiro.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral:

- Avaliar o efeito de indutores químicos de resistência a doenças de plantas no desenvolvimento de *Corynespora cassiicola*, *in vitro* e *in vitro* em plantas de pepineiro.

Objetivos específicos:

- Verificar o efeito de acibenzolar-s-metil, produto a base de extratos cítricos e silicato de potássio no crescimento micelial e na esporulação de *Corynespora cassiicola in vitro*;

- Avaliar o efeito de indutores químicos de resistência, em diferentes dosagens, sobre a severidade da mancha de corinéspora em genótipos de pepineiro.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Determinação do efeito dos indutores de resistência no crescimento micelial de *Corynespora cassiicola*, *in vitro*

Este ensaio foi realizado visando verificar o efeito dos indutores de resistência à doenças de plantas no desenvolvimento do patógeno *C. cassiicola*, como um pré-requisito para a seleção de indutores químicos de resistência à doenças de plantas que, de acordo com Steiner e Schönbeck (1995), o agente indutor não deve ter efeito tóxico sobre o patógeno desafiante.

Foram utilizados os indutores Ecolife[®]: a) que é um produto constituído de bioflavonóides cítricos, fitoalexinas cítricas e polifenóis, ácido ascórbico, ácido láctico, ácido cítrico e glicerina vegetal; fabricado pela empresa Quinabra - Química Natural Brasileiro LTDA); b) Acibenzolar-S-Metil o qual trata-se do produto comercial BION[®], fabricado pela empresa Syngenta; c) silicato de Potássio, produto comercial chamado Fertilil[®] – constituído por óxido de potássio e óxido de silício solúvel, fabricado por INEOS Sílicas Ltda.

Para cada produto foram testadas duas doses: Ecolife[®] nas doses de 1,0 e 2,5 mL/500 de meio de cultura; BION[®] nas doses 0,050 e 0,025g/500 e Fertilil[®] nas doses de 0,025 e 0,050 g/500. Estas foram incorporadas ao meio de cultura BDA (200g de batata, 20g de dextrose, 20g de agar) fundente (temperatura de 37 °C). A verificação do pH do meio foi feita após a adição dos indutores, utilizando-se tiras indicadoras de pH (VETEC), em seguida o meio foi vertido em placas de Petri de nove centímetro de diâmetro.

Os isolados do fungo utilizado foram obtidos conforme descrito no item 3.2, do capítulo 1 deste trabalho. Antecipadamente, os isolados foram mantidos em tubos de ensaio com BDA, inclinado, os quais foram repicados para placas de Petri, contendo o mesmo meio de cultura e deixados sob iluminação contínua durante dez dias, visando estimular a produção de esporos. Foi

selecionado para o ensaio *in vitro*, aquele isolado que apresentou melhor capacidade de esporulação.

A partir das colônias com dez dias de idade, foram retirados discos de meio de cultura com 0,5 cm de diâmetro e depositados no centro das placas de Petri contendo BDA acrescidos dos indutores. As placas foram mantidas em incubadora BOD, em temperatura de 27 °C, durante todo o período de avaliação.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com sete tratamentos e dez repetições, sendo cada placa de Petri uma unidade experimental. A testemunha constou do cultivo do fungo em placas contendo somente o meio BDA.

As avaliações foram realizadas em intervalos de 24 horas, por meio da medição do diâmetro das colônias, (Figura 5), em sentidos opostos, até que o crescimento da colônia de um dos tratamentos atingisse a borda da placa.

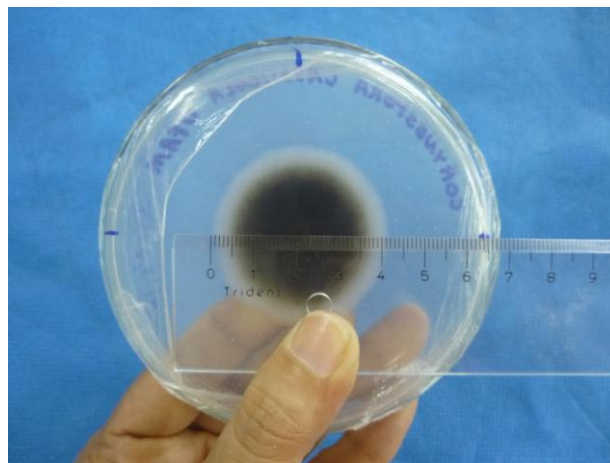


Figura 5 - Medição do diâmetro das colônias de *Corynespora cassiicola*.

Com os dados obtidos foi calculado o diâmetro das colônias, através da média entre as medidas tomadas no sentido longitudinal e transversal da colônia. Estes valores foram usados para o cálculo do índice de crescimento micelial (ICM) de acordo com a fórmula descrita por (PERES et al., 2003).

$$\text{ICM} = \frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \dots + \frac{C_N}{N_N}$$

Onde:

ICM = Índice de crescimento micelial.

C_1 = Crescimento micelial no primeiro dia.

N_1 = Número de dias.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando-se o programa de análises estatísticas SAEG 9.0.

Determinação do efeito dos indutores de resistência na esporulação de

Corynespora cassicola, in vitro

Imediatamente após a avaliação do crescimento micelial foi iniciada a quantificação da produção de esporos do fungo, nos diferentes tratamentos, utilizando a técnica de contagem em gota; a qual consistiu no preparo de uma suspensão de conídios, obtida adicionando-se 20 mL de água destilada em cada placa, e com auxílio de um pincel de cerdas macias foram realizados movimentos suaves na colônia para liberação dos conídios dos conidióforos, como mostra a Figura 6.

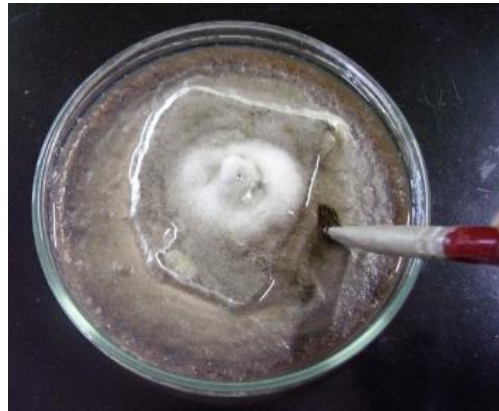


Figura 6 - Preparo de suspensão de esporos de *Corynespora cassiicola*.

A suspensão foi coletada em um béquer e com o auxílio de uma micropipeta foram retidas três alíquotas de 10 μ l e depositadas em lâminas para microscopia, onde foram contados todos os conídios presentes em cada gota, em microscópio de luz sob objetiva de 40X. Após a contagem dos conídios foi calculada a média do número de esporos nas três gotas determinando a concentração de esporos na suspensão, através de regra de três simples.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade; por meio do programa de análises estatísticas SAEG 9.0.

Efeito dos indutores de resistência na severidade da mancha de corinéspora (*Corynespora cassiicola*) em pepineiro

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação, no Setor de Produção da Faculdade de Ciência Agrárias da UFAM no período de março a outubro de 2008. Foram utilizadas sementes de pepino Aodai e Tsuyataro, consideradas respectivamente, resistente e suscetível ao patógeno, de acordo com os resultados obtidos no capítulo 1, deste trabalho.

Preparo das mudas

As sementes foram semeadas em bandejas de poliestireno expandida de 128 células, duas por células, contendo substrato para produção de mudas (Plantimax HT[®]). Seis dias após a germinação realizou-se o desbaste, permanecendo uma planta por célula, e no dia seguinte foram transplantadas para copos de 300 mL contendo terriço previamente autoclavado e corrigido de acordo com análise de solo e o recomendado para a cultura. As características químicas do solo utilizado apresentaram pH (H₂O) 5,33; Al 1,1 cmol (c)/Kg; H+Al 15,84 cmol (c)/Kg; Ca 1,6 cmol (c)/Kg; Mg 0,4 cmol (c)/Kg; P 3,0 mg/Kg; K 13,4 mg/Kg; M.O. 48,78 g/Kg.

Aplicação dos indutores

Os indutores químicos de resistência a doenças foram aplicados em plantas de pepineiro com treze dias de idade. Foram realizados dois experimentos separadamente, utilizando diferentes doses dos indutores. No primeiro experimento os produtos foram aplicados nas doses 1,0 e 2,5 mL de Ecolife[®]/500 mL de água destilada; 0,025 e 0,050 g de BION[®]/500 mL de água e 4,0 e 7,5 g Fertilil[®]/500 mL de água. No segundo experimento foram testadas as doses de 3,0 e 7,5 mL de Ecolife[®]/500mL de água; 0,075 e 0,15g de BION[®]/500mL de água; e 12,0 e 22,5g de Fertilil[®]/500mL de água.

Inicialmente as plantas foram tratadas com a solução dos indutores, para a ativação de mecanismos de defesa. Antes da aplicação o pH da calda foi verificado, usando-se tiras indicadoras de pH (VETEC). A aplicação dos produtos foi feita por pulverização nas plantas com a solução dos indutores nas diferentes dosagens, utilizando um pulverizador manual com capacidade para 2L.

Inoculação com o patógeno

A inoculação do desafiante (*C. cassicola*) foi realizada 48 horas após a aplicação dos tratamentos com os possíveis indutores de resistência. Para isso o isolado do patógeno foi repicado para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e mantido sob iluminação contínua durante dez dias para induzir a produção de esporos.

A inoculação foi feita utilizando uma suspensão de inóculo na concentração de 10^4 conídios/mL, obtida a partir da coleta dos conídios produzidos na placa de Petri, onde foram adicionados 40 mL de água destilada esterilizada e com o auxílio de um pincel de cerdas macias foi feita a remoção dos conídios para a solução, que em seguida foi coletada em um béquer e a suspensão foi ajustada para concentração utilizada de 10^4 conídios/mL, pelo método de contagem em gota, descrito no item 5.2.

A suspensão de conídios foi inoculada por pulverização, na superfície adaxial das duas primeiras folhas definitivas e completamente expandidas de cada planta, em um volume de 2mL de inóculo por planta. Em seguida as plantas foram mantidas em câmara úmida, feita com saco plástico transparente umedecido, durante 48 horas. Após este período, foi removido o saco plástico e iniciada a fase de avaliação da doença.

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial $8 \times 3 \times 2$ com cinco repetições, cada repetição correspondeu a uma planta. Os fatores constituídos por oito tratamentos (seis doses dos indutores e as duas testemunha), três indutores e dois genótipos da planta. A testemunha constou de plantas inoculadas com o patógeno e não tratadas com os indutores e de plantas não inoculadas e tratadas com água destilada e esterilizada.

Avaliação

As avaliações foram realizadas em dias alternados até o décimo dia após a inoculação, observando-se o surgimento de sintomas da doença, e os seguintes componentes de resistência: número de lesões por cm^2 de área foliar, tamanho médio de lesões, severidade e período de incubação.

Para o número de lesões foi adaptado um molde com área conhecida (1 cm^2), conforme descrito por Castro (1997), que colocado sobre cada folha em três pontos equidistantes, registrou-se o número de lesões/ cm^2 de área foliar (Figura 7A).

O diâmetro das lesões foi avaliado com auxílio de uma régua milimetrada, procedendo à medição das quatro maiores lesões da folha (Figura 7B).

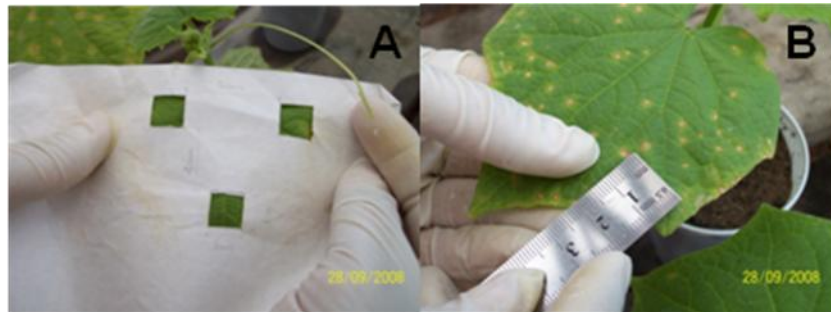


Figura 7 – Avaliação do número de lesões por cm^2 de área foliar (A) e tamanho médio de lesões (B) em folha de pepineiro.

A severidade foi avaliada de acordo com a escala de notas descrita por Oliveira et al. (2006), com atribuição de notas: 0 = Ausência de sintomas, 1 = < 1% de área foliar afetada, 2 = 1 a 3% de afa , 3 = 3,1 a 6% de afa, 4 = 6,1 a 12% de afa , 5 = 12,1 a 25% de afa , 6 = 25,1 a 50% de afa e 7 = > 50,1% de afa .

O período de incubação (tempo decorrido desde a inoculação até o aparecimento dos primeiros sintomas) foi registrado diariamente, sendo o número de lesões (de 1 a 3 mm de diâmetro) por folha até que todas estivessem lesionadas.

Para cada tratamento foram utilizadas cinco plantas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial $3 \times 2 \times 2$, com cinco repetições. Cada repetição correspondeu a uma planta. Os fatores estudados foram: três indutores, duas cultivares e duas doses de cada indutor. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação do efeito dos indutores de resistência no crescimento micelial e produção de esporos de *Corynespora cassiicola* *in vitro*

O crescimento micelial apresentou diferença significativa nos tratamentos quando comparado com a testemunha (Tabela 3).

Tratamentos	I.C.M.	Nº de conídios
Testemunha BDA	6.93a	172.20a
Bion 0.025 g/500	5.55b	79.63b
Bion 0.050 g/500	5.30b	50.43bc
Ecolife 1 mL/500	3.89c	40.90bc
Ecolife 2,5 mL/500	2.83d	20.26bc
Fertilil 0,025 g/500	0.00e	0.00d
Fertilil 0,050 g/500	0.00e	0.00d

Tabela 3 - Efeito de acibenzolar-s-metil, produto a base de extrato cítrico e silicato de potássio no índice de crescimento micelial (I.C.M.) e número de conídios *in vitro* de *Corynespora cassiicola*. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O silicato de potássio (Fertilil[®]) incorporado ao meio de cultura BDA inibiu completamente o crescimento micelial do fungo na concentração de 0.025 e 0.05g/500, diferindo significativamente dos demais tratamentos. Esse comportamento demonstra que o silicato de potássio pode apresentar ação direta sobre o crescimento micelial de *C. cassiicola*, *in vitro* (Tabela 3).

Nas diferentes dosagens do Acibenzolar-S-metil e do silicato de potássio não diferiram entre si. Porém entre as dosagens do indutor Ecolife[®] houve diferença, e quanto maior a concentração do indutor menor o diâmetro da colônia, inferindo-se que o fungo pode ser inibido sob diferentes dosagens e comportar a diferentes níveis de concentrações do indutor em condições de substrato do hospedeiro durante o processo de patogênese (Tabela 3).

Considerando o efeito *in vitro* dos indutores testados sobre a germinação de conídios de *C. cassiicola*, os tratamentos foram inferiores à testemunha, diferindo estatisticamente em todas as dosagens empregadas.

Pelo fato do silicato de potássio ter inibido completamente o desenvolvimento micelial, conseqüentemente, não houve germinação de conídios, diferenciando estatisticamente de todos os demais tratamentos inclusive à testemunha (Tabela 3). Pode ser que essa inibição seja devido às condições desfavoráveis ao fungo no ensaio *in vitro*, pela qual esteve em contato direto com o indutor, o que talvez não se repetisse em casa de vegetação ou em campo.

Tanto o acibenzolar-s-metil quanto o produto a base de extrato cítrico não diferiram estatisticamente entre si, e na maior dosagem testada desfavoreceu a germinação dos conídios (Tabela 3). Resultados semelhantes foram relatados por Querino et al. (2005), que constataram efeito inibidor do acibenzolar-s-metil sobre a germinação de conídios de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* à medida que aumentava a dosagem do indutor *in vitro*. Nojosa et al., (2009), ao aplicar 0,02 e 0,20 g/L de acibenzolar-s-metil, inibiu 9,40 e 56,23%, respectivamente, o crescimento micelial de *Phoma costarricensis*.

Outros autores estudando o efeito *in vitro* de Ecolife[®] sobre o crescimento radial de *Xanthomonas vesicatoria* causadora da mancha bacteriana do tomateiro, verificaram que o indutor inibiu significativamente o crescimento da bactéria em $13,8 \pm 0,83$ mm (Cavalcante et al., 2006).

Também, Amaral et al. (2008), em seus estudos verificaram que o crescimento micelial de *Cercospora coffeicola* foi inversamente proporcional ao aumento das doses do silicato de potássio.

Efeito dos indutores de resistência na severidade da mancha de corinéspora (*Corynespora cassiicola*) em pepineiro

No primeiro experimento utilizando as doses 0.025 e 0.050g (Bion[®]), 1.0 e 2.5ml (Ecolife[®]) e 4.0 e 7.5g (Fertisil[®]), a severidade da mancha de corinéspora foi significativamente diferente, de acordo com o teste de Tukey (5%) entre os genótipos Aodai e Tsuyataro em todos os tratamentos. No genótipo Tsuyataro a nota da severidade variou entre 5,9 na testemunha e 6,7 nos tratamentos com Bion[®] dose 0,025g e Ecolife[®] dose 1mL/500mL de água, conforme a escala de Oliveira et al., (2006). Em Aodai a nota da severidade variou entre 5,8 no tratamento com Bion[®] 0,050g a 3,0 no tratamento com Ecolife[®] 7,5g/500mL (Tabela 4).

Quanto ao efeito dos indutores no híbrido Tsuyataro, foi observado que a severidade em todos os tratamentos houve um aumento da doença em relação à testemunha, apesar de não diferirem estatisticamente (Tukey 5%).

No genótipo Aodai, os tratamentos com Bion[®] nas duas dosagens testadas, resultaram no aumento da severidade da doença em comparação com a testemunha. Nos tratamentos Ecolife[®] e Fertisil[®] apresentaram menor severidade da doença, porém não diferindo da testemunha pelo teste Tukey 5%,

Quanto ao número de lesões, houve diferença significativa (Tukey 5%) entre os genótipos, sendo que Tsuyataro o número de lesões foi maior que Aodai. No entanto, ao avaliar o efeito dos tratamentos nos genótipos individualmente, foi observado que não houve efeito significativo (Tukey 5%) dos indutores nas dosagens testadas, no número de lesões no genótipo Aodai. Apesar dos tratamentos não diferirem entre si, as plantas (Aodai) tratadas com o indutor Bion[®] nas duas doses, apresentaram maior número de lesões que os demais tratamentos.

Tratamentos	Aodai			Tsuyataro		
	Severidade	Número de lesões	Tamanho das lesões	Severidade	Número das lesões	Tamanho das lesões
Testemunha BDA	4.10c	0.69a	0.41a	5.90a	6.66a	0.34a
Bion [®] 0.025g	4.90b	2.03a	0.49a	6.70a	9.25b	0.49a
Bion [®] 0.050g	5.80a	3.83a	0.57a	6.50a	8.13b	0.54a
Ecolife [®] 1.0ml	3.00c	0.67a	0.48a	6.70a	8.26b	0.41a
Ecolife [®] 2.5ml	3.60c	0.26a	0.52a	6.60a	6.86a	0.40a
Fertisil [®] 4.0g	3.80c	0.96a	0.38a	6.50a	6.46a	0.41a
Fertisil [®] 7.5g	3.50c	0.39 ^a	0.33a	6.60a	11.19b	0.39a

Tabela 4 - Efeito dos indutores químicos de resistência na severidade, número e tamanho das lesões causadas por *Corynespora cassicola* em pepineiro.

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença estatística quanto ao tamanho de lesões entre os genótipos e nem entre os tratamentos, sugerindo que este parâmetro não sofreu efeito do material vegetal nem dos indutores químicos testados.

Com os dados da severidade da doença foram construídas as curvas de progresso da doença, que permite analisar o desenvolvimento da doença no tempo (Gráfico 2 A e B).

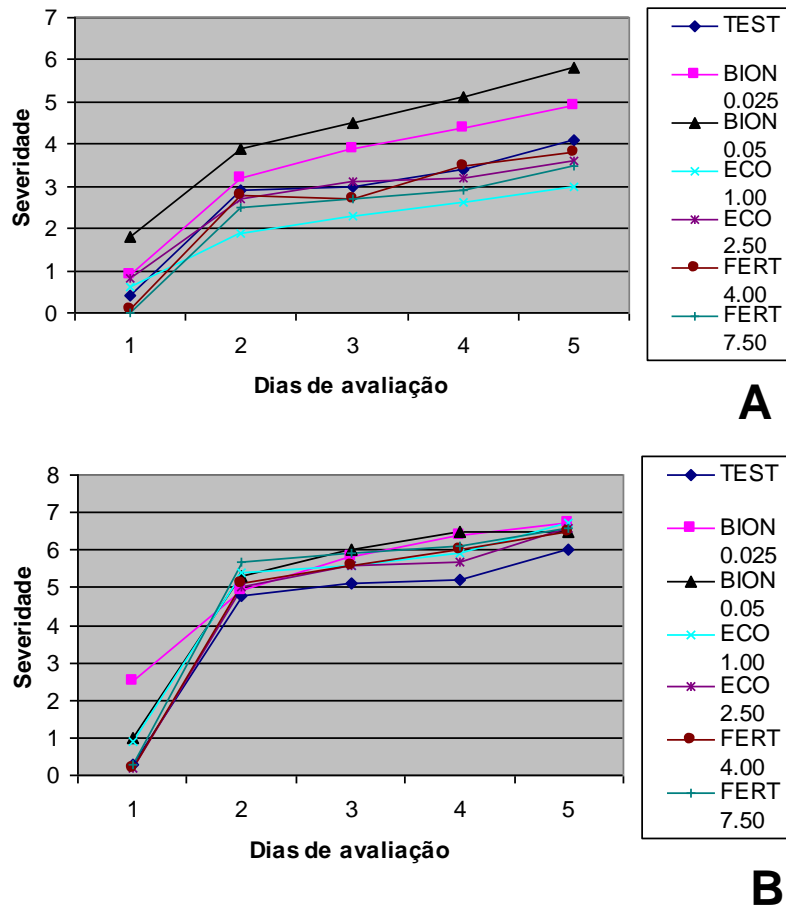


Gráfico 2. Curva de progresso da doença da mancha de corinéspora (*Corynespora cassiicola*) nos genótipos Aodai (A) e Tsuyataro (B) de pepineiro no primeiro experimento.

Comparando os gráficos da curva de progresso da doença no genótipo Aodai (Gráfico 2A) e Tsuyataro (Gráfico 2B) é possível observar que o progresso da doença inicialmente foi mais lento em Aodai, em todos os tratamentos.

Os valores da AACPD (área abaixo da curva de progresso da doença) semelhante ao observado quanto à severidade, apresentaram diferença significativa entre os genótipos, tendo os valores mais elevados registrados no híbrido Tsuyataro (Tabela 5). Estes valores possibilitam discriminar o efeito dos tratamentos na quantidade de doença observada nos hospedeiros.

Em ambos os genótipos, os tratamentos com Bion[®] resultaram nos maiores valores de AACPD, sugerindo um efeito favorável deste produto ao desenvolvimento da mancha de

corinéspora em pepineiro. Nos demais tratamentos em Aodai, apesar de ser observado uma redução nos valores da AACPD em ambos os genótipos, estes não diferiram estatisticamente da testemunha, revelando que os indutores químicos de resistência Ecolife[®] e Fertisil[®] não apresentaram efeito na redução da severidade da doença em pepineiro nas doses testadas.

No híbrido Tsuyataro foi observado que nas plantas tratadas com os indutores a doença ocorreu com severidade maior que a observada na testemunha, sugerindo um efeito favorável ao desenvolvimento da doença, além da suscetibilidade natural deste genótipo ao patógeno.

Tratamentos	AACPD	
	Aodai	Tsuyataro
Testemunha BDA	138.60a	219.60a
Bion [®] 0.025g	172.80b	260.40b
Bion [®] 0.050g	207.60b	258.60b
Ecolife [®] 1.0ml	103.20a	248.40b
Ecolife [®] 2.5ml	134.40a	236.40b
Fertisil [®] 4.0g	131.40a	240.60b
Fertisil [®] 7.5g	109.80a	253.80b

Tabela 5 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha de corinéspora (*Corynespora cassiicola*) em pepineiro tratados com indutores químicos de resistência.

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No segundo experimento, utilizando as doses de 4,0 e 7,5mL de Ecolife[®] em 500mL de água destilada, 2,50 e 3,00g de Bion[®] em 500mL de água e 12 e 22,5g de Fertisil[®] em 500mL de água, de forma semelhante ao que foi observado no experimento anterior, houve diferença estatística quanto à severidade da doença entre os dois genótipos, sendo a maior severidade observada no genótipo Tsuyataro (Tabela 6 e Figura 8).

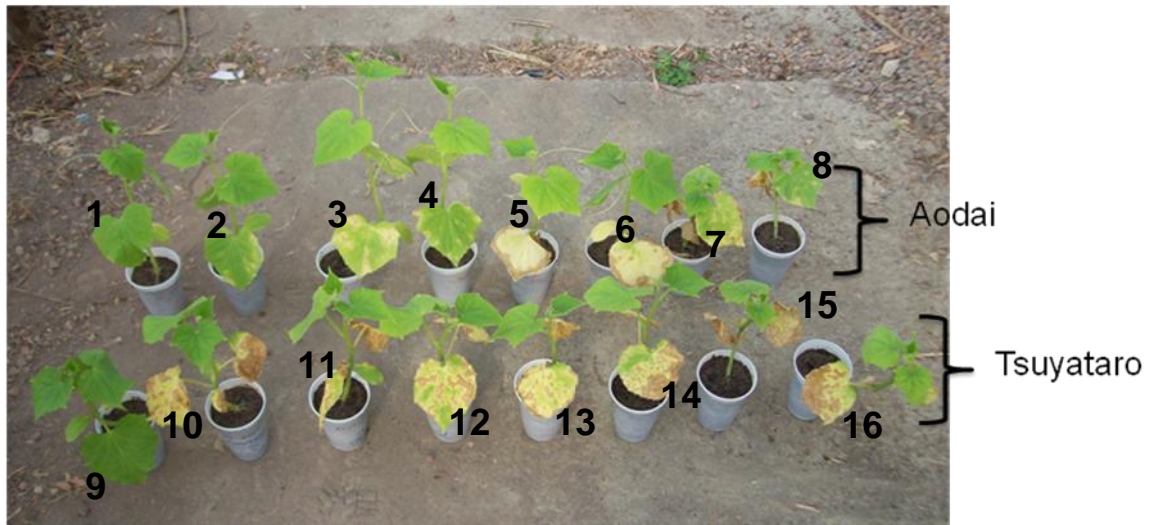


Figura 8 – Reação dos genótipos de pepineiro à mancha de corinéspora com aplicação de indutores de resistência. 1- testemunha sem indutor e patógeno; 2 - testemunha sem indutor e com patógeno; 3 - Fertilisil[®] 22,50g; 4 - Fertilisil[®] 12,00g; 5 - Ecolife[®] 7,50ml; 6 - Ecolife[®] 4,00ml; 7 - Bion[®] 3.00g; 8 - Bion[®] 2.50g; 9 - testemunha sem indutor e patógeno; 10 - testemunha sem indutor e com patógeno; 11 - Fertilisil[®] 22,50g; 12 - Fertilisil[®] 12,00g; 13 - Ecolife[®] 7,50ml; 14 - Ecolife[®] 4,00ml; 15 - Bion[®] 3.00g; 16 - Bion[®] 2.50g.

Quanto ao efeito dos indutores no genótipo Aodai a severidade da doença foi maior que na testemunha em todos os tratamentos. Em Tsuyataro nos tratamentos com Fertilisil[®], a severidade da doença foi menor que na testemunha apesar de não ter diferido estatisticamente (Tabela 6).

Tratamentos	Aodai	Tsuyataro
	Severidade	
Testemunha C/P	3,70b	6,90a
Bion [®] 2.50g	6,00a	7,00a
Bion [®] 3.00g	6,60a	7,00a
Ecolife [®] 4,00ml	4,50b	7,00a
Ecolife [®] 7,50ml	6,30a	6,90a
Fertilisil [®] 12,00g	5,00a	6,60a
Fertilisil [®] 22,50g	5,00a	5,60a

Tabela 6 - Efeito dos indutores à severidade da doença em pepineiro.

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Com relação à curva de progresso da doença neste experimento (Gráfico 3), a doença comportou-se de forma semelhante ao observado anteriormente, tendo um aumento acelerado nas primeiras 48 horas após a aplicação dos indutores, continuando a aumentar nos próximos dias, porém, em um menor progresso da doença.

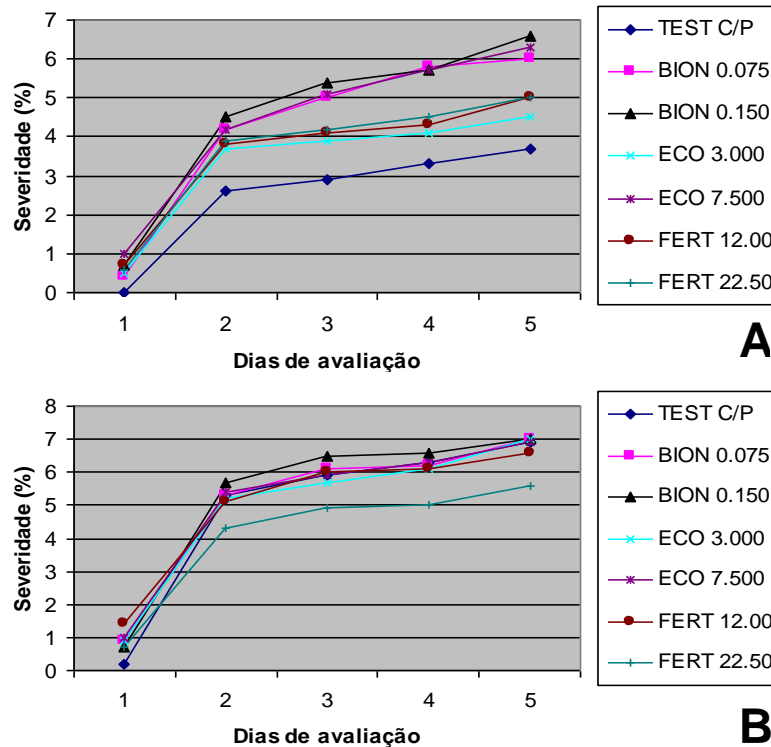


Gráfico 3. Curva de progresso da doença da mancha de corinéspora (*Corynespora cassiicola*) nos genótipos Aodai (A) e Tsuyataro (B) de pepineiro no segundo experimento.

A AACPD no segundo experimento, utilizando as doses 2.50 e 3.0g (Bion[®]), 4.0 e 7.5ml (Ecolife[®]) e 12.0 e 22.5g (Fertisil[®]), foi significativamente diferente entre os genótipos Aodai e Tsuyataro. Apesar de não haver diferença significativa com a testemunha, as doses do indutor Fertisil[®] a 22,5g e 12,0g em Aodai e Tsuyataro, respectivamente, apresentaram menor AACPD (Tabela 7).

Tratamentos	Aodai	Tsuyataro
	AACPD	
Testemunha C/P	873,60 ab	1034,40 ab
Bion [®] 2.50g	924,00 a	1087,20 a
Bion [®] 3.00g	681,60 ab	1005,60 ab
Ecolife [®] 4,00ml	895,20 ab	1034,40 ab
Ecolife [®] 7,50ml	722,40 ab	1017,60 ab
Fertilil [®] 12,00g	739,20 ab	832,80 b
Fertilil [®] 22,50g	511,20 b	1010,40 ab

Tabela 7 - Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) da mancha de corinéspora (*Corynespora cassiicola*) em pepineiro tratados com indutores químicos de resistência. Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao período de incubação (PI) somente o Fertilil[®] nas dosagens 4 e 7,5g (Aodai) do primeiro experimento apresentaram PI de 48 e 72 horas, respectivamente, enquanto que na testemunha o PI foi de 24 horas. Nos demais tratamentos, tanto do primeiro, quanto do segundo experimento, o período de incubação ficou em torno de 24 horas, demonstrando não haver efeito dos indutores neste parâmetro.

A diferença na severidade da doença observada entre os genótipos avaliados pode estar relacionada com fatores intrínsecos de cada material quanto aos mecanismos de defesa que possuem contra o patógeno, conforme apresentado no capítulo 1, quando foi avaliada a resistência de dez genótipos de pepineiro à *C. cassiicola*.

Nos dois experimentos realizados com os indutores em diferentes dosagens foi demonstrado que não houve efeito dos tratamentos na redução da severidade da doença. Em alguns tratamentos foi observado o aumento da doença em comparação com a testemunha nos dois genótipos de pepineiro avaliados. Tanto Aodai quanto Tsuyataro nos dois experimentos apresentaram fitotoxidez. Possivelmente as substâncias químicas que compõem o extrato de

biomassa cítrica (Ecolife[®]) justifiquem fitotoxidez observado nas plântulas de pepineiro tratadas com este indutor.

Apesar de existirem inúmeros relatos na literatura sobre o efeito de indutores químicos de resistência a doença como ativadores de resistência sistêmica em diversos patossistemas, no caso de *C. cassicola* em pepineiro utilizando os produtos Ecolife[®], Fertilil[®] e Bion[®] não apresentaram efetividade contra a doença.

Resultados semelhantes foram relatados por Lin et al. (2009), ao avaliarem a eficiência de ASM no controle da antracnose (*Colletotrichum orbiculare*), da sarna (*Cladosporium cucumerinum*) e da mancha de corinespora em pepineiro, onde o ASM foi eficiente no controle da antracnose e da sarna, porém falhou em induzir resistência contra *C. cassicola*, indicando que este produto pode induzir resistência contra alguns, mas não para todas as doenças de pepineiro.

Apesar de a resistência sistêmica ser um tipo resistência reconhecidamente de amplo espectro (GÖRLACH et al., 1996), os mecanismos de defesa das plantas podem variar de acordo com a interação patógeno-hospedeiro (Agrios, 2005), e com o potencial genético das cultivares, podendo refletir em uma variedade de respostas aos agentes indutores.

Além disso, o fungo *C. cassicola* é um patógeno necrotrófico que possui a capacidade de sintetizar toxinas hospedeiro-específicas, conforme Otani et al., (1997) e Kurt (2004), que podem causar danos celulares ao hospedeiro, como clorose durante o processo de patogênese, e ainda possuir a capacidade de produzir alterações na membrana plasmática vegetal, como reduzir a permeabilidade ou alterar sítios de receptores ou de ligação com componentes sinalizadores ou ativadores de respostas de defesa do hospedeiro (OKA et al., 2006). Estas alterações celulares induzidas pelo patógeno podem explicar a ineficácia dos indutores de resistência contra a doença, caso a morte celular ocorra antes a ativação das defesas vegetais.

O mesmo pode ocorrer com silicato de potássio e Ecolife[®] que têm sido relatados como eficientes para o controle de doenças em inúmeros patossistemas, no entanto no caso de pepineiro x *C. cassiicola* não foram eficientes. Aquino (2006) avaliou o efeito da aplicação foliar de silicato de potássio para o controle da mancha de ramulária (*Ramularia gossypii*) em algodoeiro, foi observado que o produto não foi eficiente para o controle da doença, sendo menos efetivo que os fungicidas utilizados para a cultura.

A ativação de uma resposta de defesa da planta devido ao reconhecimento do patógeno é regulada por uma interação altamente específica, ou seja, ocorre a interação entre os produtos do gene de avirulência do patógeno com o produto do gene de resistência da planta (DANGL e JONES, 2001). É possível que neste trabalho, a utilização dos indutores de resistência nas condições destes experimentos não foram capazes induzir respostas de defesa em tempo hábil para restringir o desenvolvimento do patógeno, ou ainda que o aumento da suscetibilidade observada nos tratamentos seja reflexo da alteração no metabolismo das plantas (LABANCA, 2002) favorecendo o desenvolvimento da doença.

Novas pesquisas com o patossistema pepino x *C. cassiicola* poderão auxiliar na compreensão dos resultados, como novos testes com outros intervalos de tempo entre a aplicação dos indutores de resistência e inoculação do patógeno, trazendo com isso novas informações quanto à eficiência de acibenzolar-s-metil, produto á base de extratos cítricos e silicato de potássio no controle de *C. cassiicola* em *C. sativus*. A princípio, todas as plantas são capazes de expressar genes de resistência, desde que recebam o estímulo adequado (TUZUM, 2001). Também, faz-se necessário a realização de estudos similares com plantas adultas no campo, uma vez que os ensaios foram realizados com plântulas em casa de vegetação.

5 CONCLUSÕES

Corynespora cassiicola foi altamente sensível ao silicato de potássio nas concentrações de 0,025 e 0,050g/500, *in vitro*, o qual apresentou efeito fungitóxico.

A germinação dos conídios foi proporcional ao crescimento micelial nos tratamentos utilizados acibenzolar-S-metil e composto a base de extrato cítrico (Ecolife[®]). Quanto maior o crescimento micelial, maior a quantidade de conídios.

Os indutores acibenzolar-s-metil (Bion[®]), silicato de potássio (Fertisil[®]) e compostos a base de extrato cítrico (Ecolife[®]) nas diferentes dosagens não foram eficientes para reduzir a severidade de mancha de corinéspora nos genótipos Aodai e Tsuyataro em casa de vegetação.

REFERÊNCIAS

ABREU, S.M. Evidenciação da resistência de progênies de Catimor a *Hemileia vastatrix*. In: **Anais, 11º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras (CBPC)**. Rio de Janeiro. 1984.

AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 4 ed. San Diego: Academic Press, 1997. 635p.

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

ALSTRÖM, S. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere *Pseudomonas*. **Journal General Applied Microbiology**, 37: 495-501, 1991.

AMARAL, D.R.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; BOREL, J.C.; MAC LEOD, R.E.O.; PÁDUA, M.A. Silicato de potássio na proteção do cafeeiro contra *Cercospora coffeicola*. **Tropical Plant Pathology**. Vol. 33, n. 6 (November - December 2008). – Brasília: **Brazilian Phytopathological Society**, 2008 – v.: il.; 28 cm.

AQUINO, L.A. **Escala diagramática e controle alternativo da mancha de ramularia do algodoeiro**. 2006. 44f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotenia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

ARAGÃO, S.P. et al. **Diagnóstico dos Processos de Produção de Hortaliças**. Ed. Outubro, 2003.

ARAÚJO, J.S.P.; GONÇALVES, K.S.; OLIVEIRA, B.C.; RIBEIRO, R.; POLIDORO, J.C. Efeito do acibenzolar-S-methyl sobre murcha bacteriana do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, 23(1):5-8, 2005.

BALADIN, R.S. **Fitopatologia**. Apostila. 2002. 65p.

BENHAMOU, N., KLOPPER, J.W.; TUZUN, S. Induction of resistance against *Fusarium* wilt of tomato by combination of chitosan with an endophytic bacterial strain: ultrastructure and cytochemistry of the host response. **Plant** 204:153-168. 1998.

BETTENCOURT, A.J.; RODRIGUES JUNIOR, C.J. Principles and practices of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. In: Clarke, R.J.; Macrae, R. (Eds.) Coffee Agronomy. London. **Elsevier**. 1988. pp. 199-234.

BOITEUX, L.; REIS, A. Mancha-alvo (*Corynespora cassiicola*): Potencial problema para a tomaticultura na Região Centro-Sul do Brasil. Disponível em: <F:\Mancha de corynespora ou mancha alvo. htm>. Site visitado em: 07 de agosto de 2007.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; ASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.11-28.

BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C.A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, 29:128-134. 2003.

BOWEN, P., MENZIES, J.; EHRET, D. Soluble silicon spray inhibit powdery mildew development on grape leaves. **Journal of the American Society for Horticultural Sciences**, 117:906-912. 1992.

BRAGA, M.R. **Fitoalexinas e a defesa das plantas**. Instituto de Botânica, SMA, São Paulo. Disponível em: <www.sbgq.org.br/PN-NET/texto_5/defesa.htm>. Site visitado em: 21 de agosto de 2007.

CAMARGO, L.E.A. Análise genética da resistência e da patogenicidade. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1: 470-492, 1995.

CAMARGO, L.E.A.; BERGAMIM FILHO. Controle genético. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1: 729-760, 1995.

CARDOSO, A.I.I. Avaliação de cultivares de pepino tipo caipira sob ambiente protegido em duas épocas de semeadura. **Bragantia**, Campinas, 61(1):43-48, 2002.

CASTRO, M.E.A. **Resistência do tomateiro (*Lycopersicon spp.*) à "pinta-preta" (*Alternaria solani* (Ellis e Martin) Jones e Grout)**. Viçosa: UFV, 1997. 118p.: il.

CASTRO, R.M.; AIZAWA, J.; GARCIA, L.D. **Protection on tomatoes against bacterial speck and tomato canker after CGA 245.704 application**. BRF243 98a.doc, São Paulo: Novartis Bioscience in house tests proceedings. 1999. 8 p.

CASTRO, R.M.; PAIVA, S.B.P.; VEIGA, J.S.; SAVINO, A.A. Atividades químicas de resistência brasileira com BION. In: RODRIGUES, F.Á.; ROMEIRO, RS. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa, MG; 2007. 339p.:il. 21 cm.

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

CAVALCANTI, L.S.; RESENDE, M.L.V. Efeito da época de aplicação e dosagem do acibenzolar-S-metil na indução de resistência à murcha-de-Verticillium em cacauero. **Fitopatologia Brasileira**. 30(1):67-71, 2005.

CHASAN, R. AS: Source or signal for SAR? **The Plant Cell**, 7: 1519-1521, october 1995.

CHAVES, G.M. Melhoramento do cafeeiro visando a obtenção cultivares resistentes a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. **Revista Ceres** 23: 321-332. 1976.

COHEN, Y. The BABA story of induced resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, 29(5): 1-4, 2001.

CUTRIM, F.A.; SILVA, G.S. Patogenicidade de *Corynespora cassiicola* a diferentes espécies de plantas. **Fitopatologia Brasileira** 28:193-194. 2003.

DANGL, J.L.; JONES, J.D.G. Plant pathogens and integrated defense responses to infection. **Nature, London**, n. 6839, v. 411, p. 826-833, 2001.

DANN, E.K.; DEVERALL, B.J. Activation of systemic disease resistance in peã by a virulent bacterium or benzothiadiazole, but not by a fungal leaf spot pathogen. **Plant Pathology** 49: 324-332, 2000.

DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA. S.M.A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R.S.B.; SILVA, R.L.X. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, 30(3):77-87, 2002.

DANTAS, S.A.F.; OLIVEIRA. S.M.A.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R.S.B.; SILVA, R.L.X. Indutores de resistência a patógenos Pós-colheita de manga. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, 30: 314-319, 2004.

DURRANT, W.E; DONG, X. Systemic acquired resistance. *Ann. Rev. Phytopathol.* 42:185-209, 2004.

EDREVA, A. A novel strategy for plant protection: Induced resistance. **Journal of Cell and Molecular Biology** 3:61-69, 2004.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas.** 2 ed. Londrina: Planta, 2006. 403p.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.** 50:641-664. 1999.

FARIA, R. **Efeito da acumulação de silício e a tolerância das plantas de arroz do sequeiro ao déficit hídrico do solo.** 2000. 125F. Dissertação (Mestrado) – Departamento do Solos, Universidade Federal de Lavras, Viçosa.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças.** 2ª edição revista e ampliada. Viçosa: UFV, 2003.

GAFFNEY, T.; FRIEDRICH, L.; VERNNOEJ, B.; NEGRETTO, D.; NYE, G.; UKNES, S.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. **Science** 261:754-756, 1993.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.43, p.205-227, 2005.

GÓMEZ- GÓMEZ, L. Plant perception systems for pathogen recognition and defence. **Molecular Immunology**, v. 41, p. 1055-1062, 2004.

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

GOTO, R. **Pepino, crocância e frescor na sua salada**. Disponível em: <www.hortibrasil.org.br/classificacao/pepino/pepino.html> Site visitado em: 23 de agosto de 2007.

GURGEL, L.M.S.; OLIVEIRA, S.M.A.; COELHO, R.S.B.; SILVA, R.L.X. Proteção a murcha de fusário do tomateiro com Acibenzolar-S-Metil e Ácido β -Aminobutírico, em campo. **Fitopatologia Brasileira**, 30(6):655-657, 2005.

GUZZO, S.D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. 2004. 236 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

HAMMERSCHMIDT, R. Induced disease resistance: how do induced plants stop pathogens? **Physiological and molecular plant pathology**, London, 55(2):77-84, 1999.

HERBÁRIO. **Cultivo do pepino**. Disponível em: <www.herbario.com.br/dataherb12/pepino.htm>. Site visitado em: 01 de agosto de 2007.

HOFFLAND, E.; HAKULINEN, J.; van PELT, J. A. Comparison of systemic resistance induced by avirulent and nonpathogenic *Pseudomonas* species. **Phytopathology**, 86:757-762, 1996.

JAKAB, G.; COTTIER, V.; TOQUIN, V.; RIGOLI, G.; ZIMMERLI, L.; MÉTRAUX, J.P.; MAUCH-MANI, B. β -aminobutyric acid-induced resistance in plants. **Eur J. Plant Pathol.** 107:29-37, 2001.

JERBA, V.F.; RODELLA, R.A.; FURTADO, E.L. Relação entre a estrutura foliar de feijoeiro e a pré-infecção por *Glomerella cingulata* f.sp. phaseoli. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 40(3):217-223, 2005.

JESUS JUNIOR, W.C.; POZZA E.A.; VELE, F.X.R.; AGUILERA, G.M. **Análise temporal de epidemias**. In.: VELE, F.X.R.; JESUS JUNIOR, W.C.; ZAMBOLIM, L. – Belo Horizonte: Editora Perffil, 2004. 531p.

KLOEPPER, J.W. Host specificity in microbe-microbe interactions. **BioScience**, 46: 406-409, 1996.

KLOEPPER, J.W.; TUZUN, S.; ZEHNDER, G.W.; WEI, G. Multiple disease protection by rhizobacteria that induce systemic resistance – historical precedence. **Phytopathology**, 87: 136-137, 1997.

KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; CAMARGO, M.S. Uberlândia: UFU/ICIAG - (GPSi-ICIAG-UFU. **Boletim técnico**; 01). 2002.

KORNDÖRFER, G.H. Importância do silício na agricultura. **Batata show**. Ano 3, nº8, 2003. Disponível em: < abbatatabrasileira.com.br/revista08_005.htm>. Site visitado em: 24 de agosto de 2007.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A.; Doenças das cucurbitáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres. 2: 325-337, 1997.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A.; REZENDE, J.A.M. Doenças da cucurbitáceas. In: Kimati, Hiroshi. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 2v.: il. 2005.

KURT, S. Host-specific toxin production by the tomato target target leaf spot pathogen *Corynespora cassicola*. **Turk J. Agric For**. 28:389-395. 2004.

LABANCA, E.R.G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de glicolinas em soja (*Glycine max*)**. 2002. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

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

LAWRENCE, C.B.; JOOSTEN, M.H.A.J.; TUZUN, S. Differential induction of pathogenesis related proteins in tomato by *Alternaria solani* and the association of a basic chitinase isozyme with resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 48: 361-377, 1996.

LEITE; PASCHOLATI. Conceitos e objetivos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronomia Ceres, v.1, 1995. p.540-553.

LEROUX, P., Recent developments in the mode action of fungicides. **Pesticide Science**, 47(3): 191-197, 1996.

LICHSTON, J.E.; GODOY, S.A.P. Morfologia e teor de cera de folhas de café após aplicação de fungicida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, 41(6):919-926, 2006.

LIN, TSUNG-CHUN; ISHIZAKA, M.; ISHII, H. Acibenzolar-S-metil-Induced resistência sistêmica contra a antracnose e Doenças oídio em pepino Plantas sem acumulação de Fitoalexinas. **Journal of phytopathology**. 2009 Jan., v. 157, n^o.1.

LIU, L.; KLOPPER, J. W.; TUZUN, S. Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growthpromoting rhizobacteria. **Phytopathology**, 85: 695-698, 1995.

LOPES, C.A. Manejo integrado de bactérias fitopatogênicas. In: SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; NOJOSA, G.B.A. (Ed.). **Manejo integrado: doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: UFLA, 2001. 105-124 p.

LOPES, C.A.; REIS, A.; BOITEUX, L.S. Doenças fúngicas. In: LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C. (Org.). **Doenças do tomateiro**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2005. p.17-51.

LOPES, C.A.; SANTOS, J.R.M. dos. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa- CNPH: Embrapa-SPI, 1994. 61p.

LOPES, J.F. I Simpósio Brasileiro sobre cucurbitáceas: Palestra de Abertura. **Horticultura Brasileira**, Brasília, 9(2):98-99, 1991.

LOURD, M.; NODA, H.; ALVES, M.L.B. Principais fungos e bactérias patogênicos das plantas olerícolas na região de Manaus. **Fitopatologia Brasileira** 13: 25-27, 1988.

LOUWS, F.J.; WILSON, M.; CAMPBELL H.L. Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator. **Plant Disease**, 85(5): 481-488, 2001.

MADAMANCHI, N.R.; KUC, J. Induced systemic resistance in plants. In: COLE, G.T.; HOCH, H. (Eds) **The fungal spore and disease initiation in plants**. New York: Plenum Press, 1991. 347-362p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2ed. London: Academic Press, 1995. 889p.

MÉTRAUX, J.P. Induced defenses in plants. In: RODRIGUES, F.Á.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa, MG; 2007. 339p.: il.; 21cm.

MORAES, M.G. Mecanismos da resistência sistêmica adquirida em plantas. **RAPP**. 6:261-285, 1998.

MORAES, S.R.G.; POZZA, E.A.; ALVES, E.; POZZA, A.A.A.; CARVALHO, J.G.; LIMA, P.H.; BOTELHO, A.O. Efeito de fontes de silício na incidência e na severidade da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira** 31(1):069-075, 2006.

MOTOYAMA, M.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; SCAPIM, C.A. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fisarium semitectum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, 25:491-496, 2003.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; MORAES, S.R.G.; VILAS BOAS, C.H. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.1, p.60-62, 2003.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; MORAES, S.R.G.; VILAS BOAS, C.H. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.1, p.60-62, 2009.

OBRADOVIC, A.; JONES, J.B.; MOMOL, M.T.; OLSON, S.M.; JACKSON, L.E.; BALOGH, B.; GUVEN, K.; IRIARTE, F.B. Integration of biological control agents and systemic acquired resistance inducers against bacterial spot on tomato. **Plant Disease**, St. Paul, 89(7): 712-716, 2005.

OKA K, OKUBO A, KODAMA M, OTANI H. Detoxification of α -tomatine by tomato pathogens *Alternaria alternata* tomato pathotype and *Corynespora cassiicola* and its role in infection. **J Gen Plant Pathol** 72:152–158. 2006.

OLIVEIRA, R.R.; VIDA, J.B.; TESSMANN, C. J.; AGUIAR, B.M.; CAIXETA, M.P. Reação de híbridos de pepino para cultivo protegidos de *Corynespora cassicola*. **Fitopatologia Brasileira**, 31(5): - 2006.

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

OTANI, H.; NAKAJIMA, H.; KODAMA, M.; KOHMOTO, K. Chlorosis toxin produced by *Corynespora cassicola*, the cause of *Corynespora* leaf spot of cucumber. **Ann Phytopathol Soc Jpn** 63:509.1997.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiros: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Ceres, 1: 417-453, 1995.

PASCHOLATI, S.F. Resultados com resistência induzida no Brasil. In: SIMPÓSIO DE BIOLOGIA MOLECULAR DA RESISTÊNCIA DE PLANTAS A PATÓGENOS: APLICAÇÕES NO MANEJO INTEGRADO DE FITODOENÇAS, 1, 2002, Lavras. **Resumos...** Lavras: Ufla, p. 120, 2002.

PERES, A.P.; SILVA-MANN, R.; VIEIRA, M.G.G.C.; MACHADO, J.C. Variabilidade morfocultural e genética de fungos associados à podridão peduncular do mamão. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras. v.27, n.5, p.1053-1062, set./out., 2003.

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT, J.A.; VAN WESS, S.C.M.; TON, J.; VERHAGEN, B.N.M.; LÉON-KLOOSTERZIEB, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL,S.; VAN der ENT, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFUN-JUNIOR, A.; RESENDE, M.L.V.; VAN LOON, L.C. **Indução de resistência sistêmica por rizobactéria e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada**. RAPP. 13:277-295, 2005.

PRESTES, A.M. Transferência de resistência a doenças de espécies silvestres para espécies cultivares. **Revisão Anual de Patologia de Plantas- RAPP**. Vol.3. 1995. p 315-353.

QUERINO, C.M.B., LARANJEIRA, D., COELHO, R.S.B.; MATOS. A.P. Efeito de dois indutores de resistência sobre a severidade do mal-do-Panamá. **Fitopatologia Brasileira** 30:239-243. 2005.

QUEZADO-DUVAL, A.M.A.; LOPES, C.A.O.; JUNQUEIRA, N.T.V. Avaliação de produtos alternativos para o controle da mancha-bacteriana em tomateiro para processamento industrial. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 5 p., (Embrapa Hortaliças. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 14), 2005.

RÊGO, A.M.O.; CARRIJO, I.V. **Doenças das cucurbitáceas**. In: ZAMBOLIM, LAÉRCIO, VALE, FRANCISCO XAVIER RIBEIRO; COSTA, HÉLCIO. Controle de doenças de plantas-hortaliças. Viçosa. 2v.: il. 2000.

RESENDE, M.L.V.; AVES, E.; CAMPOS, M.A.; ROZWALCA, L.C.; BOTELHO, L.S.; UCHÔA, C.N.; FREIRE, E.S.; KOSHIKUMO, É.S.M. Mecanismos de defesa de plantas contra doenças. In.: LUZ, W.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas – RAPP**. Vol. 16, 2008.

RIOUX, D.; BIGGS, A. Cell wall changes in host and nonhost systems: microscopic aspects. In: Petrini, Orlando & Ouellette, Guillemont B. Host wall alterations by parasitic fungi. **The American Phytopathological Society**. St. Paul, Minnesota. 1994.p. 31-44.

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

RODRIGUES, F.Á.; DATNOFF, L.E. Silicon-mediated restence in monocots: the rice-*Magnaporthe grisea* model. In: RODRIGUES, F.Á.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa, MG; 2007. 339p.: il.; 21cm

ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. Viçosa: UFV, 1999. 45p.: il. (Caderno didático, 56).

ROSS, A.F. **Systemic acquired resistance induced by localized vírus infections in plant**. **Virology**, 14(3):340-358, 1961.

RYALS, J.A., NEUENSCHWANDER, U.H.; WILLITS, M.G.; MOLINA, A.; STEINER, H.Y.; HUNT, M.D. Systemic acquired resistance. **The plant cell, Rockville**, 8(10):1809-1819, 1996.

SAMUELS, A.L.; GLASS, A.D.M.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Distribution of silicon leaves during infection by powdery mildew fungus (*Sphaerotheca fuliginea*). **Canadian Journal Botanical**. 69:140-146. 1991a.

SAMUELS, A.L., GLASS, A.D.M., EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. **Plant, Cell and Environment** 4:485-492. 1991b.

SANTOS, I.P.; CARDOSO, S.S.; POLTRONIERI, L.S.; VERZIGNASSI, J.R.; BENCHIMOL, R.L. Ocorrência de mancha alva, causada por *Corynespora cassiicola*, em alface cultivado em hidroponia no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.4, p.419, 2007.

SILVA, L.H.C.P.; RESENDE, M.L.V.; MARTINS JUNIOR, H.; CAMPOS, J.R.; SOUZA, R.M.; CASTRO, R.M. Épocas e modo de aplicação do ativador de plantas benzothiadiazole (BHT) na proteção contra a mancha bacteriana do tomateiro. **Horticultura Brasileira**, suplemento. 18:375-376, 2000.

SILVA, L.H.C.P.; RESENDE, M.L.V. Resistência induzida em plantas contra patógenos. In: SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; NOJOSA, G.B.A. **Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: Ufla, p.221-239, 2001.

SMITH-BECKER, J.; KEEN, N.T.; BECKER, J.O. Disease management in melons with BTH, and synthetic inducer of systemic acquired resistance. **Phytopathology**, St. Paul, 88(9):583, 1998.

SOBRINHO, C.A.; FERREIRA, P.T.O.; CAVALCANTI, L.S. Indutores bióticos. In: CAVALCANTI, 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, 2005. p.51-80.

SOUZA, I.; MATA, S.G. **Cultura de Pepino para Conserva**. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/site_emater/Serv_Prod/Livraria/Olericultura/Pepino.htm>. Site visitado em: 06 de Agosto de 2007.

STEINER, U.; SCHÖNBECK, F. Induced disease resistance in monocots. In: Hammerschmidt, R.; Kuc, J (Ed.). **Induced Resistance to Disease in Plants (Developments in Plant Pathology, Vol 4)**. Kluwer Academic Pub., Dordrech. 1995. p.86-110.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, 35: 235-270, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ed. – Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TAKAHASHI, E. Uptake mode and physiological functions of silica. In: **SCIENCE OF THE RICE PLANT: Physiology**. Food and Agric. Policy Res. Center, Tokyo, 2: 420-433, 1996.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J. Controle da pinta preta do tomateiro com o uso de acibenzolar-S-metil isolado, em mistura com fungicidas e em programas de aplicação. **Arq. Instituto Biológico**, 72:481-487, 2005.

TUZUM, S. The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenic (horizontal) resistance in plants. **European Journal of Plant Pathology**, 107:85-93, 2001.

VALLAD, G.; PERNEZNY, K.; SIMONE, G.W. Target spot of several vegetable crops. University of Florida. **Revised August**. 2008.

VANDERPLANTK, J.E. **Plant Disease: Epidemics and Control**. New York. Academic Press. 1963. 349p.

van LOON, L.C. Induced resistance in plant and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal Plant Pathology**, 103: 753-765, 1997.

van LOON, L.C., van KAMMEN, A. Polyacrylamide disc electrophoresis of the soluble leaf proteins from *Nicotiana tabacum* var. "Samsun" and "Samsun NN". **Virology**, 40: 199-211, 1970.

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

VERZIGNASSI, J.R., VIDA, J.B.; TESSMANN D.J. Epidemia de mancha de corinespora em pepino "tipo japonês" sob cultivo protegido na Região Norte de Estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, 28:570, 2003.

VIDA, J.B.; OLIVEIRA, R.R.; TESSMAM, D.J.; VERZIGNASSI, J.R.; COSTA, H. A agricultura protegida: Plasticultura-Hortaliças-Manejo de doenças. In: Aguiar, L.R., Darezzo, R.J., Rozane, D.E., Aguilera, G.A.H. & Silva, D.J.H. (Eds.) **Cultivo em ambiente protegido - Histórico, Tecnologia e Perspectivas**. Viçosa MG. 225-240pp. 2004.

WHITAKER, T.W.; BEMIS, W.P. Cucurbits. In: SIMMONDS, N.W. **Evolution of Crop Plants**. New York, Longman, 1976, 278p.

YAMAGUCHI, I. Activators for systemic acquired resistance. In: HUTSON, D.; MYAMAMOTO, J. **Fungicidal Activity**, p. 193-219, 1998.

YOSHIDA, S. Chemical aspects of the role of silicon in physiology of the rice plant. **Bulletin national institute of agriculture and science**, Ser. B. 15:(1-58), 1975.