

## A defesa vegetal contra fitopatógenos

STANGARLIN, J. R. <sup>1\*</sup>; KUHN, O. J. <sup>1</sup>; TOLEDO, M. V. <sup>2</sup>; PORTZ, R. L. <sup>3</sup>;  
SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. <sup>4</sup>; PASCHOLATI, S. F. <sup>5</sup>

<sup>1\*</sup>Professor Doutor, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Rua Pernambuco 1777, Caixa Postal 91, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon – PR, Brasil. e-mail: jrstangarlin@pq.cnpq.br.

<sup>2</sup>Doutoranda em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Extensionista Municipal, Instituto Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural, Rua Pastor Mayer 759, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon – PR. e-mail: marciavtoledo@emater.pr.gov.br.

<sup>3</sup>Professor Doutor, Universidade Federal do Paraná, Rua Pioneiro 2153, CEP 85950-000, Palotina – PR, Brasil. e-mail: roberto.portz@ufpr.br.

<sup>4</sup>Professor Doutor, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo 5790, CEP 87020-900, Maringá – PR, Brasil. e-mail: schwan@wnet.com.br.

<sup>5</sup>Professor Doutor, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Avenida Pádua Dias 11, CEP 13418-900, Piracicaba – SP, Brasil. e-mail: sfpascho@esalq.usp.br.

### RESUMO

Com o crescente desenvolvimento de tecnologias voltadas para a agricultura, são evidentes os incrementos na utilização de insumos, em especial de pesticidas. O uso de agroquímicos vem contribuindo para o aumento da produtividade agrícola, mas também tem sido responsável por efeitos adversos sobre o meio ambiente e a saúde humana. Atualmente, com o avanço da agricultura de base agroecológica, novas medidas de proteção de plantas vêm apresentando destaque, como a indução de resistência, que é ativação de mecanismos de defesa vegetal para o controle de pragas e doenças. Um enorme volume de pesquisas dentro da fitopatologia se concentra no fenômeno da especificidade entre o patógeno e o hospedeiro, fenômeno de reconhecimento, do papel das fitotoxinas e enzimas microbianas extracelulares na patogênese e dos fatores bioquímicos de resistência, como compostos fenólicos, fitoalexinas e proteínas relacionadas a patogênese. As plantas medicinais possuem compostos secundários que tanto podem ter ação fungitóxica (ação antimicrobiana direta) como elicitora, ativando mecanismos de defesa nas plantas (ação indireta). O uso de medicamentos homeopáticos também usados como métodos de controle alternativo tem demonstrado capacidade para induzir a produção de metabólitos secundários como às proteínas relacionadas à patogênese. Esta revisão contém informações sobre trabalhos com extratos de plantas medicinais e homeopatia em modelos vegetais, onde o uso destes tem sido buscado como principal objetivo o controle de fitopatógenos, sua potencialidade e perspectivas de avanço visando uma agricultura de baixo impacto. Palavras-chave: controle alternativo, indução de resistência, plantas medicinais, homeopatia.

## ABSTRACT

### The plant defense against pathogens

With the increasing development of agricultural technologies, increments in the use of inputs, particularly pesticides, are more and more evident. Agrochemicals have contributed to the increasing agricultural productivity, but they have also been responsible for adverse effects on the environment and human health. Currently, with the advancement of agroecological farming systems, new measures for protecting plants are gaining importance, such as the induction of resistance, which is the activation of plant defense mechanisms to control pests and diseases. An enormous amount of research in plant pathology focuses on the phenomenon of specificity between the pathogen and host, the phenomenon of recognition of the role of extracellular phytotoxins and microbial enzymes in the pathogenesis, and the phenomenon of the biochemical factors of resistance, such as the phenolic compounds, phytoalexins and pathogenesis-related proteins. Medicinal plants have secondary compounds that can have both fungitoxic action (direct antimicrobial action) and elicitor action, activating defense mechanisms in plants (indirect action). The use of homeopathic medicine, also known as alternative control methods, has demonstrated its ability to induce the production of secondary metabolites, such as the pathogenesis-related proteins. This review presents some studies on herbal extracts and homeopathy in plant models for their use in the control of pathogens, their potentiality and their prospects of advances towards low-impact agriculture.

**Keywords:** alternative control, induction of resistance, medicinal plants, homeopathy.

## INTRODUÇÃO

A resistência do hospedeiro a um microrganismo patogênico pode ser definida, sob o aspecto fisiológico, como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos (GOODMAN et al., 1986). O sistema de defesa vegetal é multicomponente, atuando de maneira dinâmica e coordenada, no momento e local apropriados e com magnitude adequada (PASCHOLATI & LEITE, 1995). Essa complexidade funcional, espacial e temporal inicia-se com o reconhecimento, pelo hospedeiro, de sinais exógenos provenientes do patógeno, continua com os mecanismos de transdução desses sinais e resulta em extensa reprogramação do metabolismo celular vegetal, envolvendo mudanças na atividade gênica (WALTERS et al., 2007).

Os mecanismos de defesa de uma planta podem ser estruturais e bioquímicos, ambos pré e/ou pós-formados em relação à tentativa de penetração do patógeno no hospedeiro. Os mecanismos estruturais constituem-se em barreiras físicas à penetração e/ou colonização do patógeno, enquanto que os mecanismos bioquímicos englobam substâncias capazes de inibir o desenvolvimento do patógeno ou gerar condições adversas para a sobrevivência nos tecidos do hospedeiro, devendo estar presentes em concentração adequada nas partes invadidas e em forma acessível ao patógeno, de tal maneira que mudanças na concentração da(s) substância(s) implique em mudanças na expressão da doença (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

Nos mecanismos bioquímicos pré-formados, as substâncias estão presentes na planta em altas concentrações nos tecidos sadios antes do contato com o patógeno ou podem se converter em substâncias altamente tóxicas com o início da infecção (ainda

assim são consideradas pré-formados devido à ausência de um precursor remoto). Por outro lado, nos mecanismos pós-formados, as substâncias encontram-se ausentes ou presentes em baixos níveis antes da infecção, sendo ativadas em resposta à presença do patógeno ou produzidas a partir de um precursor remoto (GARCION et al., 2007).

De maneira geral, os mecanismos de resistência podem ser (PASCHOLATI & LEITE, 1994):

A) Pré-formados (passivos ou constitutivos):

a) estruturais: cutícula, tricomas, estômatos, fibras/vasos condutores;

b) bioquímicos: fenóis, alcalóides glicosídicos, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores proteicos, quitinases e  $\beta$ -1,3 glucanases.

B) Pós-formados (ativos ou induzíveis):

a) estruturais: papilas, halos, lignificação, glicoproteínas ricas nos aminoácidos hidroxiprolina (HRGP) e glicina (GRP), camadas de cortiça, camadas de abscisão, tiloses;

b) bioquímicos: fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese e espécies ativas de oxigênio.

O grau de envolvimento dos fatores estruturais e bioquímicos nas respostas de resistência da planta varia de acordo com o patossistema e, num mesmo patossistema, de acordo com a idade da planta hospedeira, do órgão e/ou tecido afetado, do estado nutricional e das condições ambientais. A reação da planta à infecção pode variar de acordo com o modo de colonização do patógeno, uma vez que microrganismos biotróficos agem buscando impedir o desencadeamento dos mecanismos de defesa da planta, enquanto que os necrotróficos agem suprimindo tais mecanismos. Diante disso, duas estratégias podem ser desenvolvidas pelas plantas: contra os biotróficos, os genes de defesa asseguram o desencadeamento, em dado momento, de mecanismos que mantêm a resistência ao patógeno, ao passo que, contra os necrotróficos, os genes de resistência buscam anular os mecanismos de patogenicidade do invasor (JOHAL et al., 1995).

## DESENVOLVIMENTO

### 1. Mecanismos bioquímicos pré-formados

Nos mecanismos bioquímicos pré-formados encontram-se substâncias de natureza química diversa como fenóis, alcalóides, lactonas, terpenóides e algumas proteínas. Como exemplo destas substâncias pré-formadas tem-se: ácido clorogênico, ácido protocatecólico e catecol,  $\alpha$ -tomatina, avenacinas, tuliposídeos, glicosídeos fenólicos, inibidores proteicos e enzimas de defesa vegetal.

#### 1.1. Compostos fenólicos

A expressão compostos fenólicos abrange um extenso grupo de substâncias que possuem um anel aromático contendo pelo menos uma hidroxila. Estes compostos incluem: fenóis simples e outros glicosilados, ácidos fenol-carboxílicos, derivados dos ácidos benzóico e cinâmico, a-pirones (cumarinas e isocumarinas), ligninas, flavonóides (flavononas, antocianinas e catequinas) e quinonas. Em geral, tendem a ser solúveis em água, uma vez que ocorrem frequentemente na forma de glicosídeos e localizados usualmente nos vacúolos celulares. As vias metabólicas envolvidas na síntese de compostos fenólicos estão muito bem estudadas. As vias do ácido shiquímico e

cinâmico (fenilpropanóides) constituem a sequência comum que gera os diferentes grupos de polifenóis e lignina (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

Compostos fenólicos são bem conhecidos como substâncias fungitóxicas, antibacterianas e antiviróticas (LO & NICHOLSON, 2008). O efeito inibitório de compostos fenólicos na germinação de esporos, crescimento micelial e produção/atividade de enzimas microbianas varia entre os diferentes grupos de fenóis. Dessa forma, os compostos fenólicos podem estar envolvidos nos mecanismos bioquímicos e estruturais de resistência em plantas (NICHOLSON & HAMMERSCHMIDT, 1992; NICHOLSON, 1995). Segundo Vidhyasekaran (1988) diversas substâncias fenólicas estão associadas à resistência a doenças como, por exemplo, ácido clorogênico, ácido protocatecólico e catecol, floridizina e arbutina (glicosídeos fenólicos).

## 1.2. Saponinas

As saponinas são compostos glicosilados amplamente distribuídos nas plantas e que podem ser divididos em três grupos, dependendo da estrutura da aglicona: triterpenóides, esteróides e glicoalcalóides. Os triterpenóides são encontrados principalmente em dicotiledóneas, embora possam ocorrer também em algumas monocotiledóneas das famílias Liliaceae, Dioscoraceae e Agavaceae e em *Digitalis purpuria*, onde há a saponina digitonina. Já os esteróides glicoalcalóides são encontrados em alguns gêneros das famílias Solanaceae e Liliaceae (HOSTETTMANN & MARSTON, 1995). Em aveia estão presentes tanto as saponinas triterpenóides como as esteróides. As saponinas mais estudadas são as que estão presentes em aveia e tomate, devido ao seu potencial na defesa de plantas contra fitopatógenos. Estas saponinas são as avenacinas e avenacosídeos em aveia e a  $\alpha$ -tomatina em tomate (OSBOURN, 1996).

## 1.3. Glicosídeos cianogênicos

Mais de 2000 espécies de plantas são conhecidas serem cianogênicas e capazes de formar gás cianeto de hidrogênio (HCN) em resposta a alguma injúria (DAVIS, 1991) ou em resposta à infecção por fungos necrotróficos (MANSFIELD, 1983). Devido à toxicidade do HCN, este tem sido relacionado com defesa da planta contra herbívoros e fitopatógenos. A liberação do HCN é devido à degradação de precursores, principalmente de glicosídeos cianogênicos, por enzimas hidrolíticas da planta. A hidrólise dos glicosídeos cianogênicos inicia-se pela hidrólise de carboidratos por  $\beta$ -glicosilhidrolase, originando um composto intermediário -  $\alpha$ -hidroxinitrila - que é convertido, espontaneamente ou por ação enzimática ( $\alpha$ -hidroxinitrila liase), a HCN e a um aldeído ou cetona.

As plantas cianogênicas mantêm o ácido cianogênico compartimentalizado em vacúolos das células de raízes, ramos, folhas, flores e frutos, ficando assim isolado dos efeitos da enzima que catalisa a liberação do HCN. Estas plantas podem também, por detoxificação, evitar os efeitos tóxicos do HCN (OSBOURN, 1996).

Cerca de 300 glicosídeos cianogênicos já foram identificados e dois deles, **linamarina** em mandioca e **durina** em sorgo já foram bem estudadas.

## 1.4. Ácidos hidroxicarboxílicos

Os **tuliposídeos** são exemplos de ácidos hidroxicarboxílicos insaturados, ocorrendo como glicosídeos em tecidos de plantas de tulipa, aparentemente armazenados em vacúolos das células. Estes compostos são instáveis em pH  $\geq 5,0$  e são facilmente e rapidamente convertidos, em função de aumentos de pH (7,5) ou pela ação de  $\beta$ -glicosidases, em lactonas insaturadas (tulipalina), que apresentam atividades antibacterianas e antifúngicas (RESENDE, 1996). Os tuliposídeos estão relacionados à resistência de bulbos de tulipas a *Fusarium oxysporum* f.sp. *tulipae* e de pistilos a *Botrytis cinerae*. Os bulbos em desenvolvimento são atacados por *F. oxysporum* f.sp. *tulipae* somente próximo à colheita, mesmo que o bulbo-mãe já esteja infectado ou contaminado com os conídios do fungo. Este curto período de suscetibilidade deve-se ao fato de que as concentrações de tulipalina decrescem durante a maturação de bulbos quando as escamas brancas externas e resistentes tornam-se de cor marron palha e ficam desprovidas de substâncias antimicrobianas. Entretanto, nas escamas brancas internas, as quais são temporariamente suscetíveis e apresentam baixo conteúdo de tuliposídeos, alguns dias após a colheita há um rápido aumento na concentração dessa substância, tornando-as novamente resistentes à infecção. A relação entre o nível de tuliposídeo com a resistência e/ou suscetibilidade de bulbos de tulipa à *F. oxysporum* f.sp. *tulipae* indica que estas substâncias estão envolvidas na proteção dos bulbos em crescimento contra a infecção fúngica (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

### 1.5. Proteases e inibidores de proteases

As enzimas proteolíticas executam uma grande variedade de funções fisiológicas complexas. Sua importância em conduzir as funções metabólicas e regulatórias essenciais é evidente, devido à sua ocorrência em todas as formas de organismos vivos (TREMACOLDI, 2008). Em microrganismos, os processos fisiológicos que mais requerem a participação de proteases são *turnover* de proteína, esporulação e germinação de esporos, modificação enzimática, nutrição e regulação da expressão gênica (RAO et al., 1998).

Inibidores de proteases são proteínas capazes de evitar ou reduzir a atuação de enzimas que degradam proteínas animais e microbianas, mas não as vegetais. De forma geral, são sintetizadas e estocadas em sementes e tubérculos, enquanto crescem como proteção contra predação (MARGIS-PINHEIRO et al., 1999).

### 1.6. Enzimas associadas aos mecanismos de defesa da planta

Os mecanismos de defesa das plantas contra fitopatógenos envolvem alterações metabólicas que estão correlacionadas com mudanças na atividade de enzimas chaves nos metabolismos primário e secundário. Duas dessas enzimas chaves, a peroxidase e a fenilalanina amônia-liase serão abordadas.

A enzima peroxidase ( $H_2O_2$  oxireductase, E.C. 1.11.1.7), a qual está presente nos tecidos das plantas, em certas células animais e em microrganismos, é conhecida por participar de vários processos fisiológicos de grande importância (HOAGLAND, 1990). Ela cataliza a oxidação e a eventual polimerização de álcool hidroxicinâmico em presença de peróxido de hidrogênio, originando lignina. As peroxidases participam da biossíntese do hormônio vegetal etileno (ISIGHE et al., 1993), da oxidação de compostos fenólicos, os quais acumulam-se em resposta à infecção (FRY, 1986), oxidação do ácido indolil-3-acético (AIA) (HOAGLAND, 1990) e na biossíntese de lignina (INTRAPRUK et al., 1994.). Mudanças na atividade das peroxidases têm sido

freqüentemente correlacionadas a resposta de resistência ou suscetibilidade em diferentes patossistemas.

A fenilalanina amônia-liase (FAL) (E.C. 4.3.1.5) é a enzima do metabolismo secundário mais intensivamente estudada em plantas, devido a importância nas reações do metabolismo dos compostos fenólicos e estabilidade e facilidade de preparação para os ensaios enzimáticos. Essa enzima é responsável pela desaminação da L-fenilalanina, transformando-a em ácido *trans*-cinâmico e amônia. O ácido *trans*-cinâmico pode ser incorporado em muitos diferentes compostos fenólicos (ácido 4-coumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico e ácido sinápico), os quais estão presentes na formação de ésteres, coumarinas, flavonóides e ligninas. A FAL já foi isolada de algas, fungos e principalmente de plantas superiores, não tendo sido ainda detectada em células bacterianas ou tecidos animais (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

## 2. Mecanismos bioquímicos pós-formados

As plantas representam uma importante fonte nutricional para herbívoros e muitos microrganismos e, para se defender do ataque desses organismos, várias moléculas eliciadoras associadas aos patógenos são reconhecidas em nível de membrana plasmática vegetal, resultando na ativação de mecanismos de defesa (GARCION et al., 2007), como sumarizados a seguir.

### 2.1. Espécies reativas de oxigênio

As espécies reativas de oxigênio (ROS) são moléculas reduzidas, transitórias e altamente reativas, produzidas no caminho metabólico de transformação do oxigênio molecular ( $O_2$ ) a água ( $H_2O$ ) (MEHDY et al., 1996). A partir da adição de um simples elétron, o oxigênio molecular é convertido ao radical ou ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), um processo mediado, provavelmente, por peroxidases ou NAD(P)H oxidases associadas à membrana, ou mesmo por lipoxigenases a partir de ácidos graxos e  $O_2$  (DOKE et al., 1996). O superóxido formado pode passar por reações de óxido-redução ou ser "dismutado" e regenerar  $O_2$  e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o que pode ocorrer espontaneamente em pH neutro ou pela ação da enzima superóxido dismutase. O  $H_2O_2$  formado pode sofrer diferentes transformações: reduzido ao radical hidroxil ( $\cdot OH$ ); convertido a  $H_2O$  e  $O_2$  pela ação da catalase; convertido a  $H_2O$  pela oxidação de moléculas substratos, como ascorbato, via peroxidases (HEISER & OSSWALD, 2008).

As seguintes espécies reativas de oxigênio podem ser geradas:

**Singlet oxygen ( $^1O_2$ ):** o *singlet oxygen* possui o mesmo número de elétrons que a forma mais estável, mas os elétrons  $\pi^*$  têm órbitas antiparalelas. Entretanto, o *singlet oxygen* é capaz de reagir com outras moléculas induzindo a oxidação das mesmas;

**Radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ):** o radical ou ânion superóxido (ou apenas superóxido) representa o produto da redução de um elétron do  $O_2$ ;

**Peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ):** uma redução bivalente do oxigênio conduz à formação do peróxido de hidrogênio, o qual também pode ser formado durante a ação de dismutase do superóxido;

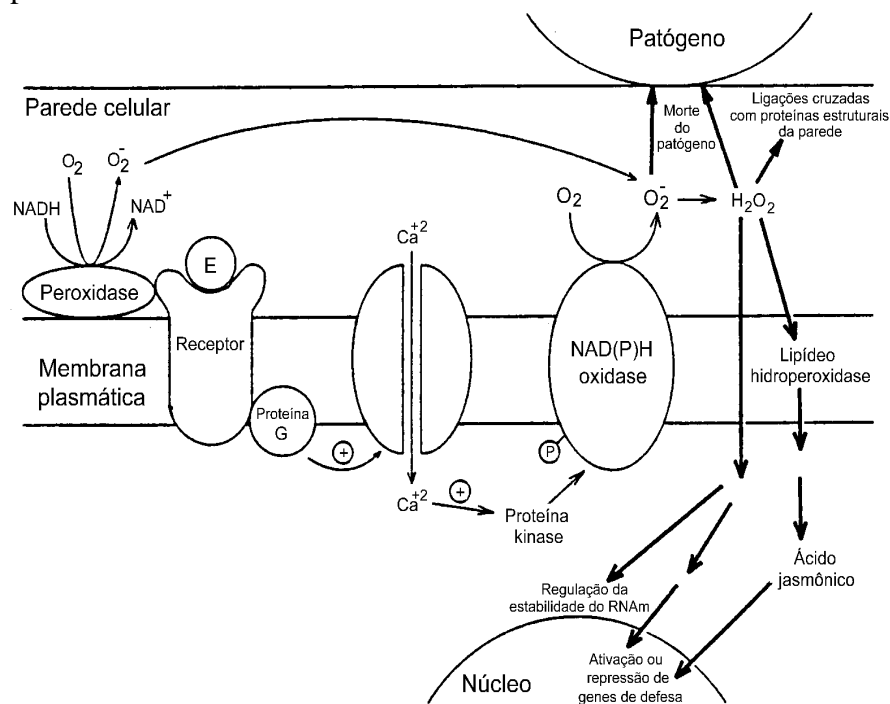
**Radical hidroxil ( $\cdot OH$ ):** uma posterior redução do peróxido de hidrogênio conduz à produção do radical hidroxil, o qual é uma espécie muito agressiva de oxigênio.

Espécies reativas de oxigênio podem se acumular rapidamente no início do processo infeccioso em ambas interações patógeno-hospedeiro compatíveis ou incompatíveis, um processo conhecido como explosão oxidativa (LAMB et al., 1989).

Essa rápida resposta ocorre em poucos minutos depois da infecção, persistindo, no entanto, não mais do que uma hora até que retorne ao seu nível basal. A explosão oxidativa tem sido verificada em reações de hipersensibilidade em resposta a infecção por fungos (VERA-ESTRELLA et al., 1993) e bactérias (BAKER et al., 1993). Além disso, várias fitotoxinas fúngicas e bacterianas podem induzir a formação de espécies reativas de oxigênio (HEISER et al., 1998).

Duas fases de indução de ROS por elicitores fúngicos e bacterianos têm sido avaliadas em células vegetais. A fase I é uma resposta muito rápida (poucos minutos), que possivelmente envolve uma interação elicitor-receptor, e que nem sempre está correlacionada com a resistência a doença, pois pode também ocorrer em interações compatíveis (LAMB & DIXON, 1997). Na fase II ocorre uma explosão mais forte e prolongada, que está diretamente correlacionada com a resistência da planta ao patógeno, provocando a morte localizada de células (resposta de hipersensibilidade), sendo características de interações incompatíveis (DANGL et al., 1996).

As espécies reativas de oxigênio podem atuar de diferentes maneiras durante a resposta de resistência da planta (DOOKE et al., 1996) (Figura 1): a) diretamente sobre o patógeno, inibindo seu desenvolvimento; b) fortalecendo a parede celular por favorecer a formação de ligações cruzadas com proteínas estruturais; c) peroxidação de lipídeos da membrana plasmática, fortalecendo sua integridade devido à redução da sua fluidez; d) o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), a espécie reativa de oxigênio mais estável e prontamente transportada através da membrana, pode regular a expressão de genes requeridos para a ativação da resistência ou pode formar ácido jasmônico, um mensageiro secundário, a partir da atividade da enzima lipídio hidroxiperoxidase presente na membrana plasmática.



**Figura 1.** Possíveis componentes envolvidos na geração de espécies ativas de oxigênio e seus efeitos sobre o patógeno ou sobre a ativação de mecanismos de defesa das plantas (adaptado de MEHDY, 1994).

O peróxido de hidrogênio pode ser diretamente tóxico aos patógenos. Na presença de ferro, o  $H_2O_2$  dá origem ao radical hidroxila, extremamente reativo. Alternativamente, pode contribuir para reforçar as paredes celulares, tanto por interligações de hidroxiprolinas e glicoproteínas ricas em prolina à matriz de polissacarídeos ou aumentando a taxa de formação de lignina por meio da atividade das peroxidases. Ambos mecanismos fazem mais resistente a parede celular à penetração do patógeno e à degradação enzimática. O  $H_2O_2$  também intervém na biossíntese do ácido salicílico (HAMMOND-KOSACK & JONES, 2000).

A detecção e quantificação de ROS em sistemas biológicos são particularmente difíceis devido à rápida destruição e detoxificação (“scavenging”) desses radicais por mecanismos antioxidantes celulares. Além disso, as ROS's são difíceis de serem detectadas diretamente por métodos espectrofotométricos ou HPLC. Por isso, a maioria das técnicas de detecção baseia-se na oxidação ou redução de certos compostos pelas ROS's (RESENDE et al., 2003). Alguns métodos de detecção de ROS's em plantas podem ser: macroscópico/microscópico (com *nitroblue tetrazolium*, amido/iodeto de potássio e cloreto de titânio); espectrofotométrico (com *nitroblue tetrazolium*, citocromo C e epinefrina); fluorescente (com piranina e escopoletina) e quimioluminescente (com luminol e lucigenina) (BAKER & ORLANDI, 1995).

## 2.2. Óxido nítrico

Óxido nítrico (NO) é um radical livre, inorgânico e gasoso que age como molécula sinalizadora com múltiplas funções biológicas nas plantas, como a ativação de proteínas relacionadas à patogênese (DELLEDONNE et al., 1998), atuação como fator endógeno de regulação de maturação e senescência em várias plantas (LESHEM & WILLS, 1998), com envolvimento inclusive da enzima óxido nítrico sintase (GUO et al., 2003) e fator regulando a morte celular programada em associação com a lignificação durante a formação dos vasos do xilema (NEILL, 2005).

As espécies reativas de oxigênio (ROS), como  $H_2O_2$  e  $O_2^-$ , descritas anteriormente, podem ser consideradas como sinais chaves para a expressão da resposta de hipersensibilidade (HR), que é o resultado da interação dos produtos dos genes de resistência (R) do hospedeiro e de avirulência (avr) do patógeno. Alguns trabalhos, no entanto, indicam que as ROS sozinhas podem não ser suficientes para induzir a morte da célula vegetal (GLAZENER et al., 1996). Algumas evidências indicam que as ROS podem agir paralelamente ou em sinergia com NO para que ocorra a HR (PINTO et al., 2002). NO, o qual age como sinalizador nos sistemas imune, nervoso e vascular (SCHMIDT & WALTER, 1994) pode potencializar a indução de HR (DELLEDONNE et al., 1998). Com relação ao NO, há muitas similaridades entre as respostas de defesa do hospedeiro à infecção em plantas e animais (FOISSNER et al., 2000). Mudanças nos níveis de  $Ca^{2+}$  citoplasmático, a produção de espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico, bem como a ativação da cascata MAPK são comumente relacionados como sinalizadores para as respostas de defesa da planta ao patógeno (NUMBERGER, 1999). Muitos desses componentes também são descritos nas respostas de células animais à infecção (NUMBERGER et al., 2001).

Em mamíferos, muitos efeitos do NO são mediados através da formação do peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), pela interação do NO com o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) ( $NO + O_2^- \rightarrow ONOO^-$ ). O peroxinitrito é um potente oxidante e citotóxico (PRATS et al., 2005).

Embora se tenha conseguido grande progresso para entendimento da dinâmica de NO usando como modelos interações-planta patógeno e mesmo sistemas de cultura



de células, poucos estudos têm sido destinados à função espacial e temporal do mesmo em sistemas envolvendo culturas economicamente importantes. A extremamente curta meia-vida do NO tem limitado o estudo de seus efeitos fisiológicos *in vivo*. Os poucos exemplos do envolvimento de NO em patossistemas de expressão econômica são apresentados a seguir.

Guo et al. (2004), em patossistema envolvendo trigo e *Puccinia striiformis*, verificaram que o reconhecimento pela planta de um isolado avirulento do patógeno estava associado com a produção de dois picos de NO. O primeiro pico foi observado nos estágios iniciais da infecção, enquanto que o segundo somente posteriormente. No entanto, na infecção com o isolado virulento, apenas um pico foi observado. Adicionalmente, a atividade de fenilalanina-amônia-liase (PAL) foi maior na interação incompatível, sugerindo que a produção inicial de NO poderia estar associada com a resistência.

Prats et al. (2005) observaram que no patossistema cevada – *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*, a geração de NO começou a ser detectada 10 h após a inoculação e sempre em estreita associação com os sítios de formação de papila, e precedendo a morte celular por HR, indicando seu envolvimento na resposta de resistência. Os autores sugerem que a geração de NO poderia afetar o intervalo de tempo ou a expressão de eventos relacionados à formação das papilas, como a reorganização do citoesqueleto, redirecionamento da corrente citoplasmática, formação de agregados citoplasmáticos, síntese de calose e de compostos fenólicos, ou acúmulo de componentes inorgânicos da papila, como silício.

### 2.3. Fitoalexinas

As fitoalexinas são metabólitos secundários, antimicrobianos, de baixa massa molecular e produzidos pelas plantas em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos. São capazes de impedir ou reduzir a atividade de agentes patogênicos, sendo a taxa de produção/acúmulo dependente dos genótipos do hospedeiro e/ou patógeno (LO et al., 1996). São considerados compostos biocidas, sendo prejudiciais para bactérias, fungos, nematóides, plantas e animais. De forma geral, o modo de ação das fitoalexinas sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e redução ou inibição do crescimento micelial (BRAGA, 2008).

As fitoalexinas apresentam grande diversidade e mais de 300 tipos já foram caracterizados entre diferentes classes de compostos químicos como cumarina, diterpeno e flavonóide, entre outras, tendo sido identificadas em mais de 20 famílias de vegetais superiores (SMITH, 1996). A indução para produção de fitoalexinas pode ocorrer em resposta à penetração fúngica e pelo tratamento com elicitores (ou eliciadores) abióticos e bióticos, como aqueles obtidos de plantas e de fungos miceliais (STANGARLIN et al., 1999; 2008).

## 3. Mecanismos bioquímicos pré e pós-formados

### 3.1. Proteínas relacionadas à patogênese

A infecção de plantas por fungos, bactérias e vírus, entre outros microrganismos, freqüentemente conduz a uma resposta de defesa do hospedeiro através de mecanismos

de eficiência variável contra o fitopatógeno (PASCHOLATI & LEITE, 1995). Um dos mais eficientes destes mecanismos é a reação de hipersensibilidade onde há a indução da produção de fitoalexinas e de várias proteínas de defesa codificadas por genes da planta (GRAHAM & GRAHAM, 1991). Essas proteínas incluem: a) proteínas estruturais - quando incorporadas à matriz extracelular, na tentativa de confinamento do patógeno (glicoproteínas ricas em hidroxiprolina e glicina e enzimas peroxidases envolvidas na lignificação); b) enzimas do metabolismo secundário, como as envolvidas na biossíntese de antibióticos; e c) proteínas relacionadas à patogênese (proteínas RP), responsáveis pelas maiores mudanças quantitativas nos teores de proteína solúvel durante as respostas de defesa (STINTIZI et al., 1993).

Essas proteínas RP foram detectadas pela primeira vez no início da década de 70 em folhas de fumo Samsun NN exibindo reação de hipersensibilidade ao vírus do mosaico (TMV) (VAN LOON & VANKAMMEN, 1970). Este foi o sistema que permitiu a caracterização da maior parte das proteínas RP até agora conhecidas, embora algumas dessas proteínas também possam ser induzidas em plantas sob condição de estresse, recebendo neste caso a denominação de proteínas de estresse (LINTHORST, 1991). Como conceito geral, pode-se dizer que as proteínas RP são induzíveis no hospedeiro em resposta à infecção por um patógeno ou por estímulos abióticos, e podem estar correlacionadas com a resistência não específica do hospedeiro ao patógeno.

As proteínas RP apresentam propriedades físico-química típicas que as distinguem das demais proteínas encontradas em plantas (STINTIZI et al., 1993):

- São estáveis em pH baixos, em torno de 2,8 (quase a totalidade das demais proteínas das plantas precipitaria nesta condição);
- Mostram-se resistentes à ação de enzimas proteolíticas. As proteínas RP ácidas de fumo localizam-se no espaço intercelular das folhas, que é uma região de pH relativamente baixo e que também contém enzimas com atividade de protease ácida;
- Geralmente mostram-se como monômeros, com massa molecular variando entre 8 e 50 kDa;
- Podem estar localizadas no vacúolo, parede celular e/ou apoplasto;
- São estáveis sob altas temperaturas (em torno de 60-70 °C).

As proteínas RP podem se apresentar em formas ácida ou básica. Em fumo, as proteínas intracelulares (localizadas nos vacúolos) são principalmente básicas e são constitutivamente expressas em altos níveis nas raízes, enquanto as formas ácidas são geralmente extracelulares. Uma diferença que também pode ser observada entre as formas ácida e básica é que estas últimas são induzidas em altos níveis nas folhas por etileno e injúria, enquanto que as primeiras não o são (NASSER et al., 1990).

As primeiras quatro proteínas RP descobertas foram facilmente detectadas devido à alta mobilidade em gel de poliacrilamida e porque migraram para uma região onde quase não haviam outras proteínas celulares (VAN LOON & VAN KAMMEM, 1970). Outras proteínas RP, embora presentes no mesmo gel, não podiam ser distinguidas das demais proteínas com mobilidade similar. O procedimento de extração em pH baixo permitiu eliminar essas outras proteínas celulares e caracterizar mais seis outras bandas de proteínas RP em extratos de folha de fumo com reação de hipersensibilidade a TMV. A nomenclatura destas dez principais proteínas RP de fumo foi baseada na característica de mobilidade eletroforética relativa: RP-1a, -1b, -1c, -2, -N, -O, -P, -Q, -R e -S, em ordem decrescente de mobilidade (STINTIZI et al., 1993).

Atualmente são conhecidas 17 famílias de PRPs em vegetais, com as mais diferenciadas funções (GORJANOVIC, 2009). Vale ressaltar que em cada família,

incluem-se classes com diferentes isoformas, respectivamente ácidas ou básicas (Tabela 1).

**Tabela 1.** Famílias de proteínas relacionadas à patogênese.

<b>Família</b>	<b>Propriedades</b>
PR-1	Antifúngica
PR-2	$\beta$ -1,3-glucanase
PR-3	Quitinase I-II, IV-VII
PR-4	Quitinase I-II
PR-5	Osmotina
PR-6	Inibidores de protease
PR-7	Endoproteinases
PR-8	Quitinase III
PR-9	Peroxidases
PR-10	<i>Proteínas semelhantes a ribonuclease</i>
PR-11	Quitinase V
PR-12	Defensinas
PR-13	Tioninas
PR-14	Proteínas relacionadas com o transporte de lipídios
PR-15	Oxalato oxidases
PR-16	<i>Proteínas semelhantes a oxalato oxidase</i>
PR-17	Desconhecida

O papel das PRPs na resistência de plantas contra microrganismos patogênicos pode ser tanto direto como indireto. Uma ação direta, como por exemplo, a inibição do crescimento do patógeno ou da germinação de esporos, representa uma concepção simplificada da defesa de plantas contra a entrada de agentes patogênicos. Neste sentido, em muitos casos as PRPs apresentam atividade antimicrobiana *in vitro*. Isoformas básicas de PRPs normalmente exercem maior atividade antifúngica, apresentando ação reduzida contra bactérias, insetos, nematóides ou vírus. Em sua maioria, PRPs possuem uma maior importância na ação indireta, ou seja, no processo de indução de resistência, como por exemplo, na ação preventiva contra penetração de patógenos, por ação oxidativa de componentes da parede celular vegetal por meio de peroxidases (PR-9), ou envolvimento na transdução de sinais durante a interação patógeno-hospedeiro, como na ação de oxalato oxidases (PR-15) e de proteínas não específicas relacionadas com o transporte de lipídios (PR-14). Um número pequeno de famílias das PRPs possui atividade enzimática como é o observado para glucanases (PR-2), quitinases (PR-3, PR-8, PR-11), peroxidases (PR-9), ribonucleases (PR-10) e (PR-4), ou ação inibitória pela atividade de inibidores enzimáticos (PR-6). A atividade inibitória de proteases e  $\alpha$ -amilases é atribuída às famílias PR-5, PR-12 e PR-14. Funções adicionais destas famílias no controle da atividade de enzimas endógenas, ou na defesa contra insetos fitófagos, ou seja, uma multifuncionalidade dos inibidores de protease de plantas é discutida.

As PRPs exibem uma diversidade de mecanismos de ação sobre microrganismos e pragas. Os mecanismos de ação das PRPs são baseados em atividades hidrolíticas sobre a parede celular, toxicidade direta, permeabilização da membrana plasmática, sinalização no processo de defesa ou inibição, por exemplo, de enzimas do trato digestivo de insetos. Nesse contexto, quitinases (PR-3, a PR-4, PR-8 e PR-11) e glucanases (PR-2) tem ação direta sobre os componentes (1,3)- $\beta$ -glucano e quitina da

parede celular de fungos, enquanto que PR-5, PR-12, PR-13 e PR-14 inicialmente influenciam a membrana plasmática. A ação antimicrobiana direta através da permeabilização da membrana plasmática aparentemente está relacionada à PRPs de natureza básica com  $\alpha$ -hélice anfipática, permitindo a ligação destas à membrana plasmática e posterior inclusão na bicamada lipídica.

Mais recentemente foram acrescentadas às PRPs as famílias PR-15 (oxalato oxidase), PR-16 (*proteínas semelhantes a oxalato oxidase*) e PR-17, todas isoladas a partir de folhas de cevada infectadas por *Blumeria graminis*. As PR-15 e PR-16 incluem proteínas e glicoproteínas associadas à matriz extracelular, as quais, envolvidas em vários processos que incluem a germinação, o desenvolvimento da planta e as respostas a agentes agressores de origem biótica e abiótica. Para a família PR-17 foram isoladas duas proteínas denominadas HvPR-17a e HvPR-17b, com massa molecular de 26 e 24 kDa respectivamente. A HvPR-17a por sua vez foi detectada em plantas resistentes e suscetíveis infestadas com afídeos (*Rhopalosiphum padi*).

A seguir são apresentados mais detalhes sobre as enzimas  $\beta$ -1,3 glucanases e quitinases (BOL et al., 1990):

**$\beta$ -1,3 glucanases** (E.C.3.2.1.39): essas endoglucanases são monômeros com massa molecular entre 25-35 kDa e que produzem oligômeros com 2-6 unidades de glicose a partir do substrato laminarina (uma  $\beta$ -1,3 glucana). A  $\beta$ -1,3 glucana é um importante componente da parede celular de muitos fungos. Muitas glucanases de várias espécies de plantas têm sido clonadas e sequenciadas. Em fumo foram isoladas cinco  $\beta$ -1,3 glucanases (quatro isoformas ácidas e uma básica, mais abundante) e agrupadas em três classes. A isoforma básica pertence à classe I, enquanto as isoformas ácidas pertencem às classes II e III. RP-2, -N e -O são da classe II, e a outra enzima extracelular RP-Q é da classe III. As isoformas ácidas são extracelulares enquanto as básicas ocorrem nos vacúolos. Outra  $\beta$ -1,3 glucanase chamada sp41 pode ser encontrada em grande quantidade em órgãos florais específicos.

Não há correlação entre o nível de similaridade na sequência de aminoácidos e a atividade catalítica relativa dessas enzimas sobre o substrato laminarina: RP-2 e -N mostram 99 % de similaridade na sequência de aminoácidos, mas N é cinco vezes mais ativa que RP-2; RP-O é 93 % similar a RP-2 mas é 250 vezes mais ativa. A RP-O tem uma atividade similar à glucanase básica embora a sequência de aminoácidos entre as duas seja muito diferente. Isto aumenta os problemas de diferença em especificidade de substrato entre glucanases para dada espécie de planta e também entre glucanases de diferentes espécies de plantas.

**Quitinases** (E.C. 3.2.1.14): semelhante às glucanases, essas enzimas são monômeros com massa molecular entre 25 e 35 kDa. As quitinases de plantas caracterizadas até agora são endoquitinases que produzem quitto-oligossacarídeos com 2-6 unidades de N-acetilglucosamina (BOL et al., 1990). Algumas dessas endoquitinases purificadas de plantas também possuem atividade de lisozima, podendo hidrolizar ligações  $\beta$ -1,4 entre ácido N-acetilmurâmico e N-acetilglucosamina no peptideoglicano bacteriano. Certas quitinases podem agir como quitosanases, além do fato de existirem também quitosanases específicas induzidas em plantas em resposta a fitopatógenos. Embora as quitinases hidrolizem eficientemente a quitina, que é o principal componente do exoesqueleto de insetos e da parede celular de muitos fungos, essas enzimas também têm sido encontradas em plantas de fumo em resposta à infecção por TMV (PONSTEIN et al., 1994).

Com relação ao modo de ação das proteínas RP sobre fungos, vários trabalhos parecem indicar que as formas extracelulares possuiriam uma função imediata na defesa

das plantas, pela ação na degradação de hifas invasoras (ação antimicrobiana direta), com a conseqüente liberação de elicitores oligossacarídicos a partir das paredes fúngicas, os quais poderiam conduzir à ativação de outros mecanismos locais ou sistêmicos de resistência nas plantas (ação antimicrobiana indireta). As formas intracelulares poderiam estar atuando tardiamente nas reações de defesa das plantas. Caso as formas extracelulares não fossem capazes de impedir o crescimento do patógeno nos tecidos vegetais ocorreria o colapso da célula e a liberação das formas intracelulares básicas dos vacúolos (BOLLER, 1988).

#### 4. Mecanismos estruturais

Os mecanismos estruturais de resistência atuam principalmente como barreira a penetração ou barreira à colonização microbiana. Estes mecanismos podem ser constitutivos, também denominados pré-formados ou induzidos também denominados pós-formados. O primeiro grupo refere-se a estruturas produzidas pela planta independente da ação de patógenos, tendo diversas funções na planta além da resistência. Neste grupo pode-se citar a presença de cutícula, forma e número de estômatos, pilosidade, vasos condutores de seiva e camada de sílica. No segundo grupo estão os mecanismos de resistência cuja expressão é desencadeada após o início das atividades do patógeno na superfície do hospedeiro. Estes mecanismos podem ser a formação de halos, papilas, ou lignificação que são barreiras celulares ou camadas de cortiça, camadas de abscisão, tilose, deposição de gel e hesperidinas, sendo estas barreiras histológicas.

##### 4.1. Mecanismos estruturais pré-formados

###### a) Cutícula

A epiderme é um tecido especializado das plantas que apresenta um papel crítico a sobrevivência da mesma. Este tecido apresenta um revestimento denominado cutícula, uma camada externa às células da epiderme, composta por cutina e ceras, materiais hidrofóbicos que tem a sua principal função evitar a perda de água em toda superfície da parte aérea da planta. A cutícula exerce uma resistência a saída de água da planta, mas além disso, ela é uma barreira eficiente contra a entrada da maioria dos patógenos que colonizam a superfície. A resistência a entrada de patógenos se dá pela complexidade dos polímeros de cutina, que os torna difíceis de serem degradados, sendo possível somente por microrganismos que apresentam como mecanismo de ataque, enzimas denominadas cutinases.

Dependendo da espessura ou da densidade dessa camada cuticular, as plantas podem ser mais ou menos resistentes, além de compostos presentes na cutícula também são responsáveis pela sinalização ativando outros mecanismos como as proteínas-RP (REINA-PINTO & YEPHREMOV, 2009). Frutos de maçã com cutícula mais espessa apresentam maior resistência a *Venturia inaequalis* (PASCHOLATI & LEITE, 1995) e mutantes de plantas de tomate com a cutícula mais densa e espessa tornaram-se resistentes a *Botrytis cinerea* (REINA-PINTO & YEPHREMOV, 2009). Por outro lado, alguns fungos patogênicos a plantas como *Colletotrichum gloeosporioides* em abacateiro, *Pyricularia grisea* em arroz e *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* precisam reconhecer a superfície do hospedeiro para iniciar a germinação a fim de penetrar e causar a infecção. Para isto proteínas de membrana reconhecem moléculas da cutícula

de seu hospedeiro, iniciando a germinação. Se porventura o esporo atingir a superfície de uma planta que não apresenta na composição da cutícula essa molécula específica o esporo não germina.

#### **b) Tricomas**

Os tricomas também apresentam função relacionada à redução da perda de água pela planta, no entanto, podem atuar na proteção desta, sendo para isto, considerados dois mecanismos: presença de glândulas associadas a estes, contendo substâncias inibidoras produzidas no metabolismo secundário; ou pelo número de tricomas, que quando em maior quantidade, interferem na continuidade do filme de água e, conseqüentemente, na possibilidade do patógeno atingir aberturas naturais como os estômatos, ou mesmo atingir a superfície das células por onde iniciará a penetração. O cultivar de feijoeiro Iapar-81 apresenta resistência a *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*, cuja resistência está correlacionada com a densidade de tricomas, interferindo na fase de pré-penetração, embora ocorrendo a germinação dos esporos a penetração é dificultada (JERBA et al., 2005). Quando consideramos que alguns patógenos fúngicos precisam reconhecer seu hospedeiro para germinar, a falta de contato com a cutícula impede sua germinação.

#### **c) Estômatos**

Os estômatos são aberturas naturais cuja função é manter o fluxo contínuo de água entre solo, planta e atmosfera, ocasionando um fluxo de massa responsável pelo transporte de nutrientes na planta, além de servir como porta de entrada para o CO<sub>2</sub>, substrato para a fotossíntese. Sendo uma abertura natural, certamente será local de penetração para muitos patógenos. Logo, dependendo da quantidade de estômatos, do tamanho e do período de abertura os patógenos podem ter dificuldade para serem bem sucedidos no processo de penetração e estabelecimento de relações parasitárias estáveis. O número de estômatos apresenta efeito parcial na resistência de pimentão (*Capsicum annum*) a oídio causado por *Oidiopsis haplophylli* (LIMA et al., 2010). *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* depende dos estômatos ou ferimentos para penetrar sendo bem sucedida nas laranjas e nos limões, no entanto, na tangerinas, isso não é possível, em função da forma dos mesmos, apresentando uma crista cuticular impedindo a continuidade do filme de água e, conseqüentemente, a entrada da bactéria. O período de abertura dos estômatos também pode ser considerado mecanismo de resistência. Patógenos que dependem exclusivamente dos estômatos abertos para penetrar, como a ferrugem do colmo do trigo, apresentam dificuldades para penetrar se os estômatos tiverem a abertura retardada pela manha, pois o sol resseca o tubo germinativo frustrando a tentativa de penetração (PASCHOLATI & LEITE, 1995).

#### **d) Vasos condutores**

Os vasos condutores, além de funcionarem conduzindo fluxo de seiva, possuem a função estrutural para sustentação da parte aérea, mantendo as folhas em posição adequada para captação da energia solar e realização da fotossíntese. Para que os vasos possam ser capazes de sustentar uma folha na posição adequada suas paredes precisam ser lignificadas. Alguns patógenos são conhecidos por causar manchas angulares e esse tipo de sintomatologia ocorre quando estes patógenos não possuem

capacidade de degradar as paredes lignificadas dos vasos, impedindo o avanço da lesão. A implicação biológica disso é uma menor produção de inóculo e menor área lesionada. Por outro lado, alguns patógenos nos eventos de pré-penetração dependem do relevo do filoplano para encontrarem os estômatos. Neste sentido o cultivar de feijoeiro Iapar-81 apresenta resistência a *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli* correlacionada à menor saliência dos vasos, interferindo na orientação tigmotrópica na fase de pré-penetração, dificultando a entrada do mesmo (JERBA et al., 2005).

#### **e) Camada de sílica**

A camada de sílica é um mecanismo de resistência comum em plantas das famílias Poaceae, Equisetaceae e Cyperaceae, e como exemplo de plantas cultivadas que acumulam este elemento tem-se: trigo, aveia, centeio, sorgo, milho e cana-de-açúcar. Quando estas plantas são cultivadas em ambientes com altos teores de silício solúvel, o elemento é absorvido e depositado no espaço intercelular da epiderme, formando uma camada de sílica gel a qual torna-se uma barreira a penetração especialmente por hifas de fungos (RODRIGUES & DATNOFF, 2007). O patossistema arroz-*Magnaporthe grisea* vem sendo bastante estudado quanto a essa característica. Kim et al. (2002) associaram a resistência à camada de sílica mais espessa nas cultivares resistentes de arroz.

### **4.2. Mecanismos estruturais pós-formados**

#### **4.2.1. Barreiras celulares**

##### **a) Reorganização do citoplasma**

Assim que algum propágulo de microrganismo fitopatogênico atinge a superfície do hospedeiro e realiza suas atividades na tentativa de penetra-lo, inicia-se uma grande mudança na organização interna da célula vegetal, denominado polarização, com o intuito de agilizar qualquer resposta de defesa. Para isto, uma intensa rede de microtúbulos é produzida para levar núcleo, retículo endoplasmático, complexo de golgi e ribossomos próximos do ponto de penetração, facilitando a comunicação celular e aumentando a velocidade das respostas de defesa vegetal (SCHMELZER, 2002).

##### **b) Halo**

O halo refere-se a uma modificação na parede celular ao redor do ponto de penetração para evitar a perda de água e ao mesmo tempo dificultar a penetração por parte do patógeno. Essas modificações são representativas nas concentrações de lipídios, silício, lignina, suberina e calose (AGRIOS, 2005).

##### **c) Papila**

A papila atua juntamente com o halo, no entanto, as modificações são no espaço entre a parede celular e a membrana no exato local onde o patógeno exerce pressão para penetração. A papila é composta por calose, derivados fenólicos, celulose, suberina, lignina e silício e a principal função é oferecer resistência à penetração do patógeno e dificultar a troca de metabólitos entre patógeno e hospedeiro. Kang & Buchenauer (2000) demonstraram que a resistência a *Fusarium culmorum* em trigo está associada à formação de papila.

#### **d) Lignina**

Citoplasmas em degeneração ou células danificadas pela tentativa de penetração de determinado patógeno, especialmente fungos, levam a aumento da biossíntese de lignina, no intuito de reforçar as paredes celulares ou mesmo a formação de lignina ao redor das estruturas do patógeno, como hifas, isolando-o do citoplasma e paralisando seu avanço. A lignificação de uma célula torna as paredes mais resistentes à penetração e exige do invasor a expressão de enzimas específicas que degradam lignina para continuar o avanço da colonização. Além disso, a presença de compostos fenólicos, substrato para formação da lignina, inibe metabólitos do patógeno. A lignificação das hifas do patógeno, denominada de tubo lignífero, o isola do hospedeiro e dificulta o trânsito de água e nutrientes do hospedeiro para o fungo e o trânsito de toxinas e enzimas do patógeno para o hospedeiro. Neste sentido, Ascensao & Dubery (2003), a partir de eliciador proveniente de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*, induziram o aumento da lignificação em raízes de bananeira correlacionado com o aumento da resistência a este patógeno.

### **4.2.2.Barreiras histológicas**

#### **a) Camada de cortiça**

Camadas de cortiça inibem o crescimento das lesões, especialmente causadas por fungos. Depois que o patógeno conseguiu ser bem sucedido na penetração e estabelece relações parasitárias estáveis, as células do hospedeiro, identificando a ação do mesmo, iniciam um processo de formação de uma camada de cortiça ao redor da lesão ocasionada pelo patógeno. As células sadias localizadas na periferia da lesão modificam seu metabolismo, produzindo grande quantidade de suberina e paralisando a atividade biológica. Esse processo limita o avanço do patógeno e não há fluxo de toxinas e enzimas do patógeno para os tecidos sadios da planta. Tubérculos de batata reagem a tentativa de penetração por *Rhizoctonia solani* formando camada de cortiça isolando o fungo na externamente (AGRIOS, 2005).

#### **b) Camada de abscisão**

A camada de abscisão é um mecanismo que visa eliminar o tecido vegetal afetado, juntamente com o patógeno. Após o reconhecimento da ação do patógeno, células específicas da periferia da lesão tornam-se lignificadas para limitar o avanço do patógeno, enquanto que células sadias mais externas à lesão iniciam a dissolução enzimática da lamela média que circula a lesão, desconectando o tecido lesionado do tecido sadio com o balançar do vento. Este fenômeno claramente se vê na cultura do pêssigo infectado por *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (PASCHOLATI & LEITE, 1995, AGRIOS, 2005). Outra forma de eliminar tecido doente por camada de abscisão é eliminando folhas inteiras infectadas, o que é observado na interação entre a seringueira (*Hevea brasiliensis*) e o fungo *Microcylus uley*. Em condições naturais as folhas infectadas são eliminadas por inteiro e o patógeno eliminado junto com a mesma, sendo um eficiente mecanismo de resistência. Porém, em condição de monocultivo e alta densidade de inóculo, a planta perde suas folhas por inteiro e isso inviabiliza sua produção.

#### **c) Tilose**

Microrganismos patogênicos habitantes de xilema colonizam a planta crescendo internamente nestas estruturas, que apresentam a característica de ser



formada por células lenhosas que não apresentam atividade celular, servindo apenas como canais de água e nutrientes para a parte aérea. Esta característica torna este ambiente favorável a microrganismos que possuem a habilidade de degradar tecido lenhoso, sendo rapidamente disseminados pelo próprio fluxo de água ascendente. Uma vez que não há atividade celular, qualquer mecanismo de defesa teria que ser produzido nas células do parênquima. Tiloses são projeções do protoplasto de células do parênquima que crescem a partir dos plasmodesmas, ocupando o espaço da seiva no xilema. Esse fenômeno é estimulado por ferimentos, estresses hídricos e presença de microrganismos patogênicos, interrompendo o fluxo da seiva e, conseqüentemente, interrompendo o avanço de patógenos pelo xilema (SUN et al., 2008). A seiva naturalmente encontra caminho pelos plasmodesmas conectados com outro vaso do xilema, mantendo o fluxo, enquanto que o patógeno não consegue transitar pelos plasmodesmas devido à reduzida dimensão destas conexões. Cultivares de algodão resistentes a *Verticilium albo-atrum* apresentam maior número de tiloses do que as suscetíveis (PASCHOLATI & LEITE, 1995) e o mesmo acontece com cultivares de banana resistentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (VANDER MOLEN et al., 1987).

#### **d) Deposição de gel**

Vários tipos de géis e gomas são produzidos por diversas plantas próximo as lesões causadas por patógenos ou injúrias (AGRIOS, 2005). Como mecanismo de resistência algumas plantas depositam gel, composto de pectinas produzidas nas células do parênquima adjacentes aos vasos do xilema. Este gel ocupa o lúmen do xilema impedindo o fluxo de seiva, incluindo deposição nas pontuações, evitando a passagem de água pelas mesmas próximo a área afetada (SUN et al., 2008). Além de barreira mecânica, compostos antimicrobianos estão dissolvidos neste gel, servindo como barreira química. Este tipo de barreira é observada em videira em situações de ataque de patógenos vasculares e especialmente por ferimentos, comum em época de poda.

#### **e) Cristais de hesperidinas**

Hesperidinas são flavonóides glicosídicos produzidos nas células do parênquima adjacente aos vasos e liberados no lúmen do xilema sendo cristalizados neste espaço e formando agulhas de cristais que ocasionam obstrução do xilema. Este fenômeno foi observado em vasos do xilema de folhas de citros infectados por *Xillela fastidiosa* (ALVES et al., 2009). Não está totalmente claro ainda se o efeito protetor está na formação dos cristais como barreira física, no entanto, flavonóides glicosídios apresentam ação tóxica contra microrganismos, e se porventura o patógeno lançar mão de enzimas para degradar os cristais, substâncias tóxicas podem ser liberadas.

### **5. Indução de resistência**

A indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (BONALDO et al, 2005; CAVALCANTI et al., 2005a,b;). Estes mecanismos latentes referem-se às defesas bioquímicas e estruturais pós-formadas discutidas anteriormente. Os agentes indutores capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de resistência nas plantas são chamados de elicitores (SMITH, 1996), podendo apresentar natureza química variada, como oligossacarídeos, glicoproteínas, oligopeptídeos ou ácidos

graxos, o que demonstra a não existência de característica estrutural única na determinação da atividade elicitora (STANGARLIN et al., 1999).

A ativação das defesas das plantas pode ocorrer a partir da elicitação por compostos presentes em extratos de plantas (KUHN et al., 2006; RODRIGUES et al., 2006), preparações de cogumelos (DI PIERO et al., 2005; VIECELLI et al., 2009 e 2010; TOILLIER et al., 2010), preparações de leveduras (STANGARLIN & PASCHOLATI, 1994; STANGARLIN et al., 2010), exopolissacarídeos bacterianos (CASTRO & BACH, 2004), rizobactérias promotoras de crescimento (SILVA, 2002), fungos promotores de crescimento (MADI & KATAN, 1998), e ainda raças não virulentas do patógeno (MONOT et al., 2002), além do próprio patógeno inativado pelo calor (BACH et al., 2003). Pode-se ainda utilizar elicitores químicos ou físicos, como silício (Si) (CHÉRIF et al., 1994), ácido salicílico (AS) (CIPOLLINI, 2002), ácido D-L-aminobutírico (BABA) (ZIMMERLI et al., 2000), quitosana (SATHIYABAMA & BALASUBRAMANIAN, 1998), cloreto férrico, fosfato de potássio dibásico (BÉCOT et al., 2000), acibenzolar-S-metil (ASM) (DIETRICH et al., 2005), ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA) (BESSER et al., 2000), fosfato de potássio monobásico (REUVENI et al., 2000), ácido jasmônico (AJ) (CIPOLLINI, 2002), metil jasmonato (MeJa) (HEIJARI et al. 2005), sacarina (BOYLE & WALTRERS, 2005a, b), ácidos graxos (COQUOZ et al., 1995) ou luz em comprimentos de onda específicos (KHANAM et al. 2005) e medicamentos homeopáticos (TOLEDO, 2009).

Portanto, a resistência induzida consiste no aumento da resistência por meio da utilização de agentes externos, sem qualquer alteração no genoma da planta (STADNIK, 2000), isso ocorrendo de maneira não específica por meio da ativação de genes envolvidos em diversas respostas de defesa, tais como explosões oxidativas (LAMB & DIXON, 1997), respostas de hipersensibilidade (ZIMMERLI et al., 2000), acúmulo de Proteínas-RP como peroxidases, quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases (CABELO et al., 1994; IURKIV et al., 2006a), síntese de inibidores de proteinases (IP) (ZAVALA et al., 2004), enzimas envolvidas na rota dos fenilpropanóides, como a fenilalanina amônia-liase (FAL), chalcona isomerase (CHI), chalcona sintase (CHS) (WEN et al., 2005), cinamil álcool desidrogenase (CAD) (STADNIK & BUCHENAUER, 2000), polifenol oxidase (PFO) (THALER et al., 2001) e enzimas envolvidas na peroxidação de lipídios, como a lipoxigenase (LOX) (BUZI et al., 2004), síntese de fitoalexinas (LATUNDE-DADA & LUCAS, 2001), acúmulo de compostos fenólicos (HAMMERSCHMIDT, 2005 a,b), aumentos na atividade de  $\beta$ -1,3-glucana sintase e conseqüente aumento na formação de calose (STADNIK & BUCHENAUER, 2000), bem como o acúmulo de lignina em tecidos circunvizinhos ao local de penetração do microrganismo (IURKIV et al., 2006b).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

ALVES, E.; LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F.; ISHIDA, M. L.; ANDERSEN, P. C. *Citrus sinensis* leaf petiole and blade colonization by *Xylella fastidiosa*: details of xylem vessel occlusion. **Scientia Agrícola**. v.66, n.2, p.218-224. 2009.

ASCENSÃO, A. R. F. D. C.; DUBERY, I. A. Soluble and wall-bound phenolics and phenolic polymers in *Musa acuminata* roots exposed to elicitors from *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. **Phytochemistry**. v.63 p.679–686. 2003.

BACH, E.E.; BARROS, B.C.; KIMATI, H. Induced resistance against *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* in wheat leaves by xanthan gum and heat-inactivated conidial suspension. **Journal of Phytopathology**. v. 151, p. 411-418. 2003.

BAKER, C. J.; MOCK, N.; GLAZENER, J.; ORLANDI, E. Recognition responses in pathogen/non-host and race/cultivar interactions involving soybean (*Glycine max*) and *Pseudomonas syringae* pathovars. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v.43, p.81-94, 1993.

BAKER, C. J.; ORLANDI, E. W. Active oxygen in plant pathogenesis. **Annual Review of Phytopathology**. v.33, p.299-321, 1995.

BÉCOT, S.; PAJOT, E.; LE CORRRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Fitogard® ( $K_2HPO_3$ ) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**. v. 19, p. 417-425, 2000.

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

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

BOLLER, T. Ethylene and regulation of hydrolases in plants. In MIFLIN B.J. (Editor). **Oxford Surveys of Plant Molecular and Cell Biology**. Oxford University Press, Oxford. 1988. Vol. 5. p.145-174.

BOYLE, C.; WALTERS, D. Induction of systemic protection against powdery mildew in barley: Effect on plant growth and development. **New Phytologist**. v. 167, p. 607-612. 2005a

BOYLE, C.; WALTERS, D. R. Sacharin-induced protection against powdery mildew in barley: Effect on plant growth and phenylpropanoid metabolism. **Plant Pathology**. v. 54, p. 1-10. 2005b

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.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 11-28. 2005.

BRAGA, M. R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). *Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.305-346.

BUZI, A.; CHILOSI, G.; DE SILLO, D.; MAGRO, P. Induction of resistance in melon to *Didymella bryoniae* and *Sclerotinia sclerotiorum* by seed treatment with salicylic acid. **Journal of Phytopathology**. v. 152, p. 34-42. 2004.

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

CASTRO, O. L.; BACH, E. E. Increased production of  $\beta$ -1,3-glucanase and protein in *Bipolaris sorokiniana* pathosystem treated using commercial xanthan gum. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 42, p. 165-169. 2004.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005a. p.81-124.

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, 2005b. 263p.

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

CIPOLLINI, D. F. Does competition magnify the fitness costs of induced responses in *Arabidopsis thaliana*? A manipulative approach. **Oecologia**. v. 131, p. 514-520. 2002.

COQUOZ, J. L.; BUCHALA, A. J.; MEUWLY, P.; MÉTRAUX, J.-P. Arachidonic acid treatment of potato plants induces local synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*. **Phytopathology**. v. 85, p. 1219-1224. 1995.

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

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

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

DI PIERO, R. M.; GARCIA Jr., D.; TONUCCI, N. M. Indutores bióticos. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.29-50.

DOKE, N.; MIURA, Y.; SANCHEZ, L. M.; PARK, H.-J.; NORITAKE, T.; YOSHIOKA, H.; KWAKITA, K. The oxidative burst protects plants against pathogen attack: mechanism and role as an emergency signal for plant bio-defence – a review. **Gene**, v.179, p.45-51, 1996.

FOISSNER, I.; WENDEHENNE, D.; LANGEBARTELS, C.; DURNER, J. *In vivo* imaging of an elicitor-induced nitric oxide burst in tobacco. **The Plant Journal**, v.23, p.817-824, 2000.

FRY, S. C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell wall of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**. v.37, p.165-186, 1986.

GARCION, C.; LAMOTTE, O.; MÉTRAUX, J. P. Mechanisms of defence to pathogens: biochemistry and physiology. In: WALTERS, D.; NEWTON, A.; LYON, G. (Ed.). **Induced resistance for plant defence – a sustainable approach to crop protection**. Oxford: Blackwell, 2007. p109-132.

GLAZENER, J. A.; ORLANDI, E. W.; BAKER, C. J. The active oxygen response of cell suspensions to incompatible bacteria is not sufficient to cause hypersensitive cell death. **Plant Physiology**, v.110, p.759-763, 1996.

GOODMAN, R. N.; KIRÁLY, Z.; WOOD, K. R. **The biochemistry and physiology of plant disease**. Columbia, University of Missouri Press, 1986. 433p.

GORJANOVIĆ, S. A Review: Biological and Technological Functions of Barley Seed Pathogenesis-Related Proteins (PRs). **J. Inst. Brew.** 115(4), 334–360, 2009.

GRAHAM, T. L.; GRAHAM, M.Y. Cellular coordination of molecular responses in plant defense. **Molecular Plant-Microbe Interactions.** v.4, p.415-422, 1991.

GUO, F. K.; OKAMOTO, M.; CRAWFORD, N. M. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. **Science**, v.302, p.100-103, 2003.

GUO, P.; CAO, Y.; LI, Z.; ZHAO, B. Role of an endogenous nitric oxide burst in the resistance of wheat to stripe rust. **Plant, Cell and Environment**, v.27, p.473-477, 2004.

HAMMERSCHMIDT, R. Phenols and plant-pathogens interaction: the saga continues. **Physiological and Molecular Plant Pathology.** v. 66, p. 77-78. 2005a.

HAMMERSCHMIDT, R. Silicon and plant defense: the evidence continue to mount. **Physiological and Molecular Plant Pathology.** v. 66, p. 117-118. 2005b.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D.G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Eds.). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants.** Rockville, ASPP, 2000. p.1102-1156.

HEIJARI, J.; NERG, A. M.; KAINULAINEN, P.; VIIRI, H.; VOURINEN, M.; HOLOPAINEN, J. K. Application of methyl jasmonate reduces growth but increases chemical defence and resistance against *Hylobius arietis* in Scots pine seedlings. **Entomologia experimentalis et Applicata.** v. 115, p. 117-124. 2005.

HEISER, I.; OSWALD, W.; ELSTNER, E. F.. The formation of reactive oxygen species by fungal and bacterial phytotoxins. **Plant Physiol. Biochem.** v.36, p.703-713, 1998.

HEISER, H.; OSSWALD, W. F. Formação e função das espécies reativas de oxigênio nas interações planta-patógeno. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). *Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular.* Piracicaba: FEALQ, 2008. p.249-283.

HOAGLAND, R. E. Biochemical responses of plants to pathogens. In: HOAGLAND, R.E. (Ed.). **Microbes and microbial products as herbicides.** Washington, American Chemical Society, 1990. p.87-113.

HOSTETTMANN, K. A.; MARSTON, A. Saponins. **Chemistry and Pharmacology of Natural Products**. Cambridge, University Press. 1995.

INTRAPUK, C. I.; TAKANO, M.; SHINMYO, A. Nucleotide sequence of a new cDNA for peroxidase from *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiology**. v.104, p.285-286, 1994.

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

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

IURKIV, L.; ECKSTEIN, B.; BALBI-PEÑQ, M. I.; STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Histopatologia da interação entre *Alternaria solani* e tomateiro tratado com *Curcuma longa* e cucrcumina. **Summa Phytopathologica**. v.32, n.(supl.), p.28, 2006b.

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**, v.40, n.3, p.217-223, 2005.

JOHAL, G. S.; GRAY, J.; GRUIS, D.; BRIGGS, S. P. Convergent insights into mechanisms determining disease and resistance response in plant-fungal interactions. **Canadian Journal Botany**. v.73, p.S468-S474, 1995.

KHANANM, N. N.; KIHARA, J.; HONDA, Y.; TSUKAMOTO, T.; ARASE, S. Studies on red light-induced resistance of broad bean to *Botrytis cinerea*: I. Possible production of suppressor and elicitor by germinating spores of pathogen. **Journal of General Plant Pathogen**. v. 71, p. 285-288. 2005.

KIM, S. G.; KIM, K. W.; PARK, E. W.; CHOI, D. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. **Phytopatology**. V.92, p.1095-1103, 2002.

KUHN, O. J.; PORTZ, R. L.; STANGARLIN, J. R.; MONTALVÁN, R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Semina Ciências Agrárias**, Londrina/PR, v. 27, n. 1, p. 13-20, 2006.

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

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

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

LESHEM, Y. Y.; WILLS, R. B. H. Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a novel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. **Biol. Plant**. v.41, p.1-10, 1998.

LIMA, M. L. P.; LOPES, C. A.; CAFÉ FILHO, A. C. Padrão estomático de *Capsicum* ssp. resistentes e suscetíveis a *Oidiopsis haplophylli* **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 25-29, 2010.

LINTHORST, H. J. M. Pathogenesis-related proteins of plants. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.10, p.123-150, 1991.

LO, L. C.; WEIERGANG, I.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R. L. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v.49, p.21-31, 1996.

MADI, L.; KATAN, J. *Penicillium janczewskii* and its metabolites, applied to leaves, elicit systemic acquired resistance to stem rot caused by *Rhizoctonia solani*. **Physiology and Molecular Plant Pathology**. v.53, p. 163-175, 1998.

MANSFIELD, J. W. Antimicrobial compounds. In: CALLOW, J.A. (Ed.). **Biochemical Plant Pathology**. Chichester, John Wiley & Sons, 1983. p.237-265.

MEHDY, M. C. Active oxygen species in plant defence against pathogens. **Plant Physiology**. v.105, 467-472, 1994.

MEHDY, M. C.; SHARMA, Y. K.; SATHASIVAN, K.; BAYS, N. W. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. **Physiologia Plantarum**. v.98, p.365-374, 1996.



MONOT, C.; PAJOT, E.; LE CORRE, D. SILUÉ, D. Induction of systemic resistance in broccoli (*Brassica oleracea* var *botrytis*) against downy mildew (*Peronospora parasitica*) by avirulent isolates. **Biological Control**. v. 24, p. 75-81, 2002.

NASSER, W.; DE TAPIA, M.; BURKARD, G. Maize pathogenesis-related proteins: characterization and cellular distribution of  $\beta$ -1,3 glucanases and chitinases induced by brome mosaic virus infection or mercuric chloride treatment. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.36, p.1-14, 1990.

NEILL, S. NO way to die – nitric oxide, programmed cell death and xylogenesis. **New Phytologist**, v.165, p.5-7, 2005.

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

NICHOLSON, R. L. Events in resistance expression in maize and sorghum: Molecular and biochemical perspectives. **Summa Phytopathologica**. v.21, p.95-99, 1995.

NÜRNBERGER, T. Signal perception in plant pathogen defense. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v.55, p.167-182, 1999.

NÜRNBERGER, T.; BRUNNER, F.; KEMMERLING, B.; PIATER, L. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. **Immunological Reviews**, v.198, p.249-266, 2001.

OSBOURN, A. E. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. **The Plant Cell**. v.8, p.1821-1831, 1996.

PASCHOLATI, S. F. & LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência à doenças. In: LUZ, W.C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Vol. II. Passo Fundo, RAPP, p.1-52. 1994.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, v.1, p.193-217, 1995.

DE PINTO, M. C.; TOMMASI, F.; DE GARA, L. Changes in the antioxidant systems as part of the signalling pathway responsible for the programmed cell death activated by nitric oxide and reactive oxygen species in tobacco Bright-Yellow 2 cells. **Plant Physiology**, v.130, p.698-708, 2002.

PONSTEIN, A.S.; VLOEMANS, S.A.B.; BUURLAGE, M.B.S.; ELZEN, P.J.M.; MELCHERS, L.S.; CORNELISSEN, B.J.C. A novel pathogen - and wound-inducible tobacco (*Nicotiana tabacum*) protein with antifungal activity. **Plant Physiology**, v.104, p.109-118, 1994.

PRATS, E.; MUR, L.A.J.; SANDERSON, R.; CARVER, T. L. W. Nitric oxide contributes both to papilla-based resistance and the hypersensitive response in barley attacked by *Blumeria graminis* f.sp. *hordei*. **Molecular Plant Pathology**, v.6, p.65-78, 2005.

RAO, M. B.; TANKSALE, M.; GHATGE, M. S.; DESHPANDE, V. V. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**. v.62, n.3, p.597-635, 1998.

REINA-PINTO, J. J.; YEPHREMOV, A. Surface lipids and plant defenses. **Plant Physiology and Biochemistry** v.47 p.540-549, 2009.

REUVENI, R.; DOR, G.; RAVIN, M.; REUVENI, M.; TUZUN, S. Systemic resistance against *Sphaeroteca fuliginea* in cucumber plants exposed to phosphate in hydroponics system, and its control by foliar spray of mono-potassium phosphate. **Crop Protection**. v. 19, p. 355-361, 2000.

RESENDE, M. L. V. Mecanismos de resistência de plantas a doenças fúngicas vasculares. In: LUZ, W.C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Vol. IV. Passo Fundo: RAPP, p.329-351. 1996.

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

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FIORI, A. C. G.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre (aceito para publicação). **Summa phytopathologica**. Botucatu/SP, 2006.

SATHIYABAMA, M.; BALASUBRAMANIAN, R. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protection**. v.17, n.4, p.307-313, 1998.

SCHMELZER, E. Cell polarization, a crucial process in fungal defence. **Trends in Plant Science** v.7, n.9, 2002.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). *Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.227-248.

SILVA, H. S. A. **Rizobactérias como promotoras do crescimento de plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) e indutoras de resistência sistêmica a patógenos foliares da cultura**. Viçosa. 75p 2002. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Viçosa.

SMITH, C. J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**. v. 132, p. 1-45. 1996.

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

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

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

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**. v. 20, n.1, p.16-21, 1994.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**. Brasília, v.2, n.11. p.16-21, 1999.

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

STANGARLIN, J. R.; SCHULZ, D. G.; FRANZENER, G.; ASSI, L. SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; KUHN, O. J. Indução de fitoalexinas em soja e sorgo por

preparações de *Saccharomyces boulardii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p.91-98, 2010.

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

SUN, Q.; ROST, T. L.; MATHEWS, M. A. Wound-induced vascular occlusions in vitis vinifera(vitaceae): tyloses in summer and gels in winter **American Journal of Botany**. v.95 n.12 p.1498–1505. 2008.

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

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

TOLEDO, M. V. **Fungitoxicidade contra *Alternaria solani*, controle da pinta preta e efeito sobre o crescimento do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill) por medicamentos homeopáticos**. Dissertação de Mestrado. (Universidade Estadual do Oeste do Paraná). 2009.

TREMACOLDI, C. R. Proteases e inibidores de proteases na interação planta-microorganismo. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). **Interação Planta Patógeno – fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.373-386.

VANDER MOLEN, G. E; BECKMAN, C. H.; RODEHORST, E. The ultrastructure of tylose formation in resistant banana following inoculation with *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.31, n.2, p.185-200. 1987.

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

VERA-ESTRELLA, R.; BLUMWALD, E.; HIGGINS, V.J. Non-specific glycopeptide elicitors of *Cladosporium fulvum*: evidence for involvement of active oxygen species in elicitor-induced effects on tomato cell suspensions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. v.42, p.9-22, 1993.

VIDHYSEKARAN, P. **Physiology of disease resistance in plants**. Vol. I. Florida, CRC Press, 1988. 149p.

VIECELLI, C. A.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Indução de resistência em feijoeiro por filtrado de cultura de *Pycnoporus sanguineus* contra *Pseudocercospora griseola*. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.2, p.81-90, 2009.

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

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

WEN, P.F.; CHEN, J.Y.; KONG, W.F.; PAN, Q.H; WAN, S.B.; HUANG, W.D. Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. **Plant Science**. v. 169, p. 928-934. 2005.

ZAVALA, J. A.; PAANKAR, A.G.; GASE, K.; BALDWIN, I.T. Constitutive e inducible trypsin proteinase inhibitor production incurs large fitness costs in *Nicotiana attenuate*. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. v. 101, p. 1607-1612. 2004.

ZIMMERLI, L.; JAKAB, G.; MÉTRAUX, J.-P.; MAUCH-MANI, B. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in *Arabidopsis* by  $\beta$ -aminobutyric acid. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. v. 97, p. 12912-12925. 2000.