

**PRODUTOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DE DOENÇAS  
FÚNGICAS EM FOLHA E FRUTO DE MAMOEIRO**

**PEDRO HENRIQUE DIAS DOS SANTOS**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO - UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
ABRIL – 2013**

**PRODUTOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DE DOENÇAS  
FÚNGICAS EM FOLHA E FRUTO DE MAMOEIRO**

**PEDRO HENRIQUE DIAS DOS SANTOS**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Silvaldo Felipe da Silveira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
ABRIL 2013

PRODUTOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DE DOENÇAS  
FÚNGICAS EM FOLHA E FRUTO DE MAMOEIRO

**PEDRO HENRIQUE DIAS DOS SANTOS**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Aprovada em 04 de ABRIL de 2013

Comissão examinadora:

---

Prof. Fabricio de Ávila Rodrigues (Ph. D., Plant Pathology) - UFV

---

Prof. Roberto da Trindade Faria Júnior (D. Sc., Física) – UENF

---

Marcelo Vivas (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) - UENF

---

Prof. Silvaldo Felipe da Silveira (D. Sc., Fitopatologia) – UENF  
Orientador

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do CCTA / UENF 050/2013

Santos, Pedro Henrique Dias dos

Produtos alternativos no controle de doenças fúngicas em folha e fruto de mamoeiro / Pedro Henrique Dias dos Santos. – 2013.  
76 f.

Orientador: Silvaldo Felipe da Silveira.

Dissertação (Mestrado - Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

Bibliografia: f. 66 – 76.

1. Indução de resistência 2. *Carica papaya* 3. *Asperisporium caricae*  
4. Controle alternativo de doenças 5. Espectroscopia fotoacústica I.  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD –  
634.651

Às duas mulheres mais importantes da minha vida Pilli e Cris por sempre estarem em todos os momentos da minha vida me apoiando e torcendo por mim.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua presença forte e constante em minha vida;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, pela oportunidade de realização do curso e concessão da bolsa de mestrado;

Ao meu orientador professor Silvaldo Felipe da Silveira, pela orientação, confiança, apoio e amizade que sempre demonstrou e por ter despertado em mim o interesse pela pesquisa e pela Fitopatologia;

À minha querida Mãe, Cristina Dias, que sempre foi o meu maior espelho e orgulho, que nos piores momentos sempre esteve lá nem que fosse para me dar uma palavra de consolo e que nos bons vibrou junto comigo;

À minha linda irmã Paula que sempre esteve ao meu lado como uma verdadeira companheira inseparável;

À querida Beatriz Murizini por me conquistar com seu bom humor, brincadeiras e inteligência, além da ajuda sempre insubstituível e constante nos experimentos;

À professora Janie Jasmim pela convivência, amizade, carinho e conselhos;

Ao Marcelo Vivas pela amizade e apoio e por sempre estar disposto a passar seus conhecimentos e ajudar nos experimentos e avaliações;

Aos amigos do laboratório, Alexandre Baiano, Alexandre Gomes, Jackeline e Janieli pela convivência e amizade;

Ao Vicente Mussi pela paciência e pela amizade e confiança que sempre depositou em mim;

Ao professor Messias Gonzaga Pereira, por todo o suporte e incentivo;

Ao amigo e Professor Roberto Faria pela paciência, risadas e por abrir os horizontes da pesquisa e despertar o interesse nos processos fototérmicos;

Ao professor Helion Vargas pelo suporte e apoio no LCFIS;

Ao professor Fabrício de Ávila pela atenção e grandes contribuições no final do trabalho;

Aos amigos que fiz no LCFIS Ellen, Sâmylla, Thallis e Daniel;

Aos funcionários da Empresa Caliman Agrícola S.A., em especial ao Geraldo Antônio Ferreguetti;

A todos da minha família, que de alguma forma contribuíram para a minha formação;

Às queridas amigas Karina, Jaqueline e Rosana, pela enorme força que sempre me deram e por acreditar sempre em mim;

Ao meu irmão de coração Gabriel por ter sido o melhor amigo que uma pessoa poderia ter;

A todos que de certa maneira passaram pela minha vida e deixaram marcas e fizeram com que eu me tornasse uma pessoa melhor.

## SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS.....	vii
RESUMO .....	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	7
2.1. Principais doenças na cultura do mamoeiro.....	7
2.2. O fenômeno da indução de resistência em plantas.....	12
2.3. Substâncias químicas indutoras de resistência sistêmica em plantas, com ênfase em acibenzolar-S-methyl.....	15
2.4. Alterações em plantas pela aplicação de indutores de resistência.....	18
2.4.1. Alterações da clorofila.....	20
2.5. Uso da Espectroscopia Fotoacústica na avaliação de alterações bioquímicas e fisiológicas em plantas .....	21
2.6. Método da separação de fases .....	24
3. TRABALHOS .....	26
3.1 - Controle alternativo das principais doenças fúngicas foliares do mamoeiro no campo.....	26
RESUMO .....	26
ABSTRACT.....	28
1. INTRODUÇÃO.....	29
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	31

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	34
4. CONCLUSÃO .....	39
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
3.2 - Espectroscopia fotoacústica aplicada na resposta de genótipos de mamoeiro a indutores de resistência.....	49
RESUMO .....	49
ABSTRACT .....	51
1. INTRODUÇÃO.....	52
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	54
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	55
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
5. CONCLUSÕES GERAIS.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Incidência de Pinta Preta em folhas e frutos, de mancha de phoma e de oídio em folhas, em diferentes genótipos de mamoeiros pulverizados quinzenalmente com fertilizantes foliares, indutor de resistência e fungicida sistêmico, em experimento conduzido em Linhares-ES, durante o período de março de 2012 a janeiro de 2013. As médias utilizadas referem-se somente às épocas nas quais se verificou diferenças estatísticas entre tratamentos fungicidas na análise de variância. ....	42
<b>Tabela 2</b> - Área abaixo da curva de progresso de pinta preta com base na severidade e incidência em folhas (AACPD1 e AACPD2), frutos com base na incidência (AACPD3); incidência de mancha de phoma em folhas (AACPD4) e severidade de pinta preta em frutos (SPPF); em diferentes genótipos de mamoeiro ('Golden'; 'Tainung' e 'Calimosa'), pulverizados quinzenalmente com fungicidas e produtos alternativos, em Linhares-ES, durante o período de março de 2012 a janeiro de 2013 .....	44
<b>Tabela 3</b> - Médias de área abaixo da curva de progresso com base na severidade e incidência de oídio (SO e IO); total de folhas e frutos (TF e TFRU) e Firmeza da casca de frutos em diferentes genótipos de mamoeiro, pulverizados quinzenalmente com fertilizantes foliares, indutores de resistência e fungicida sistêmico, em experimento conduzido em Linhares-ES, durante o período de março de 2012 a janeiro de 2013.....	48

## RESUMO

SANTOS, Pedro Henrique Dias dos .MSc, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2013. Produtos alternativos no controle de doenças fúngicas em folha e fruto de mamoeiro. Orientador: Prof. Silvaldo Felipe da Silveira.

Avaliou-se, em experimento de campo, o controle de doenças fúngicas foliares do mamoeiro, pela pulverização com produtos indutores de resistência e fungicidas alternativos, de baixa toxicidade. O experimento foi conduzido em lavoura comercial de Linhares, ES, de novembro de 2011 a janeiro de 2013, em DBC, envolvendo pulverizações quinzenais de: acibenzolar-S-metil (ASM), a 0,03g i.a/L; fertilizante foliar à base de 25% de cobre, a 1g/L p.c.(Bordasul); fertilizante foliar a base de extratos vegetais (Agromós), a 1,25 ml p.c./L; fungicida sistêmico azoxystrobin, a 0,16g/L p.c (Amistar<sup>®</sup>); e água (testemunha); em três genótipos de mamoeiro: Golden, Tainung e 'UENF/CALIMAN 01'. Quantificou-se a severidade e a incidência da pinta preta, da mancha de phoma e do oídio nas folhas e a incidência e a severidade da pinta preta nos frutos, bem como número total de folhas e frutos e tamanho, peso, firmeza e Brix dos frutos. ASM destacou-se no controle da pinta preta nas folhas e nos frutos, bem como no controle da mancha de phoma nas folhas, para os dois genótipos mais suscetíveis à doença (Golden e híbrido UENF/CALIMAN 01). Ainda, aumentou a firmeza da polpa dos frutos dos genótipos 'Golden' e 'Tainung'. Azoxystrobin foi igualmente eficiente a ASM na redução da incidência da pinta preta em folhas, independente do genótipo analisado. Agromós e Bordasul foram eficientes no controle de oídio,

para os genótipos 'Golden' e 'UENF/CALIMAN01'. Bordasul causou redução significativa no número de frutos de 'Golden'. Conclui-se que ASM, Bordasul e Agromós são promissores para o controle de doenças foliares na cultura do mamoeiro, com destaque a ASM para o controle da pinta preta. Avaliou-se, em casa de vegetação e laboratório, o emprego da Espectroscopia Fotoacústica (EF) na detecção de mudanças morfofisiológicas em folhas de mudas tratadas com acibenzolar-S-metil, em dois genótipos de mamoeiro: Golden, e Maradol,. Para ambos os genótipos, observou-se que o ASM não causou alterações morfológicas visíveis nas plantas ou nas folhas inicialmente. Também não se verificou alterações no perfil fotoacústico na faixa espectral das ceras (350 – 350 nm). Houve diferenciação na separação das fases do sinal fotoacústico para pigmentos (clorofila e carotenos) em comparação à testemunha, para ambas as doses de ASM. Estas alterações no perfil do sinal fotoacústico foram pronunciadas no genótipo susceptível (Golden). Tais alterações foram inexpressivas no genótipo 'Maradol', que também não apresentou alterações nos picos de sinais fotoacústicos, quer seja na faixa espectral de absorção da clorofila ou dos carotenos. Estas alterações seguem um mesmo padrão, mas divergem na intensidade entre genótipos de mamoeiro que diferem quanto a cor das folhas e quanto a resistência à doença, mesmo na ausência de sintomas visíveis de doença e de fitotoxicidade. Conclui-se que conforme a dose e a frequência das pulverizações de ASM, o efeito no metabolismo pode ser acumulativo e abreviar a senescência das folhas. Todavia, conforme dados do primeiro experimento conduzido no campo, na dose testada de 0,03g i.a/L de ASM, não se observou sintomas de fitotoxidez ou alterações na produção e na qualidade dos frutos, mesmo após um ano de aplicações quinzenais deste produto para os genótipos comerciais Golden, Tainung e o híbrido UENF/CALIMAN 01.

## ABSTRACT

SANTOS, Pedro Henrique Dias dos .MSc, Northern Rio de Janeiro State University Darcy Ribeiro. March, 2013. Alternative products in control of fungal diseases in papaya leaf and fruit. Advisor: Prof. Silvaldo Felipe da Silveira.

Was evaluated an experiment in field conditions, the control of papaya foliar diseases, by spraying with resistance inducers products and low toxicity alternative fungicide. The experiment was conducted in a commercial field of Linhares, ES, from November 2011 to January 2013 in RBD, involving fortnightly spraying: Acibenzolar-S-methyl (ASM), 0.03 g ai / L; foliar fertilizer based 25% copper, 1 g / L cp (Bordasul); foliar fertilizer to plant extracts (Agromós), cp to 1.25 ml / L; systemic fungicide azoxystrobin, 0.16 g / L cp (Amistar ®) , and water (control), in three papaya genotypes: Golden, Tainung and 'UENF / CALIMAN 01'. Was quantified the severity and incidence of black spot, phoma stain and powdery mildew on leaves and the incidence and severity of black spot in fruit as well as the total number of leaves and fruits, size, weight, firmness and Brix of the fruit. ASM stood out in the black spot control on leaves and fruits, as well as the control of phoma stain in leaves, for both genotypes more susceptible to disease (Golden and the hybrid UENF / CALIMAN 01). ASM increased fruit firmness in genotypes 'Golden' and 'Tainung'. Azoxystrobin was equally efficient as ASM in reducing the incidence of black spot in leaves, regardless of genotype analyzed. Agromós and Bordasul were effective in controlling powdery mildew, for genotypes 'Golden' and 'UENF/CALIMAN01'. Bordasul caused a significant reduction in the number of fruits of 'Golden'. We conclude that ASM, Bordasul and Agromós are promising for

disease control in papaya crop, highlighting the ASM for the control of black spot. Another experiment was evaluated in greenhouse and laboratory, the use of Photoacoustic Spectroscopy (PAS) in the detection of morphological and physiological changes in leaves of seedlings treated with Acibenzolar-S-methyl in two papaya genotypes: Golden and Maradol,. For both genotypes, it was observed that the ASM caused no visible morphological changes in plants or leaves initially. There was also no change in the photoacoustic spectral range profile of waxes (350-350 nm). There was difference in the phase separation of the photoacoustic signal for pigments (chlorophyll and carotenoids) compared to control, for both doses of ASM. These changes in the profile of the photoacoustic signal were pronounced in susceptible genotype (Golden). Such changes were negligible in the genotype 'Maradol', which also showed no changes in photoacoustic signal peaks, either in the spectral absorption of chlorophyll or carotene. These changes follow the same pattern, but differ in intensity between papaya genotypes that differ in the color of the leaves and the disease resistance, even in the absence of visible symptoms of disease and phytotoxicity. It is concluded that depending on the dose and frequency of spraying ASM, the effect can be cumulative metabolism and shorten the leaf senescence. However, according to the first experiment conducted in the field, in the tested dose of 0.03 g ai / L of ASM, there were no phytotoxicity symptoms or changes in the production and quality of fruit, even after a year of biweekly applications of this product for commercial genotypes Golden, Tainung and the hybrid UENF / CALIMAN 01.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), da família Caricaceae, é uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo pelas suas propriedades nutritivas, organolépticas, digestivas, farmacêuticas e medicinais (BATISTUZZO, 2002). O fruto maduro é ótima fonte de cálcio, pró-vitamina A e ácido ascórbico (vitamina C) e contém uma enzima proteolítica, a papaína, com excelentes propriedades digestivas, farmacêuticas e medicinais (BATISTUZZO, 2002). De suas folhas, frutos e sementes também pode ser extraído um alcaloide denominado carpaína, utilizado como ativador cardíaco (TRINDADE, 2000). O mamoeiro tem como centro de origem a América Tropical, situada entre o noroeste da América do Sul e o Sul do México. O Brasil é considerado maior produtor mundial desta fruta, com uma produção de 1 milhão e 896 mil toneladas em 36,5 mil hectares, no ano de 2008, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2010). Dados estes que representam 27% da produção mundial neste ano.

Atualmente, o Brasil é o maior exportador mundial de mamão, seguido pelo México. Porém, o Brasil exporta mais mamão do grupo 'Solo', enquanto o México produz mais do grupo 'Formosa'. O estado da Bahia é o maior produtor de mamão do país, com 863.828 toneladas em 2007, segundo dados do IBGE (IBGE, 2010). O Espírito Santo vem em seguida com uma produção de 646.273 toneladas no mesmo ano. No entanto, o estado é considerado o maior exportador brasileiro de mamão do grupo 'Solo'. Destacam-se como maiores produtores de

mamão do estado do Espírito Santo, os municípios de Pinheiros (62,7% do cultivo correspondente ao 'Formosa' e 37,3% ao Havaí) e Linhares (20,9% do cultivo correspondente ao 'Formosa' e 79,1% ao Havaí) (CEPEA, 2009).

Para que se obtenha uma produção satisfatória e aumento das exportações brasileiras, a cultura do mamoeiro necessita superar uma série de problemas, especialmente os de natureza fitossanitária. Atualmente, o cultivo extensivo e sedentário do mamoeiro, localizado e concentrado em algumas poucas regiões do Brasil, tem tornado a produção dependente do uso de agroquímicos, especialmente fungicidas. Pelo fato de ainda não existir variedades resistentes a doenças, em geral, a dependência com relação ao controle químico é ainda maior. Ataques constantes de doenças foliares, tais como a pinta preta, causada pelo fungo *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl., têm resultado em perda significativa de área fotossintética e danos quantitativos e qualitativos à produção nacional de frutos de mamão (BERGAMIN FILHO & KIMATI, 1997; CHIACCHIO, 1985).

No sistema de cultivo atual, a pulverização de fungicidas convencionais é um mal necessário para se garantir a produção de mamão, com reflexos negativos para a saúde humana, o ambiente e a comercialização (LIBERATO, 1999). Além disso, o mamoeiro é uma planta muito sensível a produtos químicos, especialmente fungicidas triazóis e em formulações oleosas, os mais utilizados no combate às doenças foliares causadas por fungos em muitas culturas agrícolas (LIBERATO, et. al 1999). Ainda, o mercado internacional, cada vez mais exigente, estabelece níveis de tolerância de resíduos de agroquímicos mínimos, com base em métodos analíticos modernos, de alta capacidade de detecção, similares àqueles utilizados nos exames antidoping do esporte. A recusa de cargas de frutas por presença de resíduos de agrotóxicos é, além de antieconômica, um marketing negativo à exportação de frutas tropicais brasileiras.

Essa crescente demanda mundial por insumos menos tóxicos reforça e justifica a busca por produtos alternativos visando o controle de doenças de plantas na agricultura. Dentre estes, os indutores de resistência, vêm se destacando por apresentarem eficiência no controle de doenças em várias culturas e por serem praticamente atóxicos e não deixarem resíduos danosos à saúde humana e ao ambiente (RESENDE et al., 2007).

Os indutores de resistência não atuam do mesmo modo que os agroquímicos convencionais, pois apresentam baixa toxicidade ao organismo alvo e ativam mecanismos de defesa latentes nas plantas (PASCHOLATI, 2003). Mesmo não possuindo sistema imunológico como os animais, sabe-se que as plantas apresentam diversas respostas de defesa contra estresses bióticos ou abióticos (PASCHOLATI, 2003). A resistência induzida (RI) pode ser ativada em plantas por uma série de substâncias (eliciadores), impedindo ou atrasando a entrada e subsequente atividade do patógeno em seus tecidos (RESENDE et al., 2007). Dentre os mecanismos de defesa vegetal acionados pela resistência induzida, podem ser citados: barreiras estruturais pós-formadas, aumento de síntese de fitoalexinas e acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese (PRP's), como a  $\beta$ -1,3-glucanase, que degradam paredes celulares de patógenos fúngicos, além de quitinases (HAMMERSCHMIDT, 1999).

Na década de 90, foi desenvolvido o éster S-metil do ácido benzo-(123)-tiadiazole-7-carbotióico (ASM), substância derivada do ácido acetilsalicílico (AAS) que atua como indutor de resistência em diversas espécies vegetais (FRIEDRICH et al., 1996; JAKAB et al., 2001; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1998). No Brasil, o ASM encontra-se registrado pela Syngenta como fungicida comercial (Bion<sup>®</sup>) para várias culturas agrícolas, especialmente tomateiro, cacauero e citros (Ryals et al., 1996; Silva & Resende, 2001). Desde a descoberta e o uso comercial do ASM, tem se observado um considerável avanço nas pesquisas com indução de resistência de plantas a diversos tipos de patógenos, incluindo-se bactérias, vírus e nematoides (Resende et al., 2007).

Pesquisas indicam relação de dependência do indutor de resistência com o genótipo da planta a ser testada (STEINER & SCHÖNBECK, 1995). De acordo com Liu et al. (1995), as rizobactérias *Pseudomonas. putida* e *Serratia marcescens* foram testadas como indutores de resistência em quatro variedades de pepino, sendo três suscetíveis e uma resistente. *P. putida* induziu resistência nas três cultivares suscetíveis, mas *S. marcescens* induziu apenas em duas, sendo que ambas não induzirão mais resistência na cultivar resistente. Ou seja, conclui-se que dependendo da espécie vegetal, a resposta à indução é genótipo-dependente. Para que ocorra a ativação dos mecanismos de defesa, é necessária a ação de genes pré-existentes ou o reconhecimento da ação do indutor por

genes específicos que se tornam ativados e aptos a desencadear rapidamente as respostas de defesa (CÔTÉ et al., 1995).

Algumas pesquisas realizadas com o ASM comprovam sua eficácia como indutor de resistência em mamoeiro, como no caso de Nascimento et al. (2009), que utilizaram o ASM para o controle da antracnose em frutos e folhas de mamoeiro e de Tavares (2009), que avaliou mecanismos de defesa ativados por ASM no controle da podridão do pé do mamoeiro. Para pinta preta do mamoeiro, o pioneirismo veio de estudos realizados por Terra (2009). O autor testou em diferentes genótipos de mamoeiro produtos alternativos, tais como fertilizantes foliares (Agro-mós e Fosfito) e ASM no controle da pinta preta em casa-de-vegetação. Concluiu que o ASM (Bion) foi o mais eficiente e controlou a doença de tal forma que mesmo folhas senescentes não apresentaram sintomas da doença, embora, alguns genótipos apresentaram discreto amarelecimento decorrente de possível efeito fitotóxico. Porém, não se observou interação entre os efeitos dos indutores e genótipos de mamoeiro quanto à intensidade da pinta preta em folhas de mudas (TERRA, 2009).

Dando continuidade aos trabalhos realizados por Terra (2009), Santos (2011) testando, em casa-de-vegetação, promissores indutores de resistência, concluiu que o ASM, a Calda Bordalesa e Bordasul controlaram a pinta preta em mudas de mamoeiro, reduzindo a incidência e a severidade da doença, especialmente nos genótipos mais suscetíveis.

Apesar de caldas à base de cobre, como a calda bordalesa, não serem considerados indutores de resistência, são bastante aceitos pela agricultura orgânica, havendo ainda a possibilidade de ocorrer efeito nutricional, pela presença do micronutriente cobre e outros, os quais podem ter efeito indireto na fisiologia da planta (Paulus, 2000).

Além disso, observou que houve efeito sinérgico de genótipo e indutor de resistência no controle da pinta preta para alguns dos genótipos mais resistentes pulverizados com ASM, como STZ 03 e UENF/Caliman 1.

Apesar dos trabalhos supracitados, existe a necessidade de serem avaliados diferentes genótipos e produtos alternativos, bem como de serem testadas doses não-fitotóxicas de fungicidas alternativos para o controle da pinta preta do mamoeiro em situação de campo. Com isso, dá-se continuidade à

pesquisa iniciada por Terra (2009) junto ao setor de Patologia Vegetal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF).

Diversas metodologias para estudar o comportamento de fungicidas e fertilizantes em folhas e frutos foram criadas, entre elas se encontram metodologias baseadas em técnicas espectroscópicas (Adams et al., 1976; Souza et al. 2009)

A espectroscopia fotoacústica (EF) é uma das técnicas fototérmicas mais utilizadas na ciência, se tornando amplamente conhecida a partir da década de 70 principalmente pelos trabalhos de Rosencwaig e Gersho (1976) em sólidos. As técnicas fototérmicas são largamente usadas nos estudos de espectroscopia óptica e de caracterização térmica de materiais nos diversos estados, especificamente em sólidos (MELO, 1992).

A PAS se baseia no efeito fotoacústico que surge quando a luz modulada incide sobre uma amostra dentro de uma câmara fechada e cheia de gás. A luz é absorvida pela amostra que se aquece periodicamente causando um fluxo periódico de calor dela para o gás, resultando em uma variação de pressão deste (MELO, et.al, 2009). Essa variação de pressão é detectada por um microfone dentro da câmara fotoacústica sendo proporcional aos coeficientes de absorção dos cromóforos que compõem a amostra. A grande vantagem da técnica PAS é ser não destrutiva e não requerer tratamento prévio da amostra. Assim, a PAS é uma forte candidata a auxiliar na elucidação da possível fitotoxidez em mamoeiro causado por ASM.

A fotoacústica é uma técnica experimental através da qual, torna-se possível a análise das propriedades térmicas de plantas (BARJA, 1998). Esta técnica consiste em medir o calor e o oxigênio liberados pela incidência de luz sobre a folha de uma planta. Tanto o calor, como o oxigênio, quando emitidos formam uma onda sonora, fazendo oscilar o diafragma do microfone. O processo fotossintético inicia com a absorção de energia proveniente da luz. A energia absorvida excita os elétrons das moléculas de clorofila que saem da estrutura, dando início à fase fotoquímica da fotossíntese. Nesta fase é gerado o oxigênio e o armazenamento de energia, no entanto, nem toda a energia absorvida é armazenada, parte dela se dissipa em forma de calor (PESSOA et al, 1986).

O estudo de Vinha (1988) foi o pioneiro na detecção de possíveis efeitos em folhas de plantas. O autor enfocou a monitoração de efeitos de herbicidas em

folhas, utilizando-se a espectroscopia fotoacústica na região do visível. No caso da aplicação foliar do herbicida Paraquat em soja, foram constatados efeitos como a perda d'água pela folha (plasmólise) e a destruição da clorofila e carotenoides, bem como estes efeitos foram cronologicamente determinados e quantificados pelo Método da Separação dos Espectros na Fase (MSf) (Pessoa Jr., 1985 ).

No presente trabalho objetivou o desenvolvimento de tecnologias que contribuam para o controle de doenças fúngicas foliares por intermédio da indução de resistência, reduzindo a dependência da cultura em relação à aplicação de agrotóxicos, avaliar a influência destes indutores na produção e frutificação, bem como se avaliou o uso da espectroscopia fotoacústica como ferramenta de análise das alterações morfofisiológicas em folhas de mudas de mamoeiro, pulverizadas quinzenalmente com duas doses de acibenzolar-S-methyl.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Principais doenças na cultura do mamoeiro

O mamoeiro (*Carica papaya* L.), possivelmente originário da América Central (Sul do México e Costa Rica), é uma das plantas tropicais de maior importância na produção nacional e mundial de fruteiras. Sendo a Bahia e o Espírito Santo, responsáveis por 88% da produção nacional, estimada em 1,9 milhões de toneladas em área colhida de 36,6 mil hectares (IBGE, 2010).

Dos problemas relacionados com a cultura do mamoeiro no Brasil, um dos mais importantes é a falta de alternativas de variedades e híbridos comerciais que atendam tanto o mercado interno quanto o externo (SILVA et al., 2007).

Para aumentar a produção e incrementar as exportações, mantendo posição de destaque no cenário internacional, a cultura necessita superar uma série de problemas, especialmente os de natureza fitossanitária. As doenças constituem o principal fator limitante do aumento da produtividade da expansão da cultura do mamoeiro. Além das doenças causadas por vírus, que vêm constituindo-se no principal problema da cultura, doenças fúngicas também merecem atenção de Fitopatologistas e Melhoristas por causarem enormes danos à cultura.

As viroses constituem o principal grupo de doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.), ocasionando grandes perdas na produção, podendo chegar a destruição total das plantações afetadas. Antes da prática do rouging de plantas

infectadas em pomares comerciais, a cultura do mamoeiro era condicionada a situação nômade. Hoje, o rouging sistemático viabiliza o controle econômico das viroses e a produção em áreas fixas no litoral capixaba e sul da Bahia, principais estados produtores que detêm mais de 88% da produção de mamão no Brasil (IBGE, 2010).

Além das viroses, doenças causadas por fungos ocorrem na cultura em diversas fases de desenvolvimento e em diferentes órgãos da planta. Singh (1990) relatou dezessete doenças em mamoeiro, da qual aproximadamente seis são as principais encontradas em muitas áreas produtoras de mamão. Nishijima (1999) listou um número ainda maior.

Dentre os fungos que causam tombamento em mudas, os agentes causais mais frequentes no Brasil são espécies de *Phytophthora palmivora*, *Pythium sp.* e *Rhizoctonia solani*. Na parte aérea e em pós-colheita, a antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc, está presente na maioria das áreas, infectando folha, pecíolos e frutos (Dickman et.al, 1983). Outras doenças importantes causadas por fungos em partes aéreas do mamoeiro incluem: mancha-de-corynespora, causada por *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei; oídios que afetam o fruto e outras partes da planta incluem *Oidium caricae*, Noack, *Sphaerotheca spp.* e *Leveillula taurica* (Lév.) Arnaud [*Oidiopsis taurica* (Lév.) Salmon], além de *Ovulariopsis papayae* Bijl (Morton, 1987). Além destas, podem ser citadas a pinta preta, causada por *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl., e a mancha de phoma, cujo agente causal é o fungo *Phoma caricae-papayae* (Tarr) Punith.

A alta incidência de doenças fúngicas foliares nesta cultura torna esta atividade produtiva dependente do controle químico. Muitos destes patógenos causam lesões que depreciam os frutos inviabilizando sua comercialização. O manejo dessas doenças em pós-colheita começa no campo, onde a infecção nos frutos normalmente ocorre após a floração, resultante da penetração do patógeno diretamente ou por aberturas naturais e/ou ferimentos ou ainda por danos mecânicos causados durante a colheita, transporte e armazenamento (Benato, 1999).

Dentre as doenças fúngicas que atacam a cultura do mamoeiro, a pinta preta tem sido grande responsável pelo aumento nas perdas, causando grandes prejuízos econômicos para produtores e exportadores de mamão.

A pinta preta é uma das doenças mais comumente observadas tanto em pomares comerciais quanto em plantios de fundo de quintal. Sendo uma doença fúngica bastante difundida, encontrada na Argentina, Austrália, Ilhas Bermudas, Brasil, Colômbia, Cuba, El Salvador, Flórida, Índia, Jamaica, Japão, Quênia, México, Peru, Porto Rico, Ilhas Salmão, África do Sul, Sri Lanka, Tanzânia, Venezuela e Zimbábue (SUZUKI et al., 2007). Os mesmos autores ainda relatam a ocorrência de pinta preta na África, na Austrália, na Oceania, América do Sul e Central, Sul e Sudeste da Ásia, E.U.A. e Canadá.

O desenvolvimento da planta, principalmente as mais novas, pode ser afetado quando a incidência da doença for alta (REZENDE & FRANCELLI, 1997). Nas folhas afetadas, aparecem manchas marrons de, no máximo, 4 mm de diâmetro, circundadas por um halo clorótico. A frutificação do fungo, pulverulenta e escura, ocorre na página inferior da folha, dando à mancha um aspecto cinzento a preto. Nos frutos, inicialmente, aparecem áreas circulares encharcadas, que evoluem para pústulas marrons e salientes, podendo atingir 5 mm de diâmetro. Estas lesões não atingem a polpa do fruto, causando apenas um endurecimento da casca na parte afetada. Porém, tais sintomas desvalorizam o produto para o comércio. (REZENDE & FRANCELLI, 1997).

O fungo *A. caricae* (Speg.) Maubl. é um hifomiceto que produz conídios uni ou bicelulares escuros, em esporodóquios formados por conidióforos curtos, escuros e densamente agrupados (ELLIS et al., 1972). Lesões secas, sem esporos assumem coloração cinza e parda, principalmente na face adaxial das folhas, circundadas por estreito halo amarelo (ELLIS et al., 1972). O fungo apresenta estroma subepidérmico com 60 x 200 µm de diâmetro e 60-80 µm de altura, produzindo conidióforos fasciculados, eretos e septados com 40-45 µm de comprimento. Os conídios são piriformes ou oblongos com dimensões de 10-24 x 8-10 µm, escuros, equinulados e bicelulares. Os conídios são disseminados pelo vento a longas distâncias. Respingos de chuva e água de orvalho também contribuem para a disseminação.

Estudos sobre a patogênese de *A. caricae* em mamoeiro são raros. Os únicos trabalhos neste sentido são muito antigos, datados de 1925 e 1939 (UPHOF, 1925; STEVENS 1939). Embora estudos epidemiológicos e de controle tenham sido realizados, pouco se sabe sobre o processo de infecção e a cronologia da germinação dos esporos nas folhas.

A infecção dá-se, comumente, na face inferior das folhas mais velhas. Nela o fungo desenvolve frutificações pulverulentas que formam manchas pequenas, geralmente menores do que 4 mm de diâmetro, circulares, ligeiramente angulosas de coloração escura (REZENDE & FRANCELLI, 1997). Correspondente à lesão, na face superior, formam-se lesões semelhantes de coloração pardo-clara envolvida por uma pequena depressão e halo amarelo. Nas áreas secas da folha, a lesão circular torna-se branca diferenciando-se assim das lesões de antracnose. Em época de chuvas e alta umidade, as lesões podem aparecer nas folhas jovens e nos frutos, (MANICA, 1982; LUNA, 1986).

Os primeiros sintomas nos frutos são verificados quando estes ainda estão verdes, na forma de manchas circulares, circundadas por um encharcamento, escuras e com pontos esbranquiçados no centro (REZENDE & FRANCELLI, 1997). O tamanho das manchas acompanha o desenvolvimento dos frutos, tornam-se então pretas, salientes, ásperas ao tato, porém limitando-se à camada superficial do fruto (SUZUKI et al., 2007).

A principal medida de controle da pinta preta mamoeiro atualmente é a pulverização com fungicidas. Normalmente o controle químico da pinta preta deve ser preventivo ou tão logo se observam os primeiros sintomas, geralmente por volta dos cinco primeiros meses após o plantio no campo. Vários fungicidas têm mostrado eficiência no controle da pinta preta, porém em condições climáticas altamente favoráveis à doença, principalmente com períodos de chuvas prolongados, esses produtos perdem eficiência. Os fungicidas do grupo dos triazóis e das estrobilurinas devem ser utilizados, pela maior eficiência observada em avaliações experimentais (MANICA et al., 2006).

Marin et al. (1995) indicaram o uso de diversos agrotóxicos para o controle de doenças do mamoeiro, dentre os quais, pode-se citar para o controle da varíola ou pinta preta, oxicloreto de cobre. Por se tratar de uma planta muito sensível, a grande maioria dos produtos utilizados para o controle de doenças e pragas do mamão pode causar fitotoxidez. Por isso Vieira et al (2003) analisaram a fitotoxicidade de fungicidas e inseticidas na cultura do mamoeiro em relação a altura da planta, número de folhas, número de flores e frutos; diâmetro do caule e queimaduras ou injúrias foliares. As medições e contagens foram feitas um dia antes das pulverizações, 15 e 30 dias após. Constatou-se que o Vertimec 18 CE, associado ao Reconil ou ao Tecto 450, ocasionou leves injúrias foliares, e que

Dithane PM, Reconil, Tecto 450, Carbox, Torque 500 SC, Dithane PM + Carbox, Dithane PM + Torque 500 SC, Dithane PM + Vertimec 18 CE, Reconil + Carbox, Reconil + Torque 500 SC, Tecto 450 + Carbox e, Tecto 450 + + Torque 500 SC não interferiram nos parâmetros de desenvolvimento e de produção estudados, bem como não causaram injúrias ou queimaduras nas folhas dos mamoeiros.

Marin et al. (1995) afirmaram que o Hostathion 400 ou Hostathion 400 BR, utilizado a 100 ml, causa severo desfolhamento em plantas de mamoeiro; o Carbox (240 ml), Dithane M-45 (200 g), Recop (50% - 250 g), Vertimec 18 CE (50 ml), Torque 500 SC (100 ml), praticamente, não foram tóxicos.

As medidas de controle recomendadas baseiam-se em práticas onerosas e algumas delas potencialmente agressivas ao meio ambiente com o uso de fungicidas. Uma alternativa para este problema é a busca de produtos alternativos que sejam menos agressivos ao meio ambiente e menos onerosos para os produtores e com menor carga residual.

Segundo Ventura (2003), foi formada uma equipe multidisciplinar em 2000 envolvendo instituições de pesquisa (Incaper e UnB), produtores e exportadores de mamão, com o objetivo comum de criar as normas específicas para a Produção Integrada de Mamão. Nesse sistema foi priorizado o monitoramento e o uso de métodos naturais, agronômicos, biológicos e biotecnológicos de controle de doenças, pragas e/ou plantas daninhas e a redução no uso de agrotóxicos sintéticos que causam impactos ambientais à saúde humana e sua aplicação só será realizada quando necessária. Porém, na situação atual a cultura encontra-se extremamente dependente do controle químico devido a crescentes epidemias de doenças foliares, notadamente da pinta preta do mamoeiro.

A busca por um controle eficiente e menos nocivo à saúde humana e ao meio ambiente é mais que necessária e fundamental para o fortalecimento da produção desta fruteira no país. A indução de resistência aparece como uma ferramenta promissora para elucidar esta questão.

## **2.2. O fenômeno da indução de resistência em plantas**

Atualmente, a sustentabilidade da atividade agrícola depende, em parte, do uso de métodos de controle alternativo de doenças e pragas. No caso das doenças, muitos trabalhos de pesquisa atuais enfocam o controle biológico e a indução de resistência (MORAES, 1992). No controle biológico, a ação de controle é direcionada ao patógeno, enquanto que na resistência induzida o efeito maior é sobre a planta hospedeira, modificando a sua relação com a praga ou o patógeno (MORAES, 1992).

As plantas possuem extensas estruturas aéreas e subterrâneas, as quais permitem que elas obtenham luz e nutrientes do ambiente, por outro as tornam particularmente vulneráveis a microrganismos invasores dos quais elas não podem escapar (LINDSAY et. al., 1993). A pressão evolutiva de agentes infecciosos fez com que as plantas desenvolvessem mecanismos efetivos para resistirem a doenças. A sobrevivência das plantas depende de uma combinação de respostas constitutivas e induzidas por patógenos, onde estão incluídas alterações estruturais da parede celular, produção de metabólitos antimicrobianos secundários e síntese de novas proteínas (LINDSAY et. al., 1993). Estes mecanismos de defesa e os processos que possibilitam a interação entre hospedeiros e patógenos levam à resistência condicionada por genes de resistência específicos e não específicos que parecem ter um efeito generalizado contra um amplo espectro de patógenos (MORAES, 1998).

Em condições naturais, as plantas se defendem do ataque de pragas e doenças por barreiras pré-formadas (constitutivas) ou induzidas, quer sejam físicas ou químicas (FERNANDES et.al, 2009). As defesas constitutivas são representadas por estruturas como ceras, cutícula, parede celular, tricomas e fibras vasculares, bem como substâncias químicas pré-formadas, como fenóis, alcaloides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, fitoalexinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas (RESENDE & MACHADO, 2000;

PASCHOLATI & LEITE, 1995; CAVALCANTI et al., 2005a). Porém, quando as barreiras ou defesas constitutivas são inefetivas, existem mecanismos de defesa produzidos ou ativados após a presença do patógeno. Estes mecanismos envolvem a formação de estruturas como papilas, halos, lignificação, camada de cortiça, tiloses e deposição de goma, além de compostos como fitoalexinas, espécies reativas de oxigênio e proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas-RP) (RESENDE & MACHADO, 2000; PASCHOLATI & LEITE, 1995; CAVALCANTI et al., 2005a; TAIZ & ZEIGER, 2006).

A ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos é denominada de resistência induzida (HAMMERSCHMIDT & DANN, 1997). As plantas ativam um conjunto de respostas de resistência após o reconhecimento de um patógeno ou pela aplicação exógena de indutores de resistência (GUZZO et al., 1999).

A indução de resistência a patógenos em plantas já é conhecida desde a primeira metade do século XX (CHESTER, 1933; GAÜMANN, 1946; MÜLLER and BÖRGER, 1940). O professor Joseph Kuc da Universidade de Lexington, Kentucky, EUA, foi quem em 1975 descreveu pela primeira vez a ativação das defesas de plantas de pepino após uma pré-infecção (KUC, 1976). Embora a ativação dos mecanismos de defesa das plantas seja conhecida há mais de 100 anos, ficando relegados pelos Fitopatologistas por muito tempo (CASTRO, 2003), hoje constitui um método potencial aliado no controle de doenças.

Acredita-se que no século XXI, o uso da resistência sistêmica induzida como um instrumento inteligente para o controle de doenças de plantas deverá ser uma prática cada vez mais utilizada. Isso se deve à grande necessidade de se minimizar as agressões ao meio ambiente e os danos à saúde decorrente do uso indiscriminado de agrotóxicos.

O mecanismo de indução de resistência ou amplificação da resposta de defesa em plantas é chamado de eliciação. As moléculas que induzem, ou amplificam, são chamadas de eliciadoras ou elicitores, podendo ser de origem protéica, lipídica ou polissacarídica (ANDERSON, 1988; SHENG & SHOWALTER, 1994; MANSFIELD et. al., 1997; LYON & NEWTON, 1999).

A resistência induzida pode ser caracterizada como uma resposta de defesa ao ataque de um determinado patógeno, produzido no local ou longe do

ponto de infecção (HEITEFUSS, 1982). Na resistência sistêmica, um “sinal” é translocado para outras partes da planta (ação sistêmica) e induz mecanismos de defesa à distância que limitam a colonização dos tecidos pelo patógeno, limitando a expansão das lesões. Dentre estes mecanismos citam-se o acúmulo de fitoalexinas (KOMBRINK & SOMSSICH, 1995).

A resistência sistêmica adquirida (SAR – *Systemic Acquired Resistance*) é uma das tantas respostas que podem ser observadas após inoculação das plantas por um patógeno. Ela pode ser iniciada, por exemplo, em resposta a necroses induzidas por patógenos que tornam a planta sistemicamente protegida contra infecções subsequentes causadas pelo mesmo patógeno ou por outros patógenos (MORAES, 1998).

Para ser considerado um ativador de SAR, no *stricto sensu*, um produto químico deve possuir três características: (i) o composto ou seus metabólitos não devem exibir atividade antimicrobiana direta; (ii) deve induzir resistência contra o mesmo espectro de patógenos que a SAR ativada biologicamente; (iii) deve induzir a expressão dos mesmos genes marcadores, conforme SAR ativada por patógenos.

Alguns fungicidas convencionais podem induzir respostas de defesa na planta hospedeira, atuando como indutores de resistência, como por exemplo, o triciclazole (fungicida triazol), que induz resistência em arroz contra brusone (Manandhar et al., 1998). Ademais, fungicidas inorgânicos, à base de Cu, Sn e outros micronutrientes, atuam como protetores, mas têm efeito tônico na fisiologia das plantas, pois a maioria atua como cofatores enzimáticos, estando envolvido na catalização de processos de biossíntese do metabolismo secundário em plantas (Marschner, 1986).

Dois eventos marcam o desenvolvimento da SAR: a produção de ácido salicílico e a ativação de um grupo de genes denominados genes SAR (METRAUX et.al, 1991).

Por estar envolvida diretamente com a expressão de genes específicos e não específicos, acredita-se que a indução de resistência pode ser dependente do genótipo da planta. Esse é um ponto tratado com ênfase por VAN LOON et al. (1998), após a formulação dos critérios por STEINER & SCHÖNBECK (1995). Realmente, de acordo com (LIU et al., 1995), as rizobactérias *P. putida* e *Serratia*

*marcescens* foram testadas como indutoras de resistência em quatro variedades de pepino, sendo três suscetíveis e uma resistente. *P. putida* induziu resistência nas três cultivares suscetíveis, mas *S. marcescens* em apenas duas, sendo que ambas não induziram mais resistência na cultivar resistente. Como todas colonizaram com eficiência o sistema radicular das cultivares em teste, uma colonização deficiente não explicaria os resultados. Em contraposição, um isolamento de *P. fluorescens* foi capaz de induzir resistência em plantas de rabanete inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *raphan* que variaram nas avaliações de suscetibilidade, de resistente a suscetível (LEEMAN et al., 1995).

Frutos de mamoeiro e outros órgãos vegetais tratados com o indutor ASM e o produto Agromos mobilizam recursos metabólicos utilizados nas respostas rápidas de defesa, mesmo antes da invasão por microrganismos ser estabelecida. O trabalho que comprova que a aplicação deliberada de indutores no início da fase pós-colheita retarda o processo de infecção, prolongando a vida dos frutos no armazenamento (FORBES-SMITH, 1999; DANTAS et al., 2004). Em estudos da podridão-negra do abacaxizeiro, causada pelo fungo *C. paradoxa*, Oliveira et al. (2009) destacaram o indutor Ecolife<sup>®</sup>, a base de extratos vegetais, reduzindo a severidade da doença e prolongando o aparecimento dos sintomas nos frutos.

### **2.3. Substâncias químicas indutoras de resistência sistêmica em plantas, com ênfase em acibenzolar-S-methyl**

Dentre os utilizados na SAR, o indutor abiótico acibenzolar-S-methyl, registrado no Brasil no ano de 2001 sob a marca comercial Bion<sup>®</sup> (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo-SP), tem se mostrado como um ativador de plantas que possui propriedades de elicitar respostas de resistência em plantas contra um amplo espectro de patógenos (CASTRO, 2003; DANTAS et al., 2004). Esse promissor ativador de defesa vegetal tem sido testado buscando verificar indução de resistência a fungos, bactérias, nematoides e até mesmo para insetos em diversas culturas.

Nojosa (2003) fez um levantamento nos trabalhos publicados nos anais do Congresso Brasileiro de Fitopatologia, verificando que entre os anos de 2000 e 2002 os trabalhos envolvendo a indução de resistência com produtos como o acibenzolar-S-methyl ester, aumentaram em cerca de 6,5 vezes.

Esse indutor tem sido avaliado para o controle de diversas doenças, inclusive para a mancha-bacteriana do tomateiro, com resultados experimentais promissores de ensaios em condições de casa-de-vegetação (SILVA et al., 2000; OBRADOVIC et al., 2005).

Foram avaliados os efeitos de indutores abióticos em cultivares de caupi inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* quanto à severidade, ao controle da doença e atividade enzimática em plantas das cultivares IPA-206 e BR-17 Gurguéia com cinco dias de idade foram pulverizadas com soluções aquosas de ASM (5,0 g do i.a./100 L de água), BABA (1,5 mM) e quitosana (2,0 mg/mL), no primeiro par de folhas e inoculadas, após sete dias da germinação, com 20 mL de uma suspensão de  $1 \times 10^6$  conídios/mL do isolado ISO-PE.

A avaliação da severidade da doença foi realizada aos 25 dias após a germinação, através de escala de notas e índice de doença. As atividades das enzimas b-1,3-glucanase, peroxidase e fenilalanina amônia liase foram determinadas em plantas submetidas aos tratamentos anteriores, coletadas aos cinco e 10 dias após a inoculação. Foi observada diferença significativa entre os indutores e a testemunha, nas duas cultivares testadas, aos cinco e 10 dias, destacando-se o indutor ASM, proporcionando um controle da doença de 68,90% e 71,59% nas cultivares BR-17 Gurguéia e IPA-206, respectivamente. O indutor ASM apresentou melhores resultados nas atividades de b-1,3-glucanase, peroxidase e PAL, destacando-se na cultivar IPA-206 nos dois períodos analisados. Os indutores BABA e quitosana diferiram da testemunha, na atividade de PAL e b-1,3-glucanase, nessa mesma cultivar, aos cinco dias após a inoculação (RODRIGUES et al., 2006).

Em trabalhos realizados por Franzener (2003) para verificar a atividade antifúngica e indução de resistência em trigo à *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*, Bion e extrato aquoso a 10% de *Artemisia camphorata* (cânfora) reduziram significativamente o número de lesões somente no intervalo de 72 horas, indicando a exigência de maior período de tempo para ativação dos mecanismos de defesa da planta.

Outro produto muito utilizado atualmente na indução de resistência em plantas é o indutor biótico Agro-Mos®, que é um mananoligossacarídeo fosforilado derivado da parede da levedura *Saccharomyces cerevisiae* 1026

(Hansen), Improcrop Brasil, Curitiba-PA, que tem demonstrado eficiência no controle de doenças (DANTAS et al., 2004).

Frutos de mamão tratados com acibenzolar-S-methyl (Bion) e Agromoss foram avaliados quanto à resistência a *Colletotrichum gloeosporioides*, através da determinação de atividades de enzimas envolvidas na síntese da lignina. As atividades da FAL e peroxidase diferiram estatisticamente da testemunha. Cortes histológicos evidenciaram a deposição da lignina na parede celular de células epidérmicas nos frutos dos tratamentos, comprovando a lignificação induzida pelos indutores de resistência (DANTAS et al., 2004).

Em aplicações quinzenais DANTAS et al., (2004) testaram indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. Para isso, foram realizadas quatro aplicações quinzenais durante a produção do mamão, seguindo-se de tratamentos pós-colheita com diferentes dosagens dos produtos. Os tratamentos com AM (Agromoss) e ASM (acibenzolar-S-methyl) foram eficientes no controle da antracnose, proporcionando reduções na incidência em torno de 70 %, com níveis mais elevados nos tratamentos pós-colheita. O controle da podridão de *Lasiodiplodia* foi mais eficiente nos tratamentos com ASM, constatando-se reduções médias de incidência de 50%, enquanto que para a podridão de *Fusarium* a redução da incidência em todos os tratamentos variou entre 23 a 51%. Nos tratamentos com ASM ocorreu menor aumento na incidência das doenças após a quarta aplicação, ao contrário dos tratamentos com AM, que reduziram a incidência das doenças na mesma situação. Aumentos na atividade da  $\beta$ -1,3-glucanase foram observados nos tratamentos com ASM e AM, que coincidiram com reduções na incidência da antracnose em mamão.

Ensaio preliminares realizados no Laboratório de Entomologia (LEF) e Fitopatologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF) evidenciam a superioridade do produto Bion (acibenzolar S-metil) em relação aos demais em situação de campo e de casa-de-vegetação (TERRA, 2009). Para a pós-colheita, Bion é apontado como um excelente indutor visando o controle da antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), reduzindo sua incidência em aproximadamente 70% (DANTAS et al., 2004).

Nos experimentos da UENF, concluiu-se que Bion foi o fungicida que mais reduziu a média de sintomas de folhas infectadas por *A. caricae* em diferentes genótipos (SANTOS, 2011), principalmente no controle da pinta preta

na cultura do mamoeiro, sendo importante a condução de pesquisas de campo, visando o registro do produto para a cultura.

#### **2.4. Alterações em plantas pela aplicação de indutores de resistência**

Os mecanismos de defesa das plantas contra fitopatógenos envolvem alterações bioquímicas que estão correlacionadas com mudanças na atividade de enzimas chave, como a peroxidase, polifenoloxidasas e  $\beta$ -1,3-glucanases, além de alterações fisiológicas como a síntese de proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas-RP) e clorofila (WALTERS et al. 2007; SCHWAN-ESTRADA, 2008).

O teor de proteínas no tecido vegetal desafiado com um patógeno ou tratado com eliciadores pode indicar ativação dos mecanismos de defesa. É de suma importância a verificação das enzimas chave na indução de resistência, porém deve-se considerar que aspectos fisiológicos também são alterados e a sinergia entre o metabolismo primário e secundário, assim como os compostos produzidos, agem de forma complexa na proteção da planta (SCHWAN-ESTRADA, 2008). Dessa forma, destaca-se a importância de estudos que demonstram o teor de proteínas solúveis nas plantas tratadas.

Entre as proteínas, há as relacionadas à patogênese (Proteínas-RP), as quais são induzidas nos tecidos vegetais em função da inoculação com patógenos/microrganismos, sistemicamente ou em parte destes, bem como pelo tratamento com agentes químicos (GUZZO, 2003).

A ativação da síntese protéica leva a uma fase de resistência da planta (LARCHER, 2000). Kuhn (2007) verificou redução no teor de proteínas em plantas de feijão quando tratadas com *Bacillus cereus*, tendência contrária ao tratamento com acibenzolar-S-metil, demonstrando a especificidade na resposta fisiológica do hospedeiro ao tratamento.

A enzima peroxidase (E.C. 1.11.1.7), assim como as suas isoformas participam de vários processos fisiológicos de grande importância, catalisando a oxidação e a eventual polimerização de álcool hidroxicinâmico em presença de peróxido de hidrogênio, originando lignina, resultando em um importante mecanismo físico de defesa vegetal (GASPAR et al., 1982). São classificadas

como proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas-RP), pertencentes à família PR-9 (VAN LOON & VAN STRIEN, 1999).

Mudanças na atividade destas enzimas têm sido correlacionadas à resposta de resistência ou suscetibilidade em diferentes patossistemas (BONATTI et al., 1994).

Com relação à biossíntese de lignina, o qual é um polímero complexo formado principalmente de unidades de fenilpropanoides, as peroxidases são responsáveis pela remoção de átomos de hidrogênio dos grupos álcoois hidroxicinâmicos, cujos radicais se polimerizam para formar a lignina. Esse polímero, juntamente com celulose e outros polissacarídeos que ocorrem na parede celular das plantas superiores, funciona como uma barreira física à penetração do patógeno (PASCHOLATI & LEITE, 1994).

Estas enzimas agrupam-se em um conjunto de enzimas responsáveis pela catálise da reação de oxidação de polifenóis originando quinonas altamente tóxicas aos microrganismos (PASCHOLATI & LEITE, 1995) e a insetos. Neste último, taninos na forma fenólica são oxidados a quinonas apresentando alta reatividade com as proteínas na dieta do inseto, impedindo que este possa digerir-las (TAIZ & ZEIGER, 2006).

As polifenoloxidasas geralmente se mantêm na forma inativa no interior da célula vegetal, são encontradas compartimentalizadas nos tilacoides dos cloroplastos, sendo liberadas e iniciando a oxidação dos compostos fenólicos somente quando necessário, ou seja, em uma situação anormal como quando ocorre o ataque de insetos ou patógenos (MOHAMMADI & KAZEMI, 2002).

As  $\beta$ -1,3-glucanases pertencem à família PR-2 e são agrupadas em três classes distintas, baseando-se nas sequências de aminoácidos de suas estruturas primárias. As glucanases de classe I são proteínas básicas e estão localizadas no vacúolo da célula vegetal, especialmente na epiderme das folhas inferiores e nas raízes de plantas saudáveis, enquanto que as classes II e III incluem as proteínas ácidas extracelulares (GUZZO, 2003).

As  $\beta$ -1,3-glucanases são responsáveis por hidrolisar polímeros de  $\beta$ -1,3-glucana, um composto que concomitantemente com a quitina são os principais componentes da parede celular fúngica (CORNELISSEN & MELCHERS, 1993).

Na indução de resistência, o aumento em atividade da  $\beta$ -1,3-glucanase está relacionado com a defesa da planta. Kuhn (2007) verificou aumento

significativo da enzima quando as plantas de feijão receberam tratamento com Acibenzolar-S-metil, e Stangarlin & Pascholati (2000) observaram aumento na produção de  $\beta$ -1,3-glucanase em plantas de feijão (cv. Carioca) quando infectadas por *Uromyces appendiculatus*.

#### **2.4.1. Alterações da clorofila**

A energia da luz solar, composta por fótons, os quais podem ser considerados como pequenos pacotes de energia, é absorvida pelos pigmentos ativos no processo de fotossíntese, encontrados nos cloroplastos (RICKLEFS, 2003). Entre esses pigmentos, as clorofilas "a" e "b" são as mais abundantes (TAIZ e ZEIGER, 2006). A clorofila "b" difere da "a" apenas pela substituição do grupo metila ligado ao anel II da porfirina desta última, pelo grupo formila (KERBAUY, 2004). Essas moléculas encontram-se em diferentes proporções nos fotossistemas, sendo que a clorofila a é mais abundante quando comparada a b (FERRI, 2004). A energia gerada pelo processo de fotossíntese pode, em dado momento, estar voltada para a produção de compostos do metabolismo secundário, como por exemplo, no caso de ataque de patógenos (LARCHER, 2000).

Em estudos anteriores Weidhase et al. (1987) demonstraram ao se destacar folhas de cevada, induzidas por Ácido Jasmônico (AJ) ou Metil Jasmonato (MeJa), que reduziram o teor de clorofila, bem como apresentaram redução da atividade da Rubisco, correlacionada com o aparecimento de pelo menos três novas classes de proteínas, que poderiam estar relacionadas à defesa celular.

Da mesma forma, Reinbothe et al. (1993), estudando padrões de proteínas em folhas de cevada induzidas por MeJa, observaram a formação de novas proteínas e por outro lado a redução no nível de proteína do plastídeo, ocasionando a redução das grandes e pequenas subunidades da Rubisco e da clorofila.

A indução de resistência por ASM pode se dar à custa de síntese de novas proteínas e da redução na disponibilidade de outras que podem estar relacionadas à fotossíntese, gerando, desta forma, um custo metabólico. Esse custo, não pode ser desconsiderado. Na maioria dos trabalhos com indução de

resistência, os autores não se preocuparam em avaliar a produtividade e muito menos o custo metabólico da indução de resistência. Kühn (2007) estudando a indução de resistência em feijoeiro em casa de vegetação por ASM, observou que a produtividade foi reduzida em função do custo metabólico e do redirecionamento de fotoassimilado.

## **2.5 Uso da Espectroscopia Fotoacústica na avaliação de alterações bioquímicas e fisiológicas em plantas**

A Espectroscopia Fotoacústica (EF) é uma técnica baseada no efeito do mesmo nome, descoberto por Alexander Graham Bell em 1880. A partir do início da década de 70 esta técnica ganhou um grande impulso, sendo hoje considerada como uma das principais técnicas de análise e caracterização de materiais (PARKER, 1973).

O efeito fotoacústico é obtido em uma célula que é constituída por um recipiente fechado, preenchido por um gás (em geral o ar), no qual existe uma janela de vidro que permite a entrada de luz. Um feixe de luz modulada atravessa a janela, atinge a amostra e por ela é absorvida. Por um processo de desexcitação não radiativo, a radiação absorvida é transformada em energia térmica.

Para a produção do sinal fotoacústico em uma amostra sólida, coexistem três mecanismos básicos: o da difusão térmica, o da expansão térmica e o da expansão termoelástica.

No primeiro processo, existe um fluxo térmico desde a amostra até o gás circundante, provocando neste uma variação da temperatura com a mesma frequência de modulação da luz incidente. No entanto, apenas uma fina camada de gás, nas vizinhanças da amostra, é que responde termicamente às flutuações de temperatura da amostra. Esta camada irá sofrer um processo cíclico de expansão/contração funcionando como um pistão vibratório sobre o resto da coluna de gás gerando, assim, o sinal fotoacústico. Este sinal é detectado por um microfone alojado em uma câmara conectada à célula fotoacústica (ROSENCWAIG e Gersho 1976).

No segundo processo, a vibração mecânica, devido a expansão e contração da própria amostra, se soma à vibração daquela fina camada de gás, atuando sobre o resto da coluna de gás como um pistão. Este modelo, proposto por McDonald e Wetsel (1978) é conhecido como modelo do pistão composto.

O terceiro mecanismo de geração do sinal é o da flexão termoelástica. Este fenômeno surge quando tem uma amostra presa em suas extremidades. A luz incidente sobre a amostra e gera um gradiente de temperatura dentro desta, perpendicular à sua face de maior dimensão. Devido a este gradiente, a expansão térmica será dependente da profundidade, flexionando a amostra. Esta flexão periódica faz com que a superfície da amostra produza o sinal fotoacústico (ROUSSET et al., 1983).

Essa técnica permite a obtenção de espectros de absorção ótica de sólidos, semisólidos, líquidos e gases permitindo, assim, a análise de amostras tanto opacamente opacas quanto transparentes. Ademais, luz espalhada pela amostra, que constitui um sério problema nas demais técnicas de espectroscopia ótica, não provoca nenhum problema relevante para a fotoacústica, uma vez que apenas luz absorvida pela amostra é convertida no sinal desejado.

Por outro lado, esta técnica, na maioria dos casos, não exige uma preparação rigorosa da amostra. Além disso, por ser uma técnica não destrutiva, permite o acompanhamento da mesma amostra quando submetida a diversos tratamentos químicos, térmicos, físicos, etc. Os espectros de absorção fotoacústica fornecem elementos importantes no estudo das bandas de energia de um dado elemento, uma vez que permite a atribuição das transições óticas envolvidas.

Empregando o método da separação do espectro na fase do sinal fotoacústico, pode-se caracterizar e distinguir dois (ou mais) centros absorvedores presentes em uma mesma matriz (CÉSAR et al., 1984).

Entre outras aplicações, a EF é empregada também na caracterização das propriedades térmicas da matéria, particularmente da medida de difusividade térmica (PESSOA et al. 1986), efusividade térmica (BALDERA-LOPEZ et al., 1995) e do tempo de relaxação não radiativo (ABRITTA et al., 1989).

A difusividade (bem como a efusividade) térmica é um parâmetro que dá uma medida de como o calor se propaga na amostra e tem um valor único para cada material. Daí sua importância. Na área de materiais biológicos esta técnica é bastante promissora, uma vez que possibilita o estudo *in vivo*, deixando intactas as amostras (ADAMS et al., 1976).

A espectroscopia fotoacústica é um método analítico muito usado para identificação de grupos químicos reativos em aplicações químicas e biológicas. A energia absorvida excita os elétrons das moléculas de clorofila que “saltam” para fora desta, dando início à fase fotoquímica da fotossíntese. Nesta fase é gerado o oxigênio e o armazenamento de energia. No entanto, nem toda a energia absorvida é armazenada, parte dela se dissipa em forma de calor.

A aplicação desta técnica em plantas já é conhecida e utilizada por pesquisadores, como Souza et al. (2009) que utilizaram o espectrômetro fotoacústico para quantificar etileno para avaliar a resposta dos frutos de mamoeiro ‘Golden’, em diferentes estádios de maturação, à aplicação do 1-metilciclopropeno.

A técnica fotoacústica consiste em um valioso método para a caracterização de vários tipos de materiais, oferecendo, em muitos casos, significativas vantagens sobre técnicas tradicionais (DELGADO et al., 1999). Têm sido utilizadas com sucesso no estudo de materiais biológicos como membranas, amostras ósseas ou estruturas de tecidos que são insolúveis ou sofrem alterações significativas quando solubilizadas, dificultando a obtenção de dados por técnicas convencionais. A técnica fotoacústica possibilita a análise destes tecidos biológicos intactos, constituindo assim uma importante ferramenta de pesquisa e diagnóstico.

A técnica fotoacústica começou a ser aplicada no estudo da fotossíntese por Adams (1976) ao obter o espectro fotoacústico de uma solução preparada a partir da clorofila extraída de folhas de espinafre. Rosencwaig (1978) mostrou ser possível obter o espectro fotoacústico de uma folha, colocando-a em uma célula fechada. Perondi e Miranda (1987) apresentam a Célula Fotoacústica Aberta (OPC). Poucos anos depois, a OPC foi introduzida no campo de estudo da fotossíntese. Essa nova ferramenta permitiu medidas em folhas intactas e fixadas ao corpo da planta – o chamado monitoramento *in situ* e *in vivo*. Muitos estudos têm sido feitos com a OPC, tais como o efeito de desidratação em folhas

(PEREIRA et al., 1992), medidas de indução fotossintética em híbridos de milho (SILVA et al., 1995) e determinação da energia armazenada (BARJA et al., 1998).

### 2.5.1 Método da separação de fases

Em amostras compostas por camadas com absorções distintas ou constituídas de materiais com propriedades ópticas diferentes, há um intervalo de tempo entre os dois sinais de cada contribuição devido à diferença nos correspondentes tempos de difusão térmica, produzindo uma diferença de fase  $\Delta\phi$  entre os mesmos. Portanto, se houver centros absorvedores diferentes ou duas camadas superpostas, existe uma fase  $\phi_B$  na qual o sinal da camada inferior é detectado, e que corresponde à média ponderada das fases de todos os pontos da camada inferior que contribuem para o sinal fotoacústico.

O Método Fotoacústico de Separação de Espectros na Fase analisa o perfil de profundidade de amostras com dois centros absorvedores ou com duas camadas, ou seja, separa os espectros de absorção de diferentes camadas, através da análise de qual é a fase dos sinais SA e SB de cada camada (César et al., 1984; Pessoa Jr., 1985).

A intensidade ( $S_f$ ) e a fase ( $\phi$ ) fotoacústicas são medidas através de dois sinais em quadratura  $S_0$  e  $S_{90}$  que, por convenção, estão nas fases  $0^\circ$  e  $90^\circ$ . É conveniente representar o sinal fotoacústico por meio de um vetor (Figura 1a).

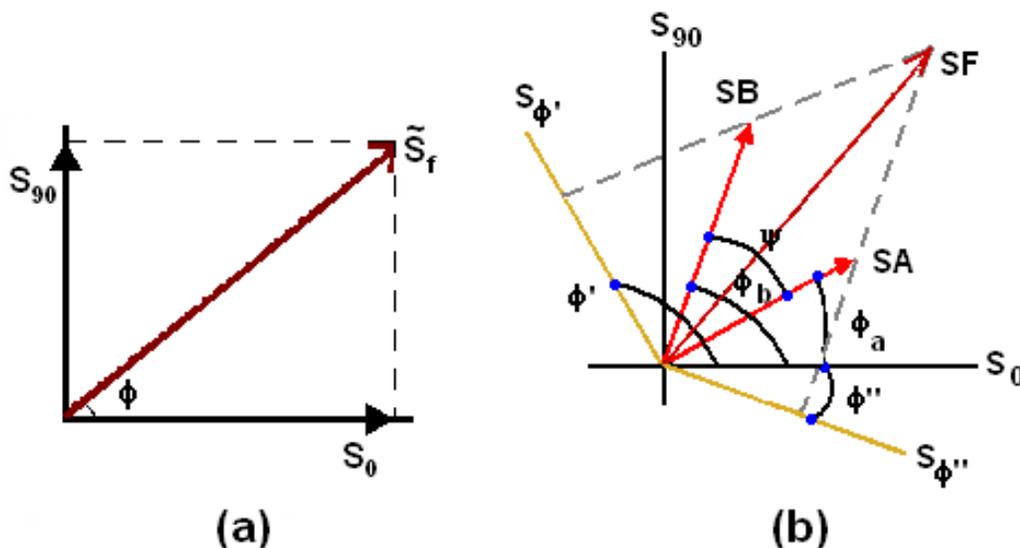


Figura 1 - (a) Vetor do sinal fotoacústico, (b) Composição do espectro em várias fases.

Então o sinal observado ( $S_f$ ) deve ser visto como resultante de dois fatores com ângulo  $\psi$  entre eles. Estes fatores têm comprimento  $S_A$  e  $S_B$  e correspondem aos sinais do centro absorvedor A e B, respectivamente.

O sinal composto  $\tilde{S}_f$  é a soma dos fasores das duas contribuições  $S_A$  e  $S_B$ , que estão defasados entre si em  $\psi = \phi_B - \phi_A$ .

Esta metodologia parte dos dois espectros em quadratura,  $S_0(\lambda)$  e  $S_{90}(\lambda)$  e efetua a composição de espectros para várias fases  $\phi$ , a partir da relação:  $S_\phi = S_0 \cos\phi + S_{90} \sin\phi$ .

Quando a camada A é minimizada no ângulo  $\phi'$ , ou seja, maximizada em  $\phi_A = \phi' \pm 90^\circ$ , o espectro da camada B é isolado a  $\phi'$ . Analogamente outras camadas, B, por exemplo, serão encontradas em  $\phi_B = \phi'' \pm 90^\circ$  e o espectro da camada A será isolado em  $\phi''$  (Figura 1b).

Assim, determinam-se as fases  $\phi_A$  e  $\phi_B$ , para picos de absorção das camadas A e B, respectivamente, que estão localizados em comprimentos de onda distintos. A representação gráfica geralmente é apresentada por meio de um diagrama fasorial (Lima et al., 1987).

Um dos objetivos principais do método de separação de espectros na fase é encontrar as fases dos sinais de cada contribuição e, portanto a diferença de fase  $\psi$  entre os dois sinais. (Pessoa Jr., 1985).

### **3. TRABALHOS**

#### **3.1 - Controle alternativo das principais doenças fúngicas foliares do mamoeiro no campo.**

##### **RESUMO**

Para o controle de doenças foliares fúngicas do mamoeiro, conduziu-se experimento em campo, no período de novembro/2011 a janeiro/2013, em delineamento DBC, com 6 tratamentos fungicidas, envolvendo pulverizações quinzenais de: acibenzolar-S-metil (ASM), a 0,03g i.a/L; fertilizante foliar à base de 25% de cobre e 10% de cálcio, a 1g/L p.c.(Bordasul); fertilizante foliar a base de extratos vegetais (Agromós), a 1,25 ml p.c./L; fungicida sistêmico triazol, a 0,16g/L p.c (azoxystrobin) e testemunha (água); em três genótipos de mamoeiro: Golden, Tainung e 'UENF/CALIMAN 01'. Foram quantificadas severidade e incidência de pinta preta, mancha de phoma e oídio nas folhas, de pinta preta nos frutos, bem como número total de folhas e frutos, tamanho, peso, firmeza e Brix nos frutos. ASM foi o melhor para redução da pinta preta nas folhas e nos frutos, além da mancha de phoma, independente do genótipo e, ainda, aumentou a firmeza da polpa dos frutos do genótipo 'Golden' e 'Tainung'. Azoxystrobin foi igualmente eficiente a ASM na redução da incidência de pinta preta em folhas independente do genótipo analisado. Agromós e Bordasul foram eficientes no

controle de oídio (*Streptopodium caricae*), para os genótipos 'Golden' e 'UENF/CALIMAN01' e Bordasul reduziu o número de frutos de 'Golden'. Não se observou diferença estatística em relação à testemunha entre tratamentos para °Brix. Conclui-se que ASM, Bordasul e Agromós são promissores para o controle de doenças foliares fúngicas na cultura do mamoeiro, com destaque a ASM para o controle da pinta preta, Todavia, o uso pode variar com o nível de resistência do material genético plantado.

Palavras-chave: *Asperisporium caricae*, *Carica papaya*, indução de resistência

## ABSTRACT

For the control of fungal papaya leaf diseases, was conducted a field experiment, from November/2011 to January/2013 in randomized block design, with 6 fungicide treatments involving spraying fortnightly of acibenzolar-S-methyl (ASM) , 0.03 g ai / L; foliar fertilizer based on 25% copper and 10% calcium, 1 g / L cp (Bordasul); foliar fertilizer of plant extracts (Agromós), 1.25 ml cp / L; systemic triazole fungicide, to 0.16 g / L cp (azoxystrobin) and control (water) in three genotypes of papaya: Golden, Tainung and 'UENF / CALIMAN 01'. It was quantified the severity and incidence of block spot, powdery mildew and phoma spot in leaves and black spot in fruit, as well as total number of leaves and fruits, size, weight, firmness and °Brix in fruits. ASM was best for reducing black spot on leaves and fruits, as well as phoma spot independent of genotype and increased firmness of the fruits to 'Golden' and 'Tainung' genotypes. Azoxystrobin was also the ASM efficient in reducing the incidence of black spot on leaves regardless of genotype. Agromós Bordasul were effective in controlling powdery mildew (*Streptopodium caricae*), for 'Golden' and 'UENF/CALIMAN01' genotypes, bordasul reduced the number of fruits of 'Golden'. There was no statistical difference compared to control treatments between ° Brix. We conclude that ASM, Bordasul and Agromós are promising for foliar control of diseases in papaya crop, especially the ASM for the control of black spot. However, the use may vary with the resistance level of planting material.

Keywords: *Carica papaya*, *Asperisporium caricae*, resistance inducers.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) se destaca como uma das fruteiras tropicais de grande importância no Brasil. Atualmente, o Brasil é o segundo maior produtor mundial, logo abaixo da Índia, e o terceiro maior exportador da fruta (Agrianual, 2011). O mamão é a sétima fruta “*in natura*” mais exportada no País, sendo cultivado em cerca de 30 mil hectares, que estão centralizados principalmente nos estados do Espírito Santo, Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte (Agrianual, 2011).

Para que se obtenha uma produção satisfatória e aumento das exportações brasileiras, a cultura do mamoeiro necessita superar uma série de problemas, especialmente os de natureza fitossanitária. Atualmente, o cultivo intensivo e sedentário do mamoeiro, tem tornado a produção dependente do uso de fungicidas (Liberato 1999).

As doenças constituem o principal fator limitante do aumento da produtividade e da expansão da cultura do mamoeiro no Brasil e no mundo. Além das viroses, que reduzem o stand, e pela prática do roguing, as doenças fúngicas foliares, pinta preta [*Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl.], mancha de phoma [*Stagonosporopsis caricae* (Sydow & P. Sydow) Aveskamp, Gruyter & Verkley, (Syn. *Phoma caricae-papayae*)], oídio [*Streptopodium caricae* Liberato & Barreto] e antracnose [*Colletotrichum magna* Jenkins & Winstead], têm sido responsáveis por um aumento considerável na aplicação de fungicidas, visando-se garantir a produção e a comercialização do mamão produzido no Brasil (Terra 2009).

Todavia, o mamoeiro é uma planta sensível a agroquímicos, como por exemplo, fungicidas triazóis e formulações oleosas (Liberato, et. al 1999).

A crescente demanda mundial por insumos menos tóxicos e alimentos livres de resíduos de pesticidas justifica a busca por fungicidas alternativos visando o controle de doenças de plantas na agricultura. Dentre estes, os indutores de resistência, vêm se destacando por apresentarem eficiência no controle de doenças em várias culturas e por serem praticamente atóxicos e não deixarem resíduos danosos à saúde humana e ao ambiente (Resende et al., 2007). Os indutores de resistência não atuam do mesmo modo que os agroquímicos convencionais, apresentam baixa toxicidade ao organismo alvo e ativam mecanismos de defesa latentes nas plantas contra agentes bióticos (Pascholati, 2003).

Apesar de caldas à base de cobre, como a calda bordalesa, não serem considerados indutores de resistência, são bastante aceitos pela agricultura orgânica, havendo ainda a possibilidade de ocorrer efeito nutricional, pela presença do micronutriente cobre e outros, os quais podem ter efeito indireto na fisiologia da planta (Paulus, et. al 2000).

Algumas pesquisas realizadas com o ASM comprovam sua eficácia como indutor de resistência em mamoeiro, como no caso de Nascimento et al. (2009), que sob condições controladas, comprovaram que ASM pode controlar antracnose em frutos e folhas e ainda reduzir a incidência da podridão-do-pé, causada por *Phytophthora* spp. (Tavares, 2009). Para a pinta preta do mamoeiro, o pioneirismo no uso de indutores veio com os trabalhos realizados por Terra (2009). O autor testou em diferentes genótipos de mamoeiro produtos alternativos, tais como fertilizantes foliares (Agromós e Fosfito) e ASM no controle da pinta preta em casa-de-vegetação. Concluiu que o ASM (Bion) controlou eficientemente a doença. As folhas senesceram sem apresentar sintomas da pinta preta, porém, a aplicação repetitiva causou amarelecimento decorrente de possível efeito fitotóxico em alguns genótipos.

Posteriormente, Santos (2011a), em casa de vegetação, comparou fungicidas alternativos e de baixa toxicidade, que atuem como prováveis indutores de resistência, fertilizantes foliares, além de caldas cúpricas, no controle da pinta preta em seis genótipos-elite de mamoeiro, em casa-de-vegetação, também comprovou a eficácia desses produtos no controle da doença, onde apontou o

ASM como o indutor mais eficiente no controle de *A. caricae*, além de observar a interação do ASM e caldas cúpricas com os genótipos testados. Todavia, o efeito de indutores em condições de campo ainda não foi avaliado, onde existem interações e forte influência de fatores ambientais.

Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de produtos alternativos no controle da pinta preta (*A. caricae*) e de outras doenças como mancha de phoma (*Stagonosporopsis caricae*) e oídio (*Streptopodium caricae*), em condições de campo. Complementarmente, avaliou-se a produtividade de frutos e sua qualidade em pós-colheita.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi implantado no ano de 2011, na empresa Caliman Agrícola S/A, em Linhares, ES, com delineamento em blocos casualizados e esquema fatorial 5x3. Testaram três produtos alternativos de controle com base em estudos prévios de controle de doenças foliares de mamoeiro, (ex: indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) (Bion®, Syngenta), fertilizante foliar à base de cobre (Bordasul®, RCN agro), fertilizante foliar (Agromós®, Improcrop), em três genótipos comerciais ('Golden', 'Tainung' e 'UENF/CALIMAN01').

Além dos produtos alternativos, outros dois tratamentos compuseram o experimento: a testemunha, pulverizada com água, e outro, constituído de controle químico convencional praticado pela empresa Caliman Agrícola, composto pelo fungicida Amistar WG do grupo das estrobilurinas.

As parcelas foram constituídas de fileiras simples, alternadas com fileiras de bordadura (as quais foram conduzidas com o tratamento preventivo convencional da empresa) e as centrais constituindo os blocos. No comprimento, as parcelas constituíram-se de treze plantas, as quais receberam a pulverização dos produtos (sendo as sete plantas centrais, da linha central, a parcela útil). Controlou-se a direção da pulverização com o objetivo de evitar a deriva entre parcelas vizinhas. Nas pulverizações foi utilizado um pulverizador costal motorizado com bico cone-cheio número 3 (Figura 1).

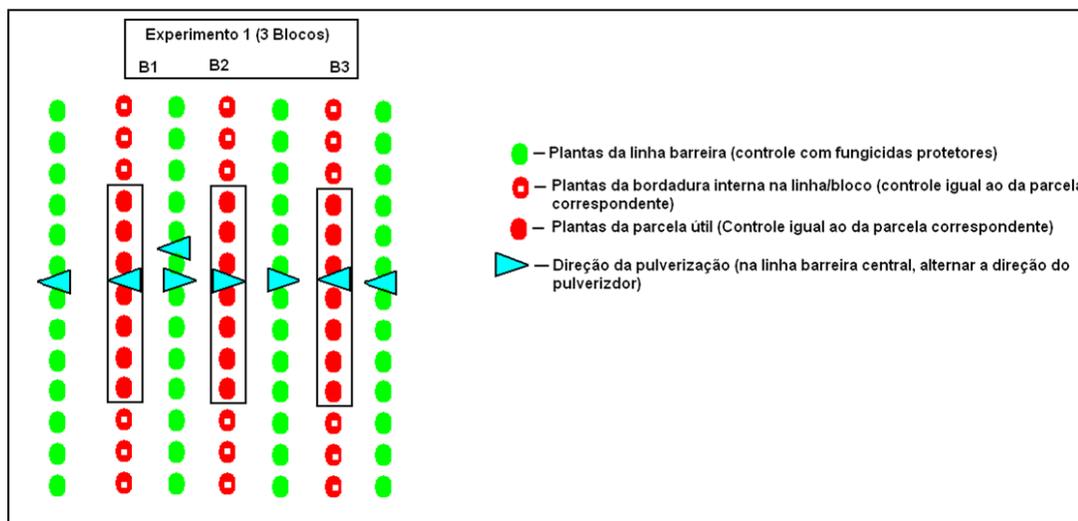


Figura 2 - Modelo esquemático da parcela experimental do experimento

O transplante das mudas ocorreu em novembro de 2011, e o experimento foi conduzido conforme rotina da empresa até a floração, em torno de 90 dias. Após este período, iniciaram-se as aplicações dos produtos a intervalos quinzenais e o experimento foi conduzido até janeiro de 2013.

Os produtos e respectivas doses testadas foram: acibenzolar-S-metil (ASM) (Bion®, Syngenta), a 0,03g i.a/L; fertilizante foliar à base de cobre 25% e cálcio 10% (Bordasul®, RCN agro), a 1g/L p.c. e fertilizante foliar (Agromós®, Improcrop), a 1,25 ml p.c./L. Os produtos foram diluídos em água. Na testemunha, a pulverização foi feita apenas com água, conforme supracitado, e a parcela desse tratamento recebia a primeira pulverização para evitar a presença de resíduos dos demais tratamentos.

As variáveis consideradas para realização das análises estatísticas referentes às avaliações em campo foram: Severidade de pinta preta – SPP; Incidência de pinta preta – IPP; Severidade de mancha de phoma – SMP; Incidência de mancha de phoma – IMP; Severidade de oídio – SO; Incidência de oídio – IO; Total de folhas – TF; Total de frutos – TFRU; Incidência de pinta preta no fruto – IPPF e Severidade de pinta preta no fruto – SPPF). Efetuou-se a análise gráfica das variações temporais de intensidade das doenças. Os gráficos foram plotados no programa Origin 8.0. Para comparação estatística do efeito acumulado das doenças no tempo, calcularam as áreas abaixo das curvas de progresso das doenças (AACPD) (Campbell & Madden, 1990) para cada

repetição e os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste Tukey a 5% de probabilidade.

Para a avaliação da severidade das doenças, foram desenvolvidas e validadas escalas diagramáticas para os diferentes patossistemas que consideraram o percentual de área foliar sadia e lesionada como parâmetros quantitativos para análise estatística, conforme metodologia citada por Santos et al. (2011b) para oídio e Vivas et al (2010) para pinta preta em frutos.

Quanto à produção, avaliou-se o número, peso médio dos frutos e a qualidade dos frutos em pós-colheita (firmeza da casca e brix).

Para a firmeza da casca dos frutos, utilizou-se texturômetro TA.XTplus (Stable Micro Systems®). Esse equipamento, com o auxílio de um “software”, fornece diretamente a firmeza (N). Foi utilizada probe do tipo (Needle Probe – nº P/2N) para esta análise. O texturômetro foi programado de acordo com a metodologia sugerida por Asmar et al. (2010). As leituras foram realizadas em 3 locais equidistantes das amostras dos frutos colhidos da mesma parcela. O atributo de textura determinado foi firmeza.

Avaliou-se o °Brix dos frutos colhidos aleatoriamente nas parcelas experimentais, no estágio de maturação 3, retirando três amostras da polpa interna por fruto, retiradas as sementes e macerado em um cadinho de alumínio.

A determinação dos sólidos totais foi feita por refratometria, utilizando-se de refratômetro de mão (ATAGO modelo N-1α, com leitura na faixa de 0 a 95°Brix) e os resultados foram expressos em °Brix. Também foi observado o formato e as dimensões de cada fruto com o uso de régua milimetrada para determinação de comprimento e largura e paquímetro para determinação do diâmetro.

## **2.1 Análises Estatísticas**

Realizou-se análise de variância (ANOVA) das variáveis de intensidade de doença para cada época, considerando-se a significância da interação época x genótipo, bem como da AACPD para cada variável de doença, além dos dados de produção (número de frutos, peso, tamanho, °Brix e firmeza da casca). As comparações entre médias foram pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram efetuadas no programa SAEG-DOS (Euclides, 1983).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A epidemia de pinta preta em folhas foi mais intensa em março e alguns dos produtos testados reduziram o progresso dessa doença a partir de julho (Figura 3), mesmo com as condições climáticas não estando favoráveis à ocorrência de doenças foliares, por falta de chuvas. Estes resultados são corroborados pelo trabalho de Suzuki et al. (2007). Estes autores avaliaram o progresso da pinta preta do mamoeiro na região de Linhares-ES, e relataram a maior ocorrência da doença nos meses de novembro a março. Para a época de maior ocorrência da pinta preta, ASM foi mais eficiente na redução da doença, com médias de severidade e incidência inferiores estatisticamente à testemunha, (Tabela 1).

Em frutos, a época de maior ocorrência de *A. caricae* foi em novembro (Figura 6), conforme relatado por Suzuki et al. (2007). O progresso da doença não seguiu os padrões do trabalho supracitado pela falta de chuvas nesse período, fazendo com que a doença não se estabelecesse de forma mais severa em frutos. O ASM controlou a doença nos frutos, diferindo da testemunha, porém não houve diferença significativa em relação aos demais (Tabela 1).

Em se tratando de mancha de phoma, a doença ocorreu durante todo o ano com ocorrência maior nos meses de setembro a novembro (Figura 4), diferindo do observado por Vivas (2012), que apontou essa época como a menos favorável à ocorrência desta doença na região no ano de 2009. A diferença nas observações dos autores pode ser explicada pelo clima atípico, com poucas chuvas e baixa umidade durante as avaliações neste experimento. Enquanto que no ano de 2009 a umidade foi mais favorável à ocorrência da doença, o ano em que este trabalho foi avaliado observou-se grande estiagem e falta de chuvas. Dentre os genótipos testados, somente observou-se controle da doença pelos produtos no progresso da doença em 'Golden' (Figura 4). O ASM controlou a mancha de phoma no genótipo 'Golden', diferindo da testemunha durante a época de maior favorabilidade para ocorrer a infecção (Tabela 1), porém não diferiu dos outros tratamentos testados. Os produtos testados para os genótipos 'Tainung' e 'UENF/CALIMAN01' não diferiram da testemunha durante a mesma época de avaliação, quanto à severidade e incidência da doença (Tabela 1).

A ocorrência de *S. caricae* se deu ao longo de todo o ano de 2012, sendo mais severa de agosto a outubro, quando a curva de progresso da doença inicia redução dos valores avaliados, até não ser mais detectada nas avaliações feitas a partir de janeiro de 2013 (Figura 5). A temperatura foi o fator limitante para essa queda na intensidade do oídio. Suzuki et. al (2007) relataram que a faixa de temperatura com maiores correlações positivas com a severidade da doença está nos períodos com temperaturas médias diárias entre 15 a 20°C e com umidade relativa média diária de 60 a 70%, dados climáticos que não ocorreram durante as avaliações deste experimento. Ainda foi observado na comparação deste trabalho com o citado anteriormente que em ambos os trabalhos apesar da ocorrência de sintomas severos, seguidos de amarelecimento foliar intenso, não se observou desfolha nas plantas avaliadas.

Pela análise gráfica, Agromós e Bordasul reduziram aparentemente a incidência e a severidade do oídio nas folhas do genótipo 'Golden' durante as épocas avaliadas e durante a época de maior ocorrência da doença, em setembro de 2012 (Figura 5). Porém, as médias de incidência e severidade apresentadas por plantas alocadas no grupo dos tratamentos, não diferiram estatisticamente da testemunha. Contudo, mesmo sem diferença estatística a média dos produtos destacados foi mais baixa do que na testemunha e de azoxystrobin, sendo estas médias alocadas em um grupo estatístico diferente (Tabela 1). O indutor ASM contribuiu para o aumento da SEV ou INC de oídio para este genótipo.

Dentre os produtos testados em 'Tainung' o aumento do progresso da doença nas folhas foi verificado para o fungicida Bordasul (Figura 5) (Tabela 1). Este fato sugere que existe um provável efeito sinérgico de genótipo e aplicações dos produtos, corroborando com o trabalho de Santos (2011a). O último autor relatou o efeito sinérgico de indutores de resistência e genótipos no controle da pinta preta em casa de vegetação.

O fungicida azoxystrobin reduziu as médias de progresso de doença no híbrido 'UENF/CALIMA01' (Figura 5), mas não diferiu dos outros tratamentos, incluindo a testemunha, quanto à severidade de oídio nas folhas (Tabela 1). Novamente como o observado para 'Golden', ASM apresentou maiores médias de severidade.

O número de frutos por planta aumentou com o crescimento das plantas ao longo do ano, mas reduziu em janeiro (Figura 6), pelo fato destes frutos terem demorado a entrar no ponto de avaliação.

Agromós reduziu significativamente o número de frutos (Tabela 3) quando comparado a bordasul, o qual apresentou resultados contrários. Como aspectos nutricionais e do solo não foram avaliados neste experimento, bem como o controle discreto das doenças estudadas não explica as variações encontradas para bordasul e agromós quanto ao número de frutos produzidos por planta.

Santos (2011a) observou o mesmo avaliando estas mesmas variáveis para pinta preta em casa de vegetação. Para estas variáveis o ASM não diferiu do Azoxystrobin.

Tavares (2009) avaliando a indução de resistência de mamoeiro a podridão peduncular, também destacou o ASM como o que conferiu a resistência induzida nas plantas, além de promover aumento na atividade das enzimas beta-1,3-glucanase e peroxidase, relacionadas à patogênese e ao acúmulo de lignina em raízes de plântulas.

Azoxystrobin reduziu as médias de incidência de pinta preta (Tabela 2), o que já é observado em sistemas de produção, porém, a dose utilizada está mais alta do que a recomendada para a cultura, sugerindo assim uma possível resistência do fungo ao produto, provocada por uma exposição contínua.

Observou-se que em 'Golden' para a severidade e incidência de *S. caricae*, o fungicida Bordasul controlou a infecção. O fertilizante foliar Agromós também se mostrou eficaz no controle da severidade da doença (Tabela 3). ASM causou incremento para severidade em 'Golden' e 'UENF/CALIMAN01'. Este fato pode sugerir que para *S. caricae* o ASM atue como antagônico a resistência destes genótipos, principalmente o genótipo 'Golden' que é apontado por Vivas et al. (2012) quando testaram a capacidade combinatória de genótipos de mamoeiro para resistência à este patógeno.

Para 'UENF/CALIMAN01', o tratamento com o fungicida Bordasul foi estatisticamente diferente da testemunha e do indutor ASM, controlando a incidência de sintomas provocados por *S. caricae*, porém não se observou o mesmo para a severidade onde não houve diferença significativa dos tratamentos em relação à testemunha (Tabela 3).

Diferente do ocorrido com os genótipos 'Golden' e 'UENF/CALIMAN01', o fungicida Bordasul não controlou a infecção por *S. caricae* para 'Tainung', causando o mesmo efeito antagônico descrito anteriormente para ASM. O indutor ASM e o fungicida Azoxystrobin reduziram as médias de severidade, porém não diferiram da testemunha nem do fertilizante Agromós (Tabela 3). Este dado mostra como a interação genótipo x indutor atua, evidenciando que para o controle dessas doenças um tratamento com um produto pode ser eficiente para um genótipo e prejudicial para outro, tornando o estudo da interação de genótipos e indutores de resistência essencial para elucidar essas lacunas a respeito deste assunto. Não se constatou diferença significativa entre os tratamentos em relação à testemunha no controle da incidência de oídio (Tabela 3).

O número total de folhas nos genótipos 'Golden' e 'Tainung' não apresentou alterações significativas com os tratamentos, porém o genótipo 'UENF/CALIMAN01' apresentou uma diferença de médias para ASM, que reduziu o número de folhas da planta (Tabela 3). Santos (2011a) também relatou a diminuição do número de folhas em experimento em casa de vegetação. Este fato pode estar atrelado a uma fitotoxidez devido à dose utilizada.

Não se detectou diferenças estatísticas dos tratamentos em relação à testemunha para a quantidade de frutos nos genótipos 'UENF/CALIMAN01' e 'Tainung' (Tabela 3). Resultados diferentes foram encontrados quando o genótipo analisado foi 'Golden', onde se observou que as parcelas tratadas com o fungicida Bordasul produziram, em média, mais frutos do que as tratadas com Agromós que apresentou as menores médias, porém estes dados não diferiram dos outros tratamentos nem da testemunha (Tabela 3). É importante ressaltar que mesmo utilizando doses menores do que a recomendada para estes dois produtos, eles também atuam como fertilizantes foliares devido à sua composição e, portanto este fato é determinante para estes resultados.

A firmeza da casca dos frutos foi reduzida no genótipo 'Golden' pelos fungicidas Bordasul e Azoxystrobin, que diferiram estatisticamente do indutor ASM, onde os frutos tratados com este indutor tiveram uma firmeza de casca maior quando comparados a estes tratamentos, porém não diferiu da testemunha nem de Agromós (Tabela 3). Jacomino et al. (2007), verificaram a redução da

firmeza da polpa dos mamões 'Golden', após a colheita, mesmo sob refrigeração, pela aplicação de 1-metilciclopropeno (1-MCP) e pelo intervalo entre a colheita e o tratamento. O mesmo ocorreu no genótipo 'Tainung' onde as parcelas tratadas com ASM produziram frutos com casca mais firme, porém este tratamento não diferiu do fungicida Azoxystrobin (Tabela 3). Bordasul e Agromós foram estatisticamente diferentes do ASM, onde se observou a redução da firmeza dos frutos, porém estes produtos não diferiram da testemunha (Tabela 3).

Para características dos frutos como peso; altura; largura e °Brix, não se verificou diferenças significativas entre tratamentos na análise de variância.

O efeito comprovado nesse trabalho sobre o controle de doenças de plantas com uso de indutores de resistência como o ASM, sobre a pinta preta e mancha de phoma nos genótipos, Agromós e Bordasul no controle de oídio nos genótipos 'Golden' e 'UENF/CALIMAN01', justifica a inclusão de produtos alternativos e indutores de resistência no controle integrado de doenças foliares no mamoeiro.

#### 4. CONCLUSÃO

A redução do número de folhas dos genótipos 'UENF/CALIMAN01' por ASM, não interferiu na produção de frutos.

O ASM pode ser indicado no controle da pinta preta do mamoeiro, independente do genótipo. Para o controle da mancha de phoma ASM pode ser indicado para o genótipo 'UENF/CALIMAN01'.

O fungicida Azoxystrobin controlou a mancha de phoma para 'Golden' e 'Tainung', não diferindo do ASM.

O controle de *S. caricae* dos produtos testados variou com o genótipo, onde para os genótipos 'Golden' e 'UENF/CALIMAN01' o produto mais indicado no controle foi o fungicida Bordasul. As aplicações de ASM resultaram em maior firmeza da casca dos frutos de 'Golden' e 'Tainung'.

Não houve interferência dos produtos utilizados na produção de frutos e na quantidade de sólidos solúveis totais (°Brix) neste estudo.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrianual 2011: *Anuário da agricultura brasileira*: Mamão. São Paulo: FNP, 2011. p. 325-332.
- Asmar, S.A.; Abreu, C.M.P.; Lima, R.A.Z.; Corrêa, A.D.; Santos, C.D. (2010) Firmeza de mamão tratado com 1-MCP em diferentes tempos de exposição. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 34 (2): 440-444.
- Campbell, C.L.; Madden, L.V. (1990) Introduction to plant disease epidemiology. New York: J. Wiley, cap.6, p.113-118.
- Euclides, R. F. (1983) Sistema para Análise Estatísticas e Genéticas (SAEG) - Manual provisório. CPD/UFV, Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento, Viçosa, MG, 74p.
- Jacomino, A.P.; Trevisan, M.J.; Arruda, M.C. de; Kluge, R.A. (2007) Influência do intervalo entre a colheita e a aplicação do 1-metilciclopropeno no controle do amadurecimento de mamão. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 29 (3).
- Liberato, J. R. ; Tatagiba, J. S. ; Zambolim, L. ; Costa, H. (1999). Fitotoxicidade de Fungicidas Triazois ao Mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 24 (2): 112-113.
- Nascimento, R.J. (2009) *Caracterização de espécies de Colletotrichum associadas às podridões em frutos de mamoeiro* Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Agronomia, Recife 89 p.
- Oliveira EJ, Lima DS, Lucena RS, Motta TBN, Dantas JLL (2010) Correlações genéticas e análise de trilha para número de frutos comerciais por planta em mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45:855–862
- Pascholat, S. F. (2003) Indução de resistência: opção para o controle de doenças de plantas no século XXI, *Summa Phytopathologica*, 29 (1): 115-116.
- Paulus, G., Muller, A. M., Barcellos, L. A. R. (2000) Agroecologia aplicada: práticas e métodos para uma agricultura de base ecológica. *EMATER*, Porto Alegre, p. 86.
- Resende, M. L. V.; Cavalcanti, F. R.; Santos, F.S.; Amaral, D. R.; Ribeiro Júnior, Pedro Martins; Costa, J. C. B.; Camilo, F.R.; Ishida, A. K. N.; Souza, R. M. (2007). Novos indutores de resistência contra doenças em cafeeiro, cacauzeiro, algodoeiro e tomateiro: perspectivas de utilização. In: Universidade Federal de Viçosa. (Org.). Indução de Resistência em Plantas

a Patógenos (Capítulo 8). Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 1: 161-182.

- Santos, P.H.D. (2011a) *Avaliação de produtos alternativos no controle da pinta preta em genótipos de mamoeiro* Monografia (Graduação em Agronomia) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF, 36p.
- Santos, P.H.D., Vivas, M., Silveira, S.F., Silva, J.M., Terra, C.E.P.S. (2011b) Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade de oídio em folhas de mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 37 (4):215-217.
- Suzuki, M. S., Zambolim, L., Liberato, J. R. (2007) Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 33 (2):167-177.
- Tavares, G. M. (2009) *Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos de cultivo, controle alternativo com indutores de resistência e Trichoderma e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos*. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Recife – PE, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 121p.
- Terra, C. E. P. S. (2009a) *Avaliação de genótipos e indutores de resistência no controle da pinta preta do mamoeiro*. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF, 71p.
- Vivas, M., Terra, C.E.P.S., Silveira, S.F., Fontes, R.V., Pereira, M.G. (2010b) Escala diagramática para avaliação da severidade de pinta preta em frutos de mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, 36:161-163.
- Vivas, M.; Silveira, S.F.; Cardoso, D.L.; Pereira, M.G.; Vivas, J.M.S.; Ferregueti, G.A. (2012) Capacidade combinatória em mamoeiro para resistência à oídio. *Bragantia*, 71 (4): 455-459.
- Vivas, M. (2012) Melhoramento genético do mamoeiro visando resistência à pinta preta, mancha-de-phoma e oídio. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas.) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF, 135p.

Tabela 1 - Incidência de Pinta Preta em folhas e frutos, de mancha de phoma e de oídio em folhas, em diferentes genótipos de mamoeiros pulverizados quinzenalmente com fertilizantes foliares, indutor de resistência e fungicida sistêmico, em experimento conduzido em Linhares-ES, durante o período de março de 2012 a janeiro de 2013. As médias utilizadas referem-se somente às épocas nas quais se verificou diferenças estatísticas entre tratamentos fungicidas na análise de variância.

VARIÁVEL	MÉDIA	PRODUTO	
Incidência de Pinta Preta (Folha)	1,29 <b>A</b>	Testemunha	
	0,58 <b>AB</b>	Bordasul	
	0,51 <b>AB</b>	Agromós	
	0,39 <b>AB</b>	Azoxystrobin	
	0,29 <b>B</b>	ASM	
Incidência de Pinta Preta (Fruto)	40,77 <b>A</b>	Testemunha	
	31,64 <b>AB</b>	Agromós	
	31,48 <b>AB</b>	Bordasul	
	29,95 <b>AB</b>	Azoxystrobin	
	15,04 <b>B</b>	ASM	
Incidência de Mancha de Phoma	'Golden'	80,02 <b>A</b>	Testemunha
		43,89 <b>AB</b>	Agromós
		42,84 <b>AB</b>	Azoxystrobin
		40,21 <b>AB</b>	ASM
		33,79 <b>B</b>	Bordasul
	'Tainung'	59,31 <b>A</b>	ASM
		57,91 <b>A</b>	Agromós
		47,68 <b>A</b>	Azoxystrobin
		44,35 <b>A</b>	Testemunha
		40,73 <b>A</b>	Bordasul
	'UENF/CALIMAN01'	58,89 <b>A</b>	Agromós
		56,67 <b>A</b>	Testemunha
		53,09 <b>A</b>	Azoxystrobin
		38,07 <b>A</b>	Bordasul
		27,13 <b>A</b>	ASM
Incidência de Oídio	'Golden'	2,50 <b>A</b>	ASM
		1,35 <b>AB</b>	Azoxystrobin
		1,00 <b>AB</b>	Testemunha
		0,61 <b>B</b>	Agromós
		0,32 <b>B</b>	Bordasul
	'Tainung'	2,10 <b>A</b>	Bordasul
		1,01 <b>AB</b>	Testemunha
		0,92 <b>AB</b>	Agromós
		0,81 <b>AB</b>	ASM
		0,39 <b>B</b>	Azoxystrobin
	'UENF/CALIMAN01'	1,73 <b>A</b>	ASM
		1,06 <b>AB</b>	Testemunha
		0,73 <b>AB</b>	Bordasul
		0,52 <b>AB</b>	Agromós
		0,18 <b>B</b>	Azoxystrobin

Para uma mesma variável, médias com letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si, com base no teste de Tukey ( $p > 0,05$ )

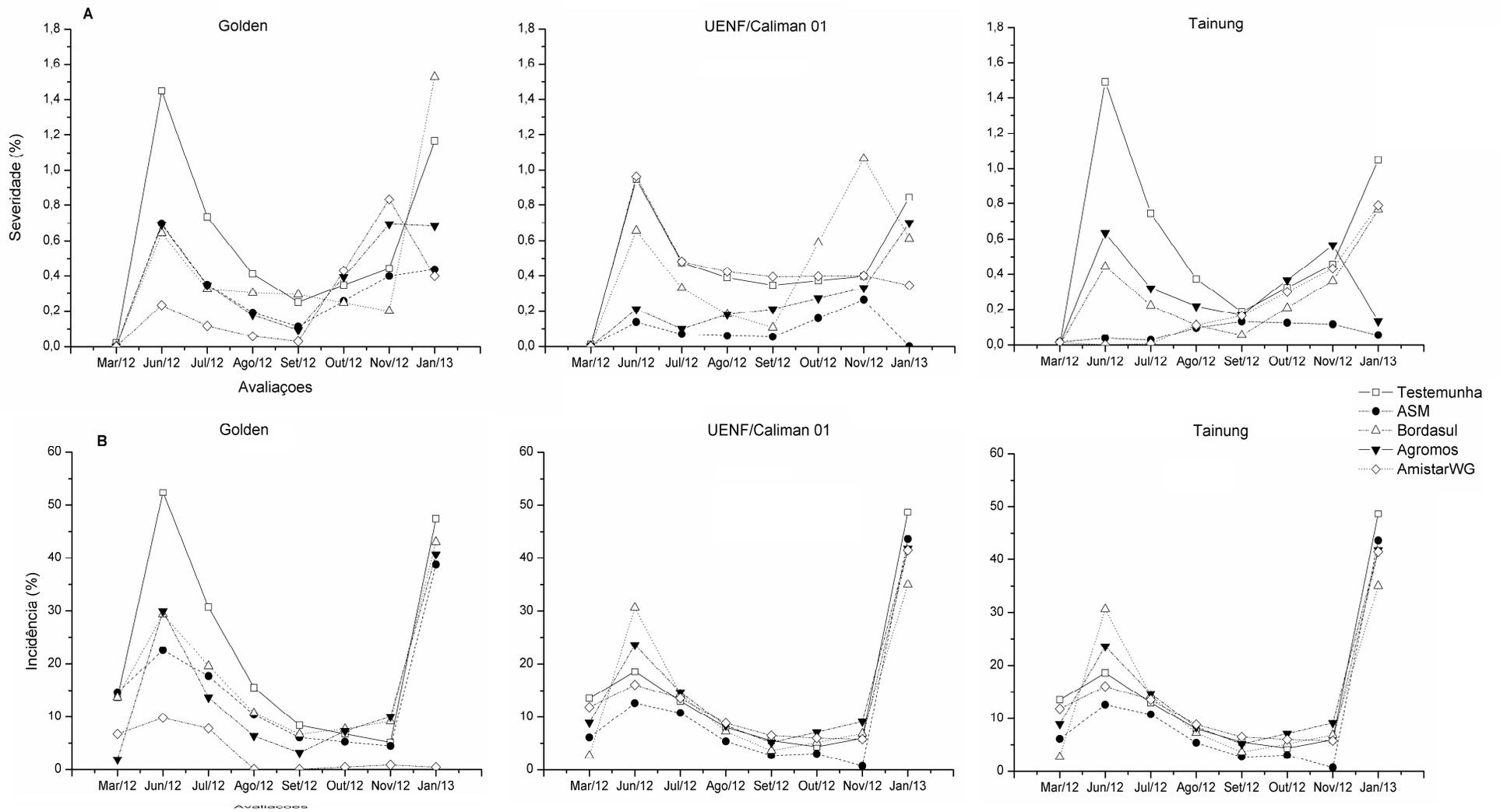


Figura 3 - Curvas de progresso baseadas na severidade (A) e incidência (B) de pinta preta em folhas de diferentes genótipos de mamoeiro submetidos a pulverizações quinzenais com fungicida e produtos alternativos, em lavoura comercial de Linhares - ES, de março de 2012 a janeiro de 2013.

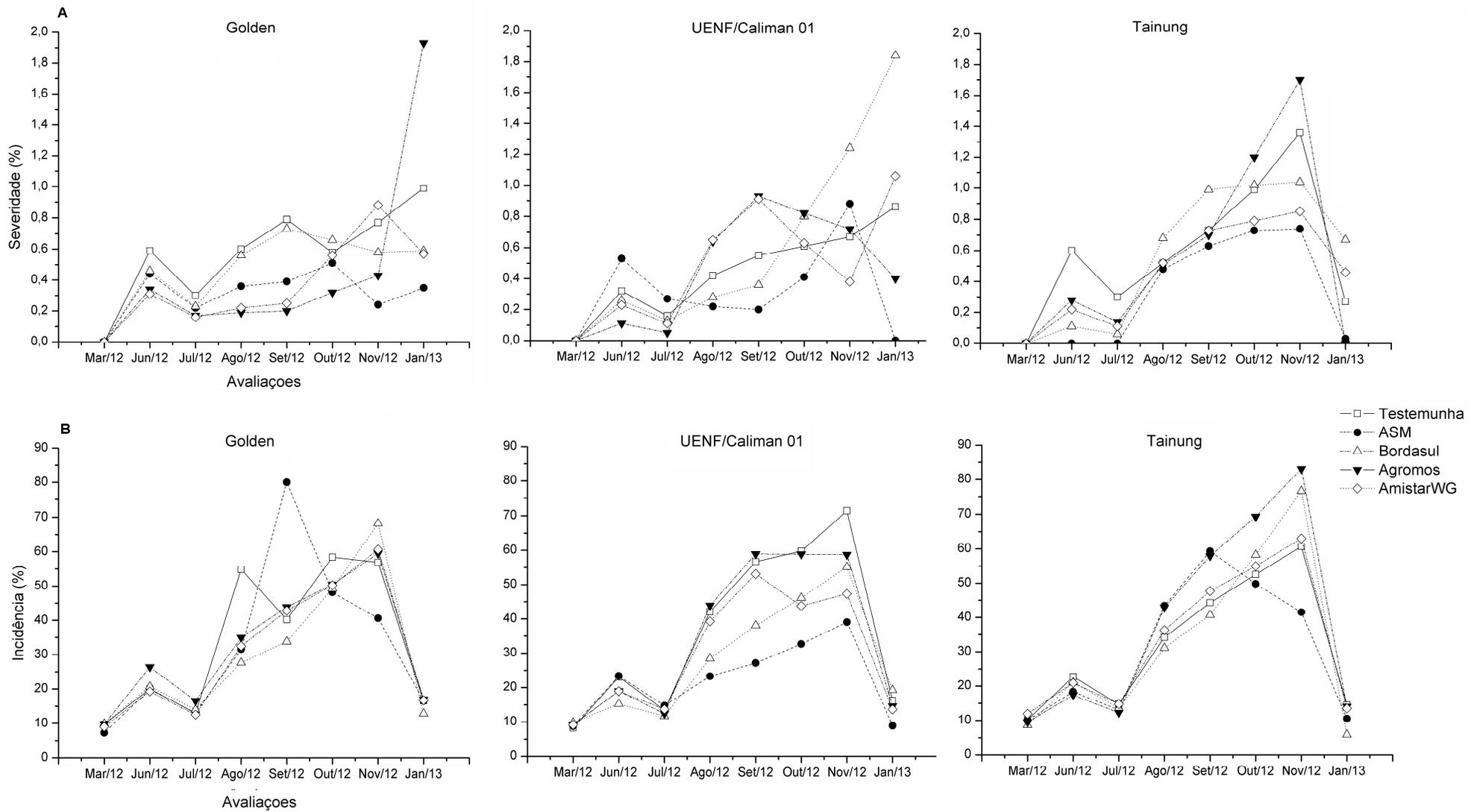


Figura 4 - Curvas de progresso baseadas na severidade (A) e incidência (B) de mancha de phoma em folhas de diferentes genótipos de mamoeiro submetidos a pulverizações quinzenais com fungicida e produtos alternativos, em lavoura comercial de Linhares - ES, de março de 2012 a janeiro de 2013.

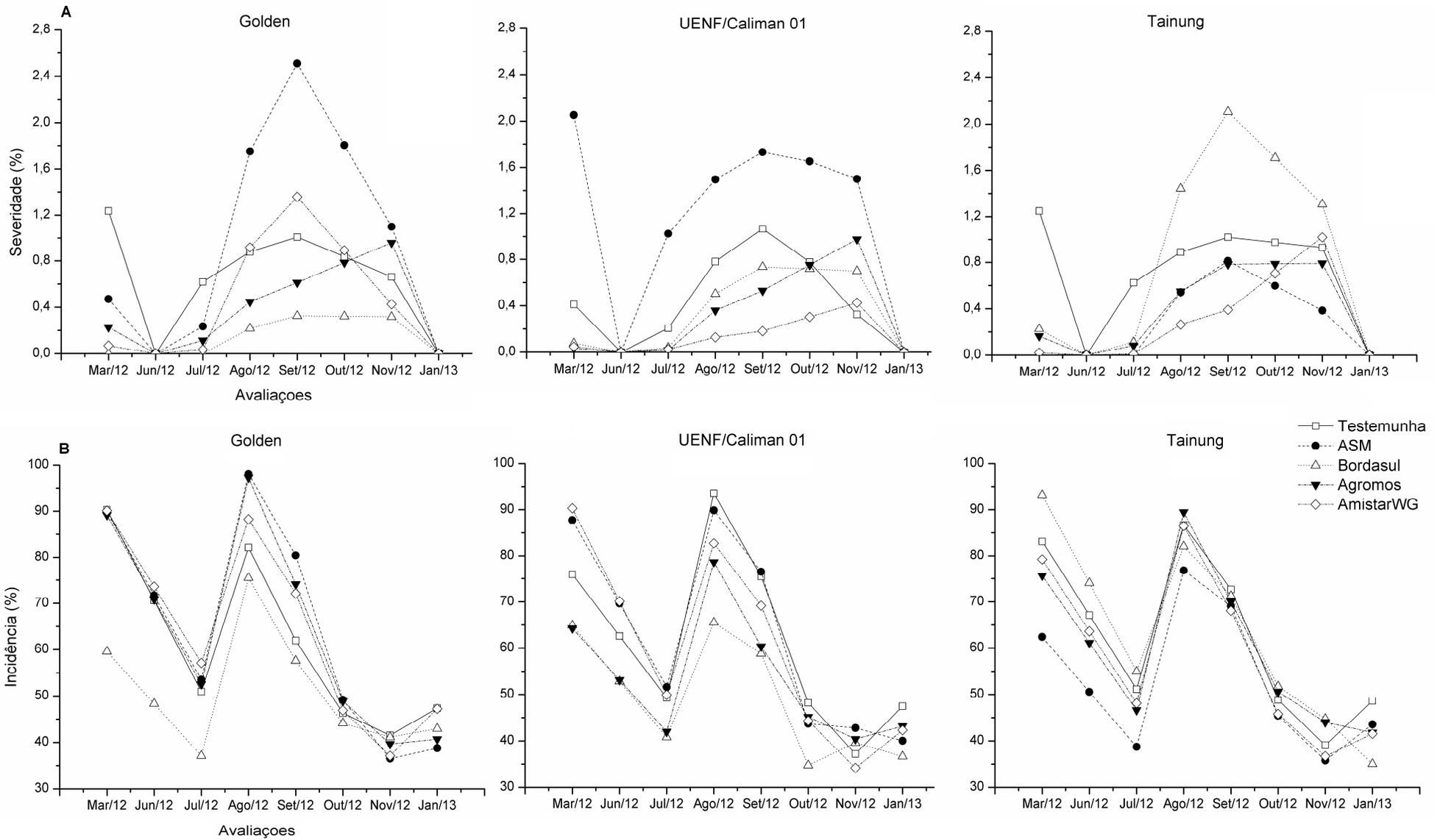


Figura 5 - Curvas de progresso baseadas na severidade (A) e incidência (B) de mancha de oídio em folhas de diferentes genótipos de mamoeiro submetidos a pulverizações quinzenais com fungicida e produtos alternativos, em lavoura comercial de Linhares - ES, de março de 2012 a janeiro de 2013.

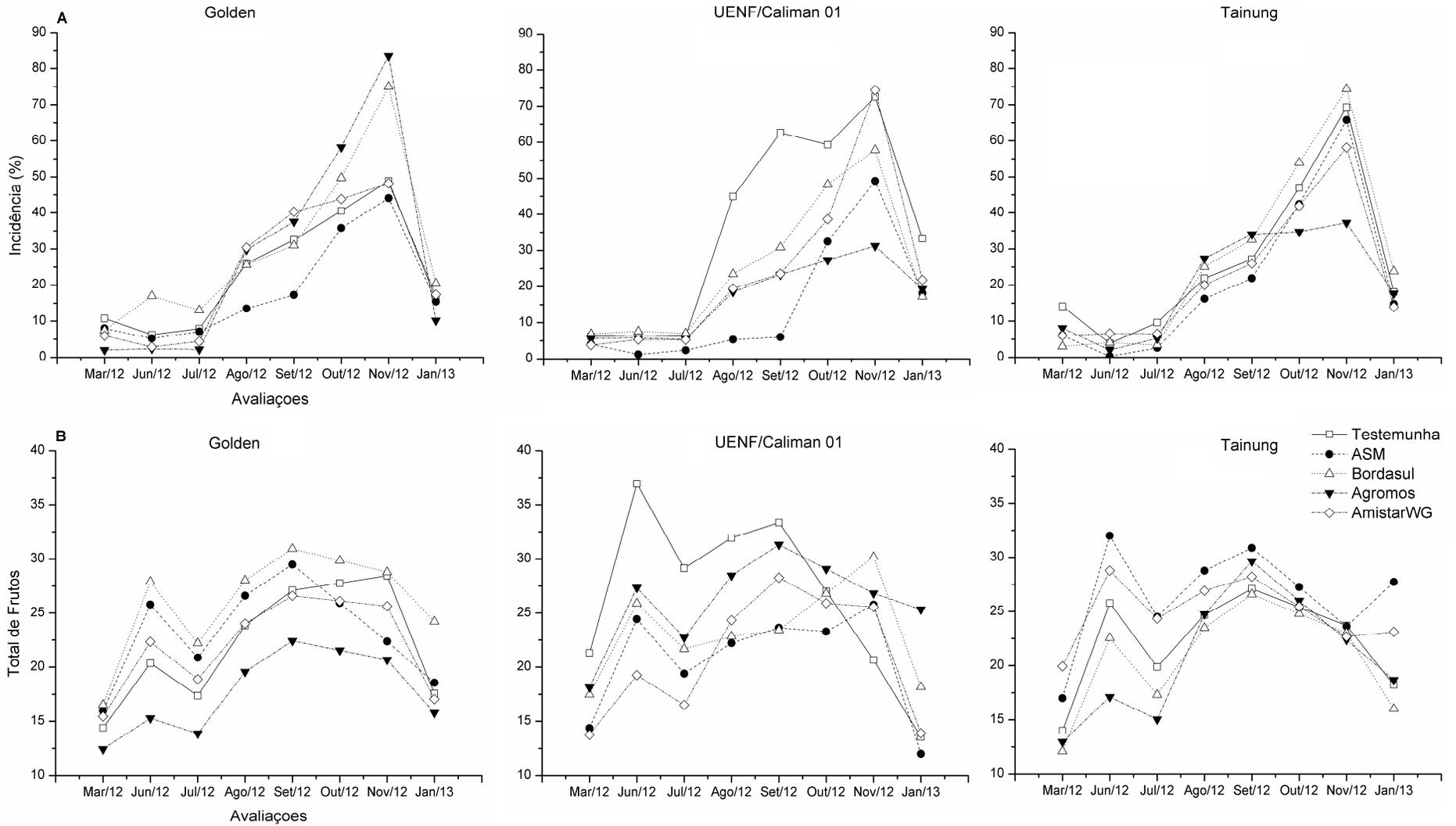


Figura 6 –Curvas de progresso da incidência de pinta preta em frutos (A) e número total de frutos de diferentes genótipos de mamoeiro submetidos a pulverizações quinzenais com fungicida e produtos alternativos, em lavoura comercial de Linhares - ES, de março de 2012 a janeiro de 2013.

Tabela 2 - Área abaixo da curva de progresso de pinta preta com base na severidade e incidência em folhas (AACPD1 e AACPD2), frutos com base na incidência (AACPD3); incidência de mancha de phoma em folhas (AACPD4) e severidade de pinta preta em frutos (SPPF); em diferentes genótipos de mamoeiro ('Golden'; 'Tainung' e 'Calimosa'), pulverizados quinzenalmente com fungicidas e produtos alternativos, em Linhares-ES, durante o período de março de 2012 a janeiro de 2013

PRODUTO	VARIÁVEL									
	AACPD1		AACPD2		AACPD3		AACPD4		SPPF	
TESTEMUNHA	105.97	<b>A</b>	3649.45	<b>A</b>	5220.16	<b>A</b>	6709.45	<b>A</b>	<b>1.70</b>	<b>AB</b>
ASM	29.54	<b>B</b>	2537.45	<b>AB</b>	3056.55	<b>B</b>	5003.08	<b>B</b>	<b>0.52</b>	<b>B</b>
BORDASUL	74.13	<b>AB</b>	2670.89	<b>AB</b>	4885.93	<b>AB</b>	5391.77	<b>AB</b>	<b>1.34</b>	<b>AB</b>
AGROMÓS	57.49	<b>AB</b>	2549.09	<b>AB</b>	4011.20	<b>AB</b>	6491.31	<b>AB</b>	<b>1.72</b>	<b>A</b>
AZOXYSTROBIN	55.83	<b>AB</b>	2228.41	<b>B</b>	4238.68	<b>AB</b>	5780.65	<b>AB</b>	<b>1.53</b>	<b>AB</b>

Para uma mesma variável, médias com letras maiúsculas iguais na mesma não diferem entre si, com base no teste de Tukey ( $P > 0,05$ )

Tabela 3 - Médias de área abaixo da curva de progresso com base na severidade e incidência de oídio (SO e IO); total de folhas e frutos (TF e TFRU) e Firmeza da casca de frutos em diferentes genótipos de mamoeiro, pulverizados quinzenalmente com fertilizantes foliares, indutores de resistência e fungicida sistêmico, em experimento conduzido em Linhares-ES, durante o período de março de 2012 a janeiro de 2013.

VARIÁVEL	GENÓTIPO	PRODUTOS									
		TESTEMUNHA		ASM	BORDASUL		AGROMÓS		AZOXYSTROBIM		
SO	'GOLDEN'	112.52	<b>AB a</b>	191.66	<b>A a</b>	28.09	<b>B b</b>	69.55	<b>B a</b>	93.72	<b>AB a</b>
	'UENF/CALIMAN01'	84.43	<b>B a</b>	202.05	<b>A a</b>	65.16	<b>B b</b>	59.76	<b>B a</b>	24.02	<b>B a</b>
	'TAINUNG'	121.05	<b>AB a</b>	58.59	<b>B b</b>	167.18	<b>A a</b>	78.42	<b>AB a</b>	52.49	<b>B a</b>
IO	'GOLDEN'	10908.38	<b>AB a</b>	11827.3	<b>A a</b>	9281.98	<b>B b</b>	11664.0	<b>A a</b>	11577.	<b>A a</b>
	'UENF/CALIMAN01'	11289.76	<b>A a</b>	11411.3	<b>A</b>	8951.90	<b>B b</b>	9757.95	<b>AB</b>	10806.	<b>AB a</b>
	'TAINUNG'	11264.13	<b>A a</b>	9703.56	<b>A b</b>	11284.0	<b>A a</b>	10930.3	<b>A ab</b>	10673.	<b>A a</b>
TF	'GOLDEN'	4811.00	<b>A a</b>	4517.86	<b>A a</b>	4843.91	<b>A a</b>	4229.48	<b>A b</b>	4542.7	<b>A a</b>
	'UENF/CALIMAN01'	4685.52	<b>AB a</b>	4287.14	<b>B a</b>	4624.07	<b>AB</b>	4995.21	<b>A a</b>	4715.5	<b>AB a</b>
	'TAINUNG'	4627.40	<b>A a</b>	4867.21	<b>A a</b>	4462.45	<b>A a</b>	4522.36	<b>A ab</b>	4711.6	<b>A a</b>
TFRU	'GOLDEN'	4061.37	<b>AB a</b>	4326.81	<b>AB</b>	4825.62	<b>A a</b>	3254.40	<b>B b</b>	4055.3	<b>AB a</b>
	'UENF/CALIMAN01'	5023.43	<b>A a</b>	3816.61	<b>A a</b>	4232.84	<b>A a</b>	4837.80	<b>A a</b>	3887.2	<b>A a</b>
	'TAINUNG'	4162.81	<b>A a</b>	4942.53	<b>A a</b>	3873.08	<b>A a</b>	3882.83	<b>A ab</b>	4601.6	<b>A a</b>
FIRMEZA (N)	'GOLDEN'	7.93	<b>AB a</b>	11.46	<b>A a</b>	4.82	<b>B b</b>	8.64	<b>AB a</b>	6.83	<b>B a</b>
	'UENF/CALIMAN01'	8.77	<b>A a</b>	8.19	<b>A a</b>	10.93	<b>A a</b>	9.87	<b>A a</b>	7.96	<b>A a</b>
	'TAINUNG'	6.53	<b>AB a</b>	9.91	<b>A a</b>	4.70	<b>B b</b>	4.54	<b>B b</b>	6.93	<b>AB a</b>

Para uma mesma variável, médias com letras maiúsculas iguais na mesma linha e letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si, com base no teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

### **3.2 - Espectroscopia fotoacústica aplicada na resposta de genótipos de mamoeiro a indutores de resistência**

#### **RESUMO**

O uso de indutores de resistência em plantas nem sempre resulta em benefícios, pois a ativação dos mecanismos de defesa vegetal demanda energia, especialmente na ausência de doenças. Com o objetivo de se determinar alterações morfofisiológicas em genótipos de mamoeiro tratados com acybenzolar-S-methyl, empregou-se, neste trabalho, a espectroscopia fotoacústica. A técnica permite detectar variações cito-histológicas nas camadas da folha ricas em pigmentos (clorofila, carotenoides e outros, no mesófilo) e nas ceras cuticulares. Testaram-se dois genótipos de mamoeiro, que diferem entre si na morfologia e na coloração das folhas, bem como na resistência à doença pinta preta, causada pelo fungo *Asperisporium caricae*: 'Golden' (susceptível) e 'Maradol' (resistente). Nove plantas de cada genótipo foram pulverizadas semanalmente com 500 mL/planta de solução de acibenzolar-S-metil (ASM) nas doses de 0,01g i.a/L e 0,1g i.a/L, ou com água (testemunha). O sinal fotoacústico da folha foi obtido, utilizando-se como fonte de luz, lâmpada de xenônio branca (400 mW), modulada em 17 Hz, tendo um monocromador (Oriel Corp., mod. 77250) com rede de difração (300 l/mm) associado a um amplificador Lock-in (Stanford, mod SR830). Para ambos os genótipos, observou-se que o ASM não

afetou a morfologia das plantas ao nível da cutícula e quanto ao sinal fotoacústico na faixa espectral das ceras (350 – 350 nm). Houve diferenciação na separação das fases do sinal fotoacústico no espectro dos cloroplastos em comparação à testemunha, para ambas as doses de ASM, sendo estas alterações pronunciadas no genótipo susceptível (Golden), de folha verde-amarelada. Tais alterações foram inexpressivas no genótipo 'Maradol', de folha verde-escura, e que também não apresentou alterações nos picos de sinais fotoacústicos, na faixa espectral de absorção dos carotenos. Pela Espectroscopia Fotoacústica, foi possível determinar respostas cito-histológicas diferenciais entre genótipos de mamoeiro, mesmo na ausência de sintomas macroscópicos visíveis, atribuídos a possível efeito fitotóxico.

Palavras-chave: *Carica papaya*, indução de resistência, fotoacústica

## ABSTRACT

The use of induced resistance in plants does not always result in benefits, because the activation of plant defense mechanisms require energy, especially in the absence of disease. In order to determine morph physiological papaya genotypes treated with acybenzolar-S-methyl, was employed in this work, photoacoustic spectroscopy. The technique allows to detect variations in cyto-histological layers rich in leaf pigments (chlorophyll, carotenoids and others in the mesophyll) and cuticular waxes. Two genotypes were tested papaya, which differ in morphology and staining of leaves as well as in disease resistance blight, caused by the fungus *Asperisporium caricae*: Golden '(susceptible) and' Maradol '(resistant). Nine plants of each genotype were sprayed weekly with 500 mL / plant by a solution of acybenzolar-S-methyl (ASM) at doses of 0.01 g ai / L and 0.1 g ai / L, or with water (control). The photoacoustic signal of the sheet was obtained, using as light source, white xenon lamp (400 mW) modulated at 17 Hz, with a monochromator (Oriel Corp. Mod. 77,250) with a diffraction grating (300 l / mm) associated with a lock-in amplifier (Stanford, mod SR830). For both genotypes, it was observed that the ASM did not affect the morphology of the plants at the level of the cuticle and the photoacoustic signal in the spectral range of waxes (350 - 350 nm). There was a difference in phase separation of the photoacoustic spectrum of chloroplasts compared to control, for both doses of ASM, these modifications being pronounced in the susceptible genotype ('Golden'), with yellow-green leaves. Such changes were negligible in the genotype 'Maradol' of dark green, which also showed no changes in photoacoustic signal peaks, in the range of absorption of carotenoids. By Photoacoustic Spectroscopy, it was possible to determine cyto-histologic differential responses between papaya genotypes, even in the absence of macroscopic visible symptoms attributed to possible phytotoxic effect.

Keywords: *Carica papaya*, resistance inducers, photoacoustic.

## 1. INTRODUÇÃO

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo pelas suas propriedades nutritivas, organolépticas, digestivas, farmacêuticas e medicinais (Batistuzzo, 2002). O cultivo extensivo e sedentário do mamoeiro, localizado e concentrado em algumas poucas regiões do Brasil, tem tornado a produção dependente do uso de agroquímicos, especialmente fungicidas (Liberato, 1999). Pelo fato de ainda não existir variedades resistentes a doenças, em geral, a dependência com relação ao controle químico é ainda maior.

Todavia, o mamoeiro é uma planta sensível a agroquímicos, como por exemplo, fungicidas triazóis e em formulações oleosas (Liberato, 1999). Os indutores de resistência além de serem praticamente atóxicos ao homem e ao meio ambiente, não atuam do mesmo modo que os agroquímicos convencionais, pois apresentam baixa toxicidade ao organismo alvo e ativam mecanismos de defesa latentes nas plantas contra agentes bióticos ou abióticos (Pascholati, 2003).

Estudos realizados em casa de vegetação apontaram o indutor acibenzolar-S-metil (ASM) como promissor no controle da principal doença desta cultura, a pinta preta causada pelo fungo *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl. (Terra, 2009; Santos, 2011). No trabalho de Terra,(2009), o autor testou em diferentes genótipos de mamoeiro produtos alternativos, tais como fertilizantes foliares (Agro-mós e Fosfito) e ASM no controle da pinta preta em casa-de-vegetação. Concluiu que o ASM (Bion) foi o mais eficiente e controlou a doença de tal forma que mesmo folhas senescentes não apresentaram sintomas da doença, embora alguns genótipos apresentaram discreto amarelecimento decorrente de possível efeito fitotóxico. Santos (2011) relatou possível toxidez do ASM em plantas de mamoeiro em casa-de-vegetação, aplicando ASM quinzenalmente na dose de 0,25 g/L i.a. Para esta dose, este autor observou redução no número de folhas e a abscisão precoce de folhas em mudas tratadas com ASM em comparação à testemunha. O uso de indutores nem sempre resulta em benefícios para a cultura, pois com a ativação da resistência há demanda

elevada de energia na planta para a síntese dos mecanismos de defesa vegetal (SILVA et al. 2003). O custo fisiológico de resistência é um efeito secundário negativo da indução da resistência sob condições em que esta resistência não é necessária, na ausência de infecções por patógenos (DIETRICH et al., 2005; KUHN, 2007).

São inúmeras as metodologias utilizadas para se estudar ou detectar as respostas das plantas a aplicação de compostos bioativos (Branco et al. 2002; Casali et al., 2010). Mais recentemente, têm sido empregadas técnicas espectroscópicas, as quais podem ser definidas como toda técnica de levantamento de dados físico-químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente em uma amostra (Adams et al., 1976; Souza et al. 2009).

A espectroscopia fotoacústica (EF) é uma das técnicas fototérmicas, a qual vem se tornando amplamente conhecida a partir da década de 70 principalmente pelos trabalhos de Rosencwaig e Gersho (1976) em sólidos. As técnicas fototérmicas são largamente usadas nos estudos de espectroscopia óptica e de caracterização térmica de materiais nos diversos estados, especificamente em sólidos (MELO, 1992). A EF se baseia no efeito fotoacústico que surge quando a luz modulada incide sobre uma amostra dentro de uma câmara fechada e cheia de gás. A luz modulada é absorvida pelos diversos componentes ou camadas da amostra, as quais geram um fluxo de calor oscilante e cíclico, que altera do mesmo modo a pressão da matéria circundante (MELO, 1992). Essa variação de pressão é detectada por um microfone dentro da câmara fotoacústica, sendo este o sinal fotoacústico, o qual pode ser analisado conforme os coeficientes de absorção dos cromóforos que compõem a amostra. Dentre estes, já se sabe com base nos estudos de Vinha 1988, onde o autor monitorou efeitos de herbicidas em folhas, utilizando a espectroscopia fotoacústica na região do visível. No caso da aplicação do herbicida Paraquat a uma folha de soja, foi constatado que efeitos (perda d'água pela folha (plasmólise) e a destruição da clorofila e carotenoides) do herbicida registrado para a cultura puderam ter sua cronologia e magnitude determinados pelo Método da Separação dos Espectros na Fase e, portanto este estudo mostrou que é possível avaliar alterações mínimas de pigmentos e ceras de folhas. Uma vantagem da técnica EF é não requerer tratamento ou pré-processamento das amostras a serem analisadas.

Até o momento, não há estudos comparativos de avaliação das respostas ou alterações morfofisiológicas de plantas pela aplicação de ASM ou quaisquer outros indutores de resistência, por meio de EF. Assim, este trabalho, objetivou detectar as alterações morfofisiológicas em genótipos de mamoeiro tratados com ASM.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

No período de junho a agosto de 2012, foi conduzido experimento em casa-de-vegetação, em blocos casualizados, onde a parcela experimental foi a de uma planta e para a amostra considerou-se os discos destacados das folhas, os quais foram submetidos à espectroscopia. Utilizou-se dois genótipos de mamoeiro que diferem quanto à resistência à pinta preta, doença causada pelo fungo *Asperisporium caricae* (Speg.) Maubl., e quanto à coloração da folha: 'Golden', susceptível à doença e de folhas mais finas e de cor verde-amareladas, e 'Maradol', resistente à doença e de folhas mais espessas e verde-escuras. Nove plantas de cada genótipo foram submetidas a pulverizações semanais com solução de acibenzolar-S-metil (ASM, Bion 500 WG/ Syngenta), nas doses de 0,01g i.a/L e 0,1g i.a/L e, como testemunhas, de apenas água. A solução foi preparada com água destilada, sendo pulverizados na planta 500 ml desta, utilizando um pulverizador manual.

O sinal fotoacústico da folha em função do espectro de luz incidente no espectro do visível (350-750 nm) foi determinado em sistema constituído pelos seguintes componentes: (i) fonte de luz a partir de lâmpada de Xenônio de alta pressão a arco (Oriel Corp, modelo 6269) de 1000 W de potência, cujo feixe foi periodicamente interrompido por um (ii) modulador mecânico (Princeton Applied Research, modelo 192), sendo a potência fixada em 400 W e a frequência de modulação de 17 Hz; (iii) monocromador (Oriel Corp. modelo 77250) de 0,25 m de distância focal com uma rede de difração de 300 linhas por milímetro (Oriel Corp, modelo 77300), para a seleção dos comprimentos de onda de interesse; (iv) célula fotoacústica (MTEC modelo 300); (v) amplificador Lock-in da Stanford modelo SR830, que capta o sinal do microfone; programa coletor de dados em computador, via conector RS232. As curvas do sinal fotoacústico em função da

mudança do comprimento de onda da luz foram detectadas, selecionadas de acordo com as melhores curvas de absorção e processadas pelo método da separação em fases (César et al., 1984; Pessoa Jr., 1985), para se distinguir os efeitos dos diferentes componentes foliares: ceras da epiderme, carotenos e clorofila dos plastídios, pelo uso do programa Matlab®.

Após cada aplicação de ASM, retiravam-se três amostras (fragmentos circulares, equivalentes ao tamanho da câmara da célula fotoacústica) da quinta folha de cada grupo de plantas. Estas amostras eram fixadas sobre o microfone e pressionadas contra ele por uma lâmina de acrílico vazada por orifício de 5 mm de diâmetro, de forma que a luz incidisse diretamente sobre a amostra. Este procedimento foi repetido duas vezes por semana durante todo o experimento.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros normalizados da primeira avaliação (Junho) quando comparados com a última (Setembro), para o genótipo 'Golden', apresentaram os picos do sinal fotoacústico maiores para as plantas tratadas em relação às plantas da testemunha, independente da dose do indutor. Isso indica que este genótipo interage prontamente ao estímulo enviado pelo indutor, mesmo em doses baixas (0,01 mg/L). Ao final das avaliações, as curvas de absorção se inverteram e as plantas pulverizadas com água mantiveram os mesmos níveis de absorção do sinal, enquanto que as plantas tratadas com o ASM apresentaram níveis do sinal fotoacústico na faixa da clorofila inferiores à primeira avaliação (Figura 7). Este fato deve-se provavelmente a um desbalanço na produção de clorofilas, visto que a planta está usando as suas reservas metabólicas para interagir com o indutor e esta interação pode atuar como um dreno energético (Cavalcanti et al., 2006).

Observou-se para o genótipo 'Maradol' na primeira avaliação a diferenciação da curva de absorção da maior dosagem na faixa da clorofila, em relação às demais, notou-se que este genótipo responde de forma contrária ao

'Golden' onde na primeira avaliação as curvas de absorção do sinal fotoacústico dos tratamentos foram superiores à testemunha (Figura 8).

No final do experimento observou-se que os tratamentos se igualaram à testemunha não mostrando aparentemente desbalanço energético duradouro, fato este que pode ser devido a este genótipo não ter interação com o indutor e, portanto não alterar suas características morfofisiológicas (Figura 8). É importante ressaltar o ineditismo desse trabalho e que novas pesquisas envolvendo a fotoacústica e indutores de resistência devem ser desenvolvidas juntamente com a avaliação de doenças e a produção de enzimas específicas de defesa. Ademais, alterações fisiológicas deverão ser monitoradas, tais como teores de clorofila, fluorescência da clorofila a e eficiência fotossintética, dentre outros, assim como a possível interação planta, patógeno e indutor no caso de doenças causadas por fungos de solo, verificando se as alterações causadas pela infecção são amenizadas com a interferência da aplicação de produtos que induzam a resistência..

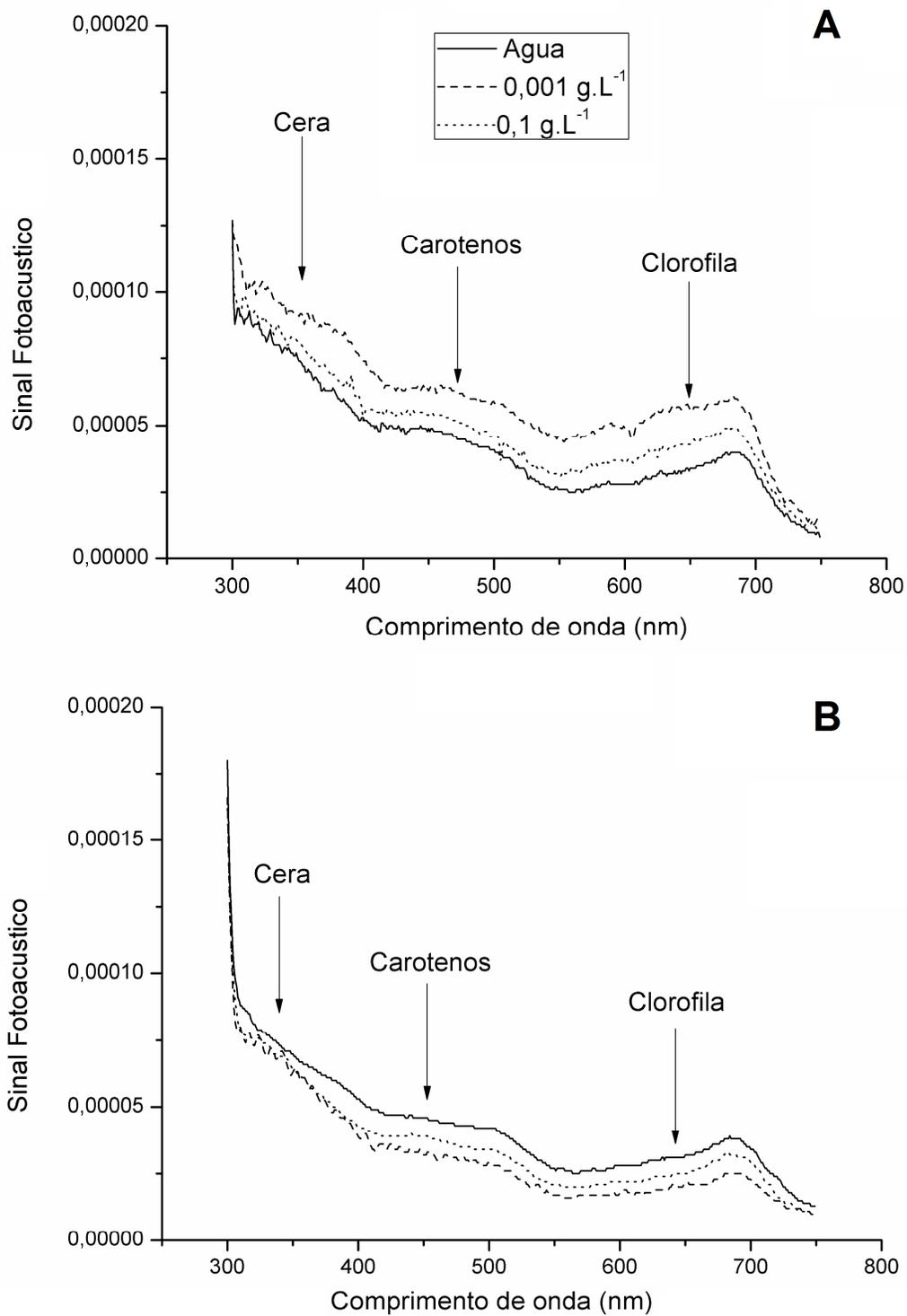


Figura 7 – Espectros de absorção fotoacústica no visível de folhas de mamoeiro da cultivar 'Golden' submetidas a aplicações semanais de acibenzolar-S-metil em maio de 2012 (A) e setembro de 2012 (B).

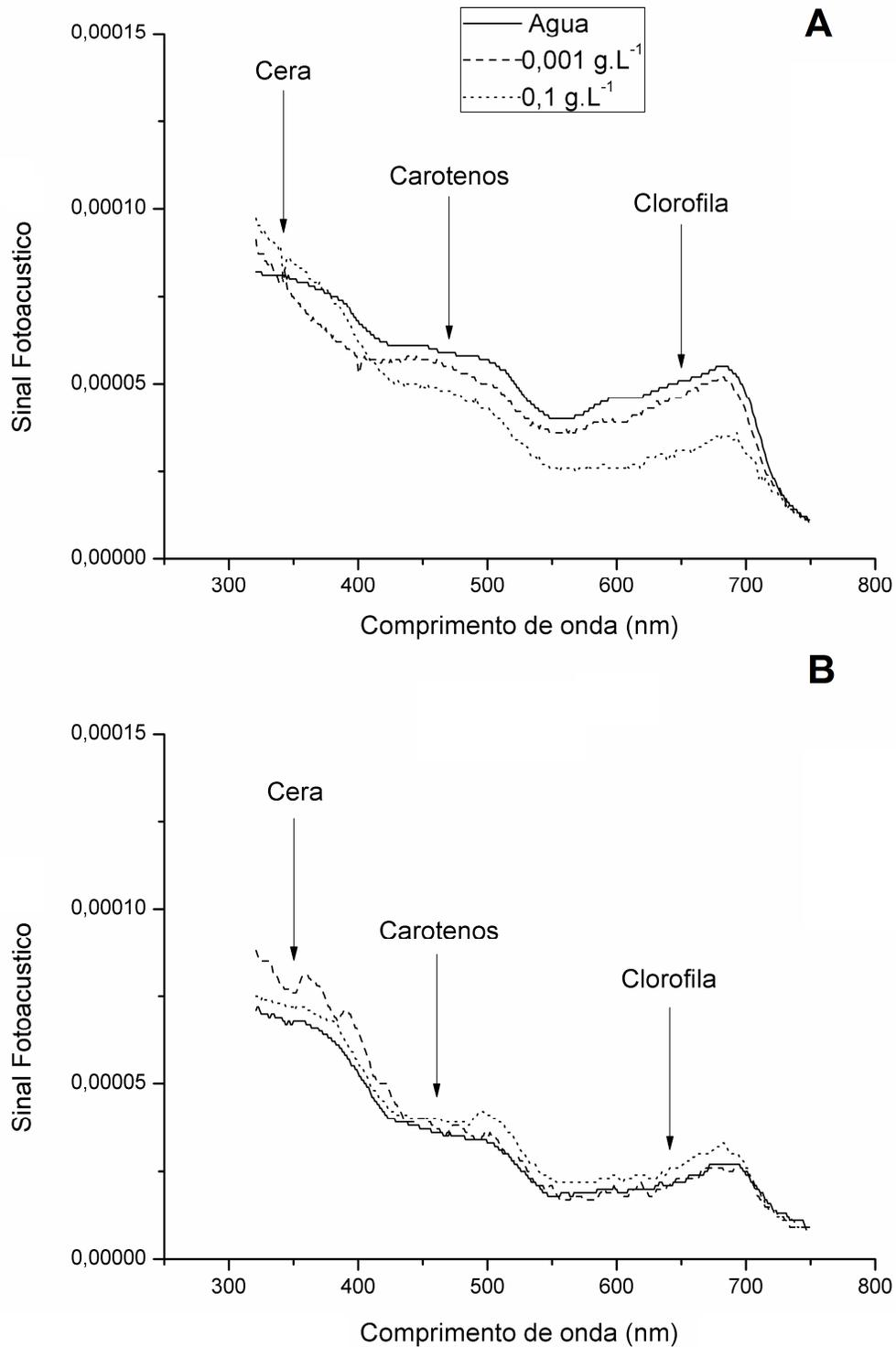


Figura 8 - Espectros de absorção fotoacústica no visível de folhas de mamoeiro da cultivar 'Maradol' submetidas a aplicações semanais de acibenzolar-S-metil em maio de 2012 (A) e setembro de 2012 (B).

Quando se efetuou a separação de fases, para ambos os genótipos, observou-se que ASM não afetou a camada inicial da folha, pois a cutícula ficou preservada, já que a absorção do sinal fotoacústico foi praticamente a mesma. Porém, notou-se que os genótipos se diferenciam indiretamente em relação à absorção do sinal na cutícula, onde 'Maradol' possui a absorção do sinal no comprimento de onda da camada de cera bem menor que a de 'Golden' (Figura 9a e 9b).

Observou-se para o genótipo 'Golden' uma diferenciação das curvas de absorção para os tratamentos na separação de fase no espectro de absorção dos pigmentos (cloroplastos), onde para a concentração de 0,1 g/p.c. de ASM houve menores picos de absorção do sinal fotoacústico em relação à absorção das plantas pulverizadas com água (testemunha), sugerindo assim que o indutor causou um desbalanço na produção de cloroplastos da folha pela utilização dos fotoassimilados presentes no tecido de reserva (Gayler et al., 2004). O genótipo 'Maradol' não apresentou alterações nos espectros de absorção dos carotenos, somente para as clorofilas.

Os pigmentos como as clorofilas e os carotenoides são importantes porque participam dos processos de absorção e conversão da energia luminosa em ATP e poder redutor, que podem ser usados no metabolismo de carboidratos e outros processos energéticos das células (Misaghi, 1982; Malkin&Niyogi, 2000). Os resultados mostram que altas dosagens do indutor diminuem a fotossíntese sem causar clorose, visto que em casa de vegetação as plantas se mostraram assintomáticas, especialmente no caso do genótipo 'Maradol'. Já para 'Golden' observou-se uma clorose nas plantas tratadas com ASM ao final do experimento, e maior precocidade na senescência das folhas.

Os dados avaliados em experimento de campo mostram que com dose de 0,03g i.a/L de ASM para 'Golden' o número total de folhas não foi estatisticamente significativo em relação à testemunha, porém dosagens mais altas do ASM podem causar uma antecipação da senescência foliar, como observado na Figura 9 c e 9 d.

Com isto, deve-se ressaltar que a dose e o intervalo de aplicação de ASM em plantas de mamoeiro devem ser proporcionais à necessidade de controle, no que dependerá da variedade, da sua resistência à doença e da sua capacidade de responder em termos morfofisiológicos à aplicação do produto.

Considerando que as moléculas de clorofila *a* e *b* constituem os dois sistemas de pigmentos responsáveis pela absorção e transferência de energia radiante (Ferri, 2004), e os resultados obtidos neste trabalho pode-se verificar que a técnica fotoacústica consegue identificar pequenas alterações nos pigmentos das folhas ocasionadas pela aplicação do ASM, porém não foi possível a detecção da intensidade deste desbalanço em função da produção.

Estudos futuros discriminando dosagens mais fracionadas e a correlação da fotoacústica com a severidade da doença poderão elucidar e quantificar o custo metabólico da indução por ASM.

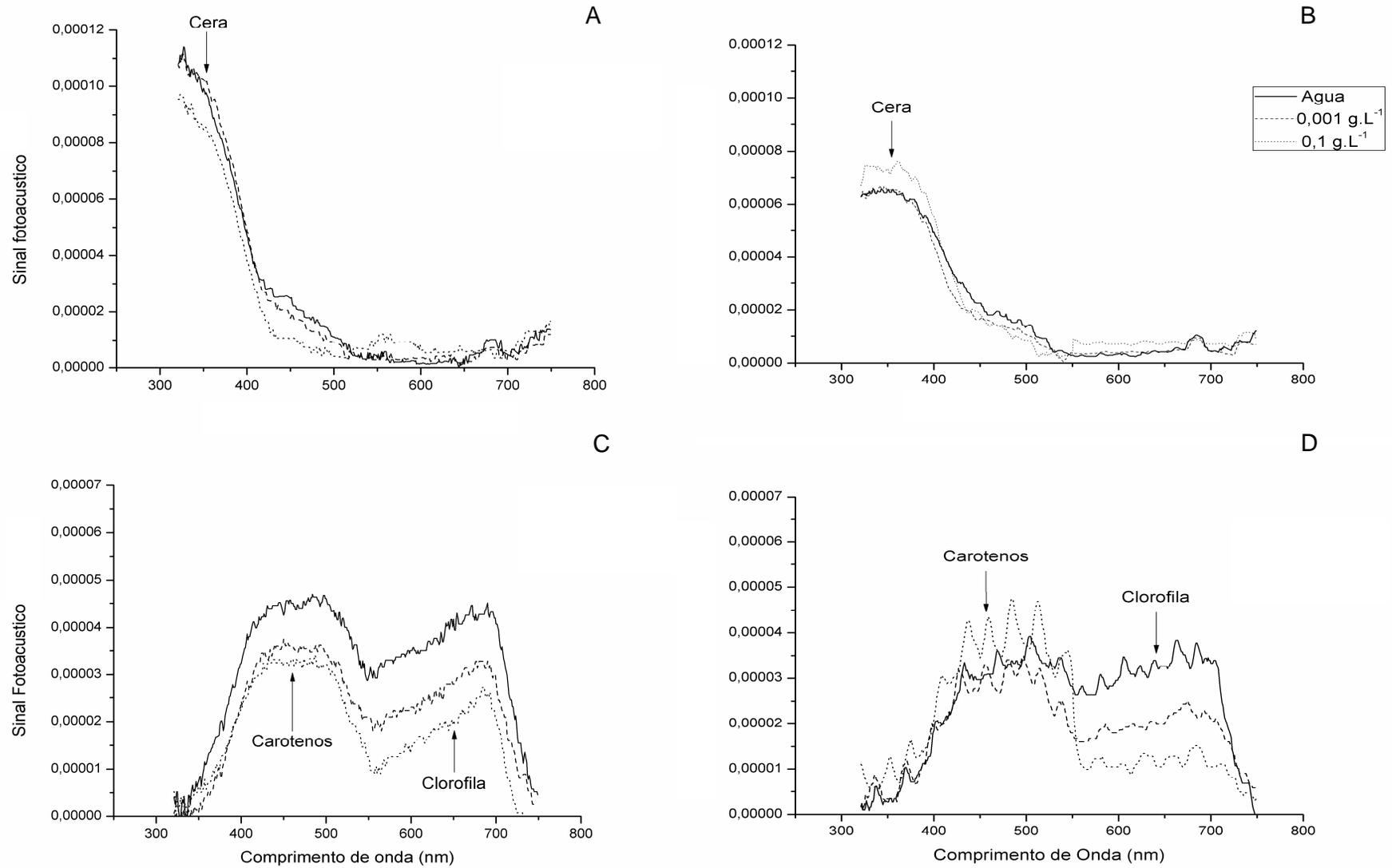


Figura 9 - Separação em fase e quadratura da última avaliação de genótipos de mamoeiro 'Golden' (A) e (C) e 'Maradol' (B) e (D) pulverizados semanalmente com acibenzolar-S-metil.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams, M.J., Beadle, B.C., King, A.A., Kirkbright, G.F. (1976) Analytical acoustic spectroscopy. Part II. Ultraviolet and visible optoacoustic spectra of some inorganic, biochemical and phytochemical samples. *Analyst*, v.101, p. 553–561.
- Batistuzzo, J.A.O., Itaya, M., Eto, Y. (2002) *Formulário médico-farmacêutico*. Tecnopress, São Paulo, p. 550.
- Cavalcanti, F.R., Resende, M.L.V., Zacaroni, A.B., Ribeiro Jr., P.M., Costa, J.C.B & Souza, R.M. (2006) Acibenzolar-S-Metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). *Fitopatologia Brasileira* 31:372-380.
- César C L, Vargas H., Pelzl J e Miranda L C M “Phase Resolved Photoacoustic Microscopy: Application to Ferromagnetic Resonancy” *J. Appl. Phys.* 55: 34-60 (1984).
- DIETRICH, R.; PLOSS, K.; HEIL, M. (2005) Growth responses and fitness costs after induction of pathogen resistance depend on environmental conditions. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, 28: (2): 211-222.
- Ferri MG (2004) *Fisiologia Vegetal*. São Paulo SP. Editora Pedagógica e Universitária.
- GAYLER, S. et al. (2004) Modelling the effect of environmental factors on the “trade off” between growth and defensive compounds in Young Apple trees. Springer Berlin / Heidelberg. *Trees*. 18: 363-371.
- KUHN O. J. (2007) Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-Smetil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e 40 produção. Tese (Doutorado em Agronomia). Piracicaba SP. ESALQ – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.
- Liberato, J. R. ; Tatagiba, J. S. ; Zambolim, L. ; Costa, H. (1999). Fitotoxicidade de Fungicidas Triazóis ao Mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 24 (2): 112-113.
- Lima G A R, Baesso M L, Arguello Z, Silva E C, Vargas H e Miranda L C M (1987) “Phase-Resolved Photoacoustic Spectroscopy Application to Metallic-Ion-Doped-Glasses” *Phys. Rev. B* 36 9812.
- LOGEMANN, E.; WU, S. C.; SCHRÖDER, J.; SCHMELZER, E.; SOMSSICH, I. E.;

- HAHLBROCK, K. (1995) Genge activation by UV lighth, fungal elicitor or fungal infection in *Petroselinum crispum* is correlated with repression of cell cycle-related genes. *Plant Journal. oxford.* .8: 865-878.
- Malkin R, Niyogi K (2000) Photosynthesis. In: Buchanan B, Gruissem W, Jones R (Eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville MD. American Society of Plant Physiologists. 568-628.
- MELO, W. L. B. (1992) Contribuições às técnicas de espectroscopias fototérmicas e aplicações a materiais poliméricos. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.
- Misaghi IJ (1982) *Physiology and biochemistry of plant pathology interaction*. New York NY. Plenum Press.
- Pascholat, S. F. (2003) Indução de resistência: opção para o controle de doenças de plantas no século XXI, *Summa Phytopathologica*, 29,(1): 115-116.
- Pessoa Jr O (1985) “Aplicações de medidas de fase do efeito fotoacústico” dissertação de Mestrado apresentada no IFGW-UNICAMP .
- Pessoa Jr., O.; César, C.L.; Patel, N.A.; Vargas, H.; Ghizoni, C.C. & Miranda, L.C.M. (1986) Two-Beam Photoacoustic Phase Measurement of the Thermal Diffusivity of Solids, *Journal of Applied Physics* 59: 1316-1318.
- Rosencwaig A and Gersho A (1976) “Theory of the Photoacoustic Effect with Solids” *J.Appl. Phys.* 47: 64.
- Santos, P.H.D. (2011a) *Avaliação de produtos alternativos no controle da pinta preta em genótipos de mamoeiro* Monografia (Graduação em Agronomia) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF, 36p.
- SOMSSICH, I. E.; HAHLBROCK, K. (1998) Pathogen defense in plants: a paradigm of biological complexity. *Trends in plant science*, Kidlington, 3: 86-90.
- Terra, C. E. P. S. (2009a) *Avaliação de genótipos e indutores de resistência no controle da pinta preta do mamoeiro*. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF, 71p.
- Vinha, C.A. (1988) *Aplicações de Ressonância Paramagnética Eletrônica e Espectroscopia Fotoacústica a Sistemas Biológicos*. Tese (Doutorado em Física) - Universidade Estadual de Campinas.
- Vivas, M. (2012) *Melhoramento genético do mamoeiro visando resistência à pinta preta, mancha-de-phoma e oídio*. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas.) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF, 135p.

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

A redução do número de folhas dos genótipos 'UENF/CALIMAN01' por ASM, não interferiu na produção de frutos final.

O ASM pode ser indicado no controle da pinta preta do mamoeiro, independente do genótipo e no controle da mancha de phoma para o genótipo 'UENF/CALIMAN01'.

O fungicida Azoxystrobin controlou a mancha de phoma para 'Golden' e 'Tainung', não diferindo do ASM.

O controle de *S. caricae* dos produtos testados variou com o genótipo, onde para os genótipos 'Golden' e 'UENF/CALIMAN01' o produto mais indicado no controle foi o fungicida Bordasul, e para 'Tainung' o ASM. Observou-se efeito antagônico do ASM com a resistência genética em 'Golden' e 'UENF/CALIMAN01' e Bordasul para 'Tainung'.

As aplicações de ASM resultaram em maior firmeza da casca dos frutos de 'Golden' e 'Tainung'.

Não houve interferência dos produtos utilizados na produção de frutos e na quantidade de sólidos solúveis totais (°Brix) neste estudo.

Não se verificou alterações no perfil fotoacústico na faixa espectral das ceras (350 – 350 nm).

Houve diferenciação na separação das fases do sinal fotoacústico para pigmentos (clorofila e carotenos) as doses de ASM, no genótipo 'Golden'.

Na dose testada de a 0,03g i.a/L de ASM, não se observou sintomas de fitotoxidez ou alterações na produção e na qualidade dos frutos, mesmo após um ano de aplicações quinzenais deste produto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abritta, T., Cella, N., Vargas, H. (1989) A photoacoustic study of  $\text{LiAl}_5\text{O}_8$  doped with several percent of iron(III) , *Chem.Phys.Lett.*, 161: 62.
- Adams, M.J., Beadle, B.C., King, A.A., Kirkbright, G.F. (1976) Analytical acoustic spectroscopy. Part II. Ultraviolet and visible optoacoustic spectra of some inorganic, biochemical and phytochemical samples. *Analyst*, 101: 553–561.
- Agrianual 2011: *Anuário da agricultura brasileira: Mamão*. São Paulo: FNP, 2011. p. 325-332.
- Agrios, G. N. (2005) *Plant Pathology*. 5 ed. San Diego: Elsevier Academic Press. p.207-248.
- Anderson, A.J. (1988) Elicitors, the hypersensitive response and phytoalexins. IN: Keen, N.T.; Kosuge, T. & Walling, L.L. (Ed.). *Physiology and biochemistry of plant-microbial interactions. The american society of plant physiologists*. 103-109.
- Asmar, S.A.; Abreu, C.M.P.; Lima, R.A.Z.; Corrêa, A.D.; Santos, C.D. (2010) Firmeza de mamão tratado com 1-MCP em diferentes tempos de exposição. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 34, (2): 440-444.
- Baldera-Lopez, J.A., Acosta-Avalos, D., Alvarado, J.J., Zelaya-Angel, Sánchez-Sinencio F., Falcony C., Cruz-Orea, A., Vargas H. (1995) Photoacoustic Measurements of transparent liquid samples: thermal effusivity, *Meas.Sci. Technol.*, 6:11-63.

- Barja, P. R. and Mansanares, A. M.(1998) - Photosynthetic energy storage and oxygen evolution Determined through an open photoacoustic cell technique', *Instrumentation Science & Technology*, 26 (2): 209-219.
- Batistuzzo, J.A.O., Itaya, M., Eto, Y. (2002) *Formulário médico-farmacêutico*. Tecnopress, São Paulo, p. 550.
- Benato, E. A. (1999) Controle de doenças de pós-colheita em frutas tropicais. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 25: 90-93.
- Bergamin Filho, A., Kimati, H. (1997) Doenças do mamoeiro *Carica papaya* L. In:
- Bonatti, P.M. , Lorenzini, G., Fornasiero, R.B., Nali, C., Sgarbi, E. (1994) Cytochemical detection of cell wall bound peroxidase in rust infected broad bean leaves. *Journal of Phytopathology*, Berlin, 140: 319-325.
- Campbell, C.L.; Madden, L.V. (1990) Introduction to plant disease epidemiology. New York: J. Wiley, cap.6, p.113-118.
- Castro, R.M. (2003) Bion® - A Experiência Brasileira. *Summa Phytopathologica*, 29 (1): 117.
- Cavalcanti, F.R., Resende, M.L.V., Zacaroni, A.B., Ribeiro Jr., P.M., Costa, J.C.B & Souza, R.M. (2006) Acibenzolar-S-Metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra a mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). *Fitopatologia Brasileira* 31:372-380.
- Cavalcanti, L.S., Brunelli, K.R., Stangarlin, J.R. (2005) Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In. Cavalcanti, L.S., Di Piero, R.M., Cia, P., Pascholati, S.F., Resende, M.L.V., Romero, R.S. (Eds.) *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*. Piracicaba: FEALQ, p. 81-124.
- Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Revista Hortifruti Brasil: [www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil](http://www.cepea.esalq.usp.br/hfbrasil) em 23/02/12 página mantida pelo CEPEA.
- César, C.L., Vargas, H., Pelzl, J., Miranda, L.C.M. (1984) Phase resolved photoacoustic microscopy: Application to ferromagnetic, layered samples. *J. Appl. Phys.*, 55: 3460.
- Chester, K.S. (1933) The problem of acquired physiological immunity in plants. *Q. Rev. Biol.*, 8: 275-324.
- Chiacchio, F.P.B. (1985) *Doenças em fruteiras: mamão*. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 11: 27-30.
- Cornelissen, B.J.C. Melchers, L.S. (1993) Strategies for control of fungal diseases with transgenic plants. *Plant Physiology*, Rockville, 101: 709-712.

- Côté, F., Cheong, J.J., Alba, R., Hahn, M.G. (1995) Characterization of binding proteins that recognize oligoglucoside elicitors of phytoalexins in soybean. *Physiologia Plantarum*, 93: 401 - 10.
- Dantas, S.A.F.; Oliveira, S.M.A.; Bezerra Neto, E.; Coelho, R.S.B.; Silva, R.L.X.; (2004) Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. *Summa Phytopathol.*, 30 (3): 314-319.
- Delgado; Vassalo, O.; Marín, E. (1999) The application of the photoacoustic technique to the measurement of the thermal diffusivity of liquids. *J. Phys. D. Appl. Phys.* 32: 593-597.
- Dickman, M. B.; Alvarez, A. M. (1983) Latent infection of papaya caused by *Colletotrichum gloeosporioides* *Plant Disease*. 67: 748-750.
- Dietrich, R.; Ploss, K.; Heil, M. (2005) Growth responses and fitness costs after induction of pathogen resistance depend on environmental conditions. *Plant, Cell and Environment*, Oxford, 28.(2) 211-222.
- Ellis, M.B., Holliday, P. (1972) *Asperisporium caricae*. *CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria*, 347: 1– 2.
- Euclides, R. F. (1983) Sistema para Análise Estatísticas e Genéticas (SAEG) - Manual provisório. CPD/UFV, Divisão de Pesquisa e Desenvolvimento, Viçosa, MG, 74p.
- Fernandes, C.F.; Júnior, J.R.V.; Silva, D.S.G.; Reis, N.D. (2009) Mecanismos de defesa de plantas contra ataque de agente fito patogênicos. Embrapa. Centro de pesquisa agroflorestal de Rondônia. Porto Velho, RO.
- Ferri, M.G. (2004) *Fisiologia Vegetal*, 2 ed. São Paulo, Editora EPU, 362 p.
- Forbes-Smith, M. (1999) Induced resistance for the biological control of postharvest diseases of fruit and vegetables. *Food Australia*, North Sydney, 51 (8): 382-385.
- Franzener, G.; Stangarlin, J.R.; Schwan-Estrada, K.R.F.; & Cruz, M.E.S. (2003) Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata* *Acta Scientiarum. Agronomy*. Maringá, 25 (2): 503-507.
- Fric, F. (1976) Oxidative enzymes. In: Heitefuss, R., Williams, P. H. (Ed.) *Physiological Plant Pathology*, Berlin, Springer, 617-631.
- Friedrich, L.; Lawton, K.; Ruess, W.; Masner, P.; Specker, N.; Gut Rella, M.; Meier, B.; Dincher, S.; Staub, T.; Uknes, S.; Métraux, J.-P.; Kessman, H.; Ryals, J., A (1996) benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. *The Plant Journal*, 10 (1): 61-70.
- Gaspar, T.H., Penel, C., Thorpe, T., Greppin, H. (1982) *Peroxidases 1970-1980*. Geneva, Universidade de Geneva, Centro de Botanique, 324 p.

- Gäumann, E. (1946) *Pflanzliche Infektionslehre*. Basel: Birkhäuser
- Gayler, S. et al. (2004) Modelling the effect of environmental factors on the “trade off” between growth and defensive compounds in Young Apple trees. Springer Berlin / Heidelberg. *Trees*. 18: 363-371.
- Guzzo, S.D., Harakava, R., Kida, K., Martins, E.M.F., Roveratti, D. S. (1999) Proteção de cafeeiros contra *Hemileia vastatrix* por cloreto de benzalcônio (composto de amônio quaternário). *Summa Phythopatologica*, 25: 339-345.
- Guzzo, S.D. (2003) Proteínas relacionadas à patogênese. In: Luz, W. C. (Eds.) *Revisão Annual de Patologias de Plantas*. 11: 283-332.
- Hammerschmidt, D.; Dann, E.K. Induced resistance to disease. (1997) In: Rechicgl, N. A., Rechicgl, J.E. (Ed.) *Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control*. Boca Raton: CRC – Lewis Publishers, p. 177-199.
- Hammerschmidt, R. (1999) Phytoalexins: what have we learned after 60 years? *Annual Review Phytopathology*, Palo Alto, 37: 285-306.
- Heitefuss, I (1982) General review of active defense mechanisms in plant against pathogens. In: WOOD, R.K.S. Active defense – mechanisms in Plants. NATO advanced study. New York: *Plenum Press*, 37: 30 .
- Holliday, P. (1980). *Fungus diseases of tropical crops*. Cambridge, Cambridge University Press, 607.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br) em 23/02/2012 página mantida pelo IBGE.
- Jacomino, A.P.; Trevisan, M.J.; Arruda, M.C. de; Kluge, R.A. (2007) Influência do intervalo entre a colheita e a aplicação do 1-metilciclopropeno no controle do amadurecimento de mamão. *Revista Brasileira de Fruticultura*, Jaboticabal, 29, (3).
- Jakab, G.; Cottier, V.; Toquin, V.; Rigo, G.; Zimmerli, L.; Métraux, J.-P.; Mauch-Mani (2001), B. b- Aminobutyric acid-induced resistance in plants. *European Journal of Plant Pathology*, 107: 29-37.
- Kerbauy, G.B. (2004) *Fisiologia Vegetal*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 452 p.
- Kombrink, E., Somssich, I.E. (1995) Defense responses of plants to pathogens. In: *Advances in Botanical Research* , Academic Press Limited, 21: 1- 34.
- Kuc, J. (1976) Phytoalexins and the specificity of plant-pathogen interaction. (Wood R K S & Graniti A. eds.) *Specificity in plant disease*. New York: *Plenum Press*. 253-71.

- Kuhn, O. J. (2007) *Indução de resistência em feijoeiro (Phaseolus vulgaris) por acibenzolar-S-metil e Bacillus cereus: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de produção*. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Piracicaba - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - ESALQ, 140 p.
- Larcher, W. (2000) *Ecofisiologia Vegetal*. São Carlos: RiMa.
- Leeman, M., Pelt, J.A.V., Ouden, F.M.D., Heinsbroek, M., Bakker, P.A.H.M., Schippers, B. (1995) Induction of systemic resistance by *Pseudomonas fluorescens* in radish cultivars differing in susceptibility to *Fusarium* wilt, using a novel bioassay. *Eur j plant pathol*, 101: 655-664.
- Liberato, J.R., Tatagiba, J.S., Zambolim, L., Costa, H. (1999) Fitotoxicidade de Fungicidas Triazois ao Mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 24: 112-113.
- Lima G A R, Baesso M L, Arguello Z, Silva E C, Vargas H e Miranda L C M (1987) "Phase-Resolved Photoacoustic Spectroscopy Application to Metallic-Ion-Doped-Glasses" *Phys. Rev.* 36: 9812.
- Lindsay, W.P.; Lamb, C.J. & Dixon, R.A. (1993) Microbial recognition and activation of plant defense systems. *Trends Microbiol.* 1: 181-187.
- Liu, L., Kloepper, J.W. & Tuzun, S. (1995) Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria: duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology*, 85: 1064 – 1068.
- Logemann, E.; Wu, S. C.; Schröder, J.; Schmelzer, E.; Somssich, I. E.; Hahlbrock, K. (1995) Genge activation by UV light, fungal elicitor or fungal infection in *Petroselinum crispum* is correlated with repression of cell cycle-related genes. *Plant Journal. oxford.* 8: 865-878.
- Luna, J.V.U. (1986) Variedades de mamoeiro. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 12 (134): 14-17.
- Lyon, G.D. & Newton, A.C. (1999) Implementation of elicitor mediated induced resistance in agriculture. In: Agrawal, A.A.; Tuzun, S. & Bente, E. (Ed.). *Induced plant defenses against pathogens and herbivores – biochemistry, ecology, and agriculture*. Saint Paul, APS press, p.299-318.
- Malkin R, Niyogi K (2000) Photosynthesis. In: Buchanan B, Gruissem W, Jones R (Eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville MD. American Society of Plant Physiologists. pp. 568-628.
- Manandhar, H.K., Jorgensen, H.J.L., Mathur, S.B. & Smedegaard-Petersen, V. (2000) Induced resistance against rice blast. In: Tharreau, D., Lebrun, N.H., Talbot, N.J. & Notteghem, J.L. (Eds.) *Advances in Rice Blast Research*. Dordrecht. Kluwer Academic Publishers. pp. 93-104.

- Manica, I. (1982) *Fruticultura tropical: 3. Mamão*. São Paulo: Agronômica Ceres. 276p.
- Manica, I.; Martins, D. dos S.; Ventura; J.A. (2006) *Mamão: tecnologia de produção, pós-colheita, exportação, mercados*. Ed. Cinco Continentes, 361p.
- Mansfield, J.; Bennett, M.; Bestwick, C. & Woods-Tör, A. (1997) Phenotypic expression of gene-for-gene interaction involving fungal and bacterial pathogens: variation from recognition to response. In: Crute, I.R.; Holub, E.B. & Burdon, J.J. (Ed.). *The gene-for-gene relationship in plant-parasite interactions*. Wallingford, CAB International, p.256-291.
- Marin, S.L.D.; Gomes, J.A.; Salgado, J.S.; Martins, D.S.; Fullin, E.A. (1995) *Recomendações para a cultura do mamoeiro dos grupos 'Solo' e 'Formosa' no Estado do Espírito Santo*. 4. ed. rev. ampl. Vitória: EMCAPA, 57p. (Circular Técnica, 3).
- Marschner, H. (1986) Relations hip between mineral nutrition and plant disease and pests. In: Marschner, H. ed Mineral nutrition of higher plants. London. Academic Press. p. 369-390.
- Mauch-Mani, B.; Métraux, J.-P. (1998) Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. *Annals of Botany*, 82 (5): 535-540.
- McDonald, F.A. & Wetsel, G.C. (1978) Generalized theory of the photoacoustic effect. *J.Appl. Phys*, 49: 2313–2322.
- Melo, W. L. B. *Contribuições às técnicas de espectroscopias fototérmicas e aplicações a materiais poliméricos*. 1992. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos, SP.
- Melo, W. L. B.; Lóio, D.A.;Fialho L.L.; Silva, W.T.L.; Neto, L.A *espectroscopia fotoacústica como técnica para o monitoramento do processo de compostagem*. 2009 (Comunicado Técnico, 108) – EMBRAPA instrumentação agropecuária, São Carlos SP.
- Metraux, J.P.; AHL GOY, P.; STUAB, T.; SPEICH, J.; STEINMANN, A.; RYALS, J.; WARD, E. (1991) Induced systemic resistance in cucumber in response to 2,6-dichloroisonicotinic acid and pathogens. In: HENNECKE, H.; VERMA, D.P.S. (Eds). *Advances in Molecular Genetics os Plant-Microbe Interections*,1: 432-439.
- Misaghi IJ (1982) *Physiology and biochemistry of plant pathology interaction*. New York NY. Plenum Press.
- Mohammadi, M., Kazemi, H. (2002) Changes in peroxidase and polyphenol oxidases activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated wich *Fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Science*, Amsterdam, 162: 491-498.

- Moraes, W.B.C. (1992) Controle alternativo de fitopatógenos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 27: 175-190.
- Moraes, M.G. (1998) Mecanismo de Resistência Sistêmica Adquirida em Plantas, *Revisão Anual Patologia de Plantas* 6: 261-284.
- Morton JF (1987) Papaya. In: Morton JF (Ed) *Fruits of Warm Climates*, Creative Resource Systems, Inc., Miami, FL, p.336-346
- Müller, K.O., & H. Börger (1940) Experimentelle untersuchugen uber die Phytophthora - resistenz der kartoffel. *Arbeiten der Biologischen Reichsaustalt, Land-und Forstwirtschaft*, 23: 189 – 231.
- Nascimento, R.J. (2009) *Caracterização de espécies de Colletotrichum associadas às podridões em frutos de mamoeiro*. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Recife – PE, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 89 p.
- Nishijima, W.T. (1999) Diseases of papaya. American Phytopathological Society. [www.apsnet.org/online/ common/names/papaya.asp](http://www.apsnet.org/online/common/names/papaya.asp). em 22/02/12.
- Nojosa, G.B.A. (2003) Uso de silicates e fosfitos na indução de resistência. *Summa Phytopatológica*, 209 (1).
- Obradovic, A.; Jones, J. B.; Momol, M. T.; Olson, S. M.; Jackson, L. E.; Balogh, B.; Guven, K.; Iriarte, F. B. (2005) Integration of biological control agents and systemic acquired resistance inducers against bacterial spot on tomato. *Plant Disease*, St. Paul, 89 (7): 712-716.
- Oliveira, M. D. de M.; Nascimento, L. C. (2009) Avaliação da atividade de indutores de resistência abiótica, fungicida químico e extratos vegetais no controle da podridão-negra em Abacaxi 'Pérola'. *Rev. Bras. Frutic.* [online]. 31, (1): 84-89.
- Oliveira EJ, Lima DS, Lucena RS, Motta TBN, Dantas JLL (2010) Correlações genéticas e análise de trilha para número de frutos comerciais por planta em mamoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45:855–862.
- Parker, J.G. (1973) Optical Absorption in Glass: Investigation Using an Acoustic Technique, *Appl. Opt.* 12: 2974-2977.
- Pascholati, S. F. (2003) Indução de resistência: opção para o controle de doenças de plantas no século XXI. *Summa Phytopathologica*, 29: 115 – 116.
- Pascholati, S. F., Leite, B. (1994) Mecanismos bioquímicos de resistência. In: Luz, W. C. (Ed.) *Revisão Anual de Patologia de Plantas*. Passo Fundo, 2: 1-52.
- Pascholati, S. F., Leite, B. (1995) Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: Bergamin Filho, A., Kimati, H., Amorim, L. (Ed.) *Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos*. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1: 417-454.

- Pascholat, S. F. (2003) Indução de resistência: opção para o controle de doenças de plantas no século XXI, *Summa Phytopathologica*, 29 (1): 115-116.
- Paulus, G., Muller, A. M., Barcellos, L. A. R. (2000) *Agroecologia aplicada: práticas e métodos para uma agricultura de base ecológica*. EMATER, Porto Alegre, p. 86
- Pereira, A.C., Zerbetto M., Silva G.C., Silva W.J., Vargas H., Neto G.O., Cella N. e Miranda L.C.M. (1992) OPC technique for in vivo studies in plant photosynthesis research. *Meas. Sci. Technol*, 3 (9): 931-934.
- Perondi, L. F.; Miranda, L. C. M. (1987) Minimal-Volume Photoacoustic Cell Measurements of Thermal Diffusivity: Effect of the Thermoelastic Sample Bending. *Journal of Applied Physics*. 62 (7) 2955-2959.
- Pessoa Jr O. (1985) “Aplicações de medidas de fase do efeito fotoacústico” Tese (Mestrado em Física) – Campinas – SP, IFGW-UNICAMP.
- Pessoa Jr., O.; César, C.L.; Patel, N.A.; Vargas, H.; Ghizoni, C.C. & Miranda, L.C.M. (1986) Two-Beam Photoacoustic Phase Measurement of the Thermal Diffusivity of Solids, *Journal of Applied Physics*, 59: 1316-1318.
- Reinbothe, S.; Reinbothe, C.; Parthier, B.; (1993) Methyl jasmonate-regulated translation of nuclear-encoded chloroplast proteins in barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Salome). *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, 268: 10606-10611.
- Resende, M. L. V., Machado, J. C. (2000) *Manejo de doenças em pós colheita de produtos vegetais*. Lavras: UFLA/FAEPE.
- Resende, M. L. V., Cavalcanti, F. R., Santos, F.S., Amaral, D. R., Ribeiro Júnior, Pedro Martins, Costa, J. C. B., Camilo, F. R., Ishida, A. K. N., Souza, R. M. (2007) Novos indutores de resistência contra doenças em cafeeiro, cacauieiro, algodoeiro e tomateiro: perspectivas de utilização. In: Universidade Federal de Viçosa (org) *Indução de Resistência em Plantas a Patógenos*. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora Ltda, p. 161-182.
- Rezende, J.A.M. & Francelli. (1997) Doenças do mamoeiro. IN: Kimati, H.; Amorim, L.; Bergamim Filho, A.; Camargo, L.E.A. & Rezende, J.A.M. (Ed). *Manual de Fitopatologia. Volume 02: Doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres.
- Ricklefs, R. E. (2003) *A Economia da Natureza*. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Rodrigues; A.A.C.; Bezerra Neto; E.; Coelho, R.S.B. (2006) Indução de resistência a *Fusarium oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em Caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada *Fitopatologia Brasileira*, Brasília 31 (5).
- Rosencwaig, A., Gersho, A. (1976) Theory of Photoacoustic. Effect with Solids. *J. Appl. Phys.*, 47: 64-69.

- Rousset, G., Lepoutre, F., Bertrand, L. (1983) Influence of thermoelastic bending on photoacoustic experiments related to measurements of thermal diffusivity of metals. *J. Appl. Phys.*, 54: 2383.
- Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willits, M. G., Molina, A., Steiner, H. Y., Hunt, M. D. (1996) Systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, 8: 1809-1819.
- Santos, P.H.D. (2011a) *Avaliação de produtos alternativos no controle da pinta preta em genótipos de mamoeiro Monografia (Graduação em Agronomia) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF, 36p.*
- Santos, P.H.D., Vivas, M., Silveira, S.F., Silva, J.M., Terra, C.E.P.S. (2011b) Elaboração e validação de escala diagramática para avaliação da severidade de oídio em folhas de mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, Botucatu, 37 (4): 215-217
- 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. (2008) Interação Planta Patógeno – *Fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular*. Piracicaba: FEALQ .227-248.
- Sheng, J. & Showalter, A.M. (1994) Plant cell wall structural proteins: regulated expression and roles in fungal infection. In: Petrini, O. & Ouellette, G.B. *Host wall alterations by parasitic fungi*. Saint Paul, APS Press, p.91-102.
- Silva, W. J.; Prioli, L. M.; Magalhães, A. C.; Pereira, A. C.; Vargas, H.; Mansanares, A. M.; Cella, N.; Miranda, L. C. M.; Alvarado-Gil, J. J. (1995) Photosynthetic O<sub>2</sub> evolution in maize inbred and their hybrids can be differentiated by open photoacoustic cell technique. *Plant Science* (Limerick), v. 104 (2): 117.
- Silva, L. H. C. P.; Resende, M. L. V.; Martins Júnior, H.; Campos, J. R.; Souza, R. M.; Castro, R. M. (2000) Épocas e modo de aplicação do ativador de plantas benzothiadiazole (BTH) na proteção contra a mancha-bacteriana do tomateiro. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, 18: 375-376, Suplemento.
- Silva, L. H. C. P., Resende, M. L. V. de. (2001) Resistência induzida em plantas contra patógenos. In: Silva, L.H.C.P.; Campos, J.R.; Nojosa, G.B.A. (eds.) *Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças*. Lavras: UFLA, p. 221 - 234.
- Silva, F. F. da; Pereira, M. G.; Ramos, H. C. C.; Damasceno Junior, P. C.; Pereira, T. N. S.; Ide, C. D. (2007) Genotypic correlations of morpho-agronomic traits in papaya and implications for genetic breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 7: 345-352.
- Singh, I. (1990). Papaya. *Oxford and IBH Publishing Co. Pvt Ltd*, New Delhi.

- Somssich, I. E.; Hahlbrock, K. (1998) Pathogen defense in plants: a paradigm of biological complexity. *Trends in plant science*, Kidlington, 3: 86-90.
- Stangarlin, J. R., Pascholati, S. F., Labate, C. A. (2000) Efeito de *Phaeoisariopsis griseola* na atividade de ribulose-1,5-bifosfato carboxilase-oxigenase (rubisco), clorofilase,  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase em cultivares de *Phaseolus vulgaris*. *Fitopatologia Brasileira*, 25: 59-66.
- Steiner, U. & Schönbeck, F. Induced Disease Resistance In Monocots. Pg 86-110. (1995) IN: Hammerschmidt, R. & Kuc, J. *Induced Resistance to Disease in Plants (Developments in Plant Pathology, Vol 4)*. Kluwer Academic Pub., Dordrech. 1995. 182p.
- Stevens, H.E. (1939) Papaya diseases. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society, Gainesville*, 52 (1): 57-63.
- Suzuki, M.S.; Zambolim, L., Liberato, J.R. (2007) Progresso de doenças fúngicas e correlação com variáveis climáticas em mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, 33 (2): 167-177.
- Taiz, L., Zeiger, E. (2006) *Plant Physiology*. 4 ed. Sinauer Associates: Sunderland, Massachusetts, 794p.
- Tavares, G. M. (2009) *Podridão do pé do mamoeiro: infestação em solos decultivo, controle alternativo com indutores de resistência e Trichoderma e avaliação dos mecanismos de defesa envolvidos*. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Recife – PE, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, 121p.
- Terra, C. E. P. S. (2009) *Avaliação de genótipos e indutores de resistência no controle da pinta preta do mamoeiro*. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, 71p.
- Trindade, A. V. (2000) *Frutas do Brasil - Mamão*. Produção: aspectos técnicos, 77p.
- Uphof, J.C.T.:(1925) Das Verhalten von Pucciniopsis caricae EARLE auf der Papaya (Carica papaya) in Florida. *Zeits. Pfl.-krankh.* 35 (3/4) : 118-122.
- Van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M. & Pieterse, C. M. J. (1998) Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36: 453-483.
- Van Loon, L. C., Van Strien, E. A. (1999) The families os pathogenenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, London, 55: 85-97.
- Vinha, C. A.. Aplicações de Ressonância Paramagnética Eletrônica e Espectroscopia Fotoacústica a Sistemas Biológicos. 1988. Tese (Doutorado em Física) – Campinas – SP Universidade Estadual de Campinas.

- Vivas, M., Terra, C.E.P.S., Silveira, S.F., Fontes, R.V., Pereira, M.G. (2010b) Escala diagramática para avaliação da severidade de pinta preta em frutos de mamoeiro. *Summa Phytopathologica*, 36:161-163.
- Vivas, M.; Silveira, S.F.; Cardoso, D.L.; Pereira, M.G.; Vivas, J.M.S.; Ferreguetti, G.A. (2012) Capacidade combinatória em mamoeiro para resistência à oídio. *Bragantia*, 71 (4): 455-459.
- Vivas, M. (2012) Melhoramento genético do mamoeiro visando resistência à pinta preta, mancha-de-phoma e oídio. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas.) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do norte Fluminense - UENF, 135p.
- Walters, D.; Newton, A.; Lyon, G. (2007) *Induced resistance for plant defence – a sustainable approach to crop protection*. Oxford: Blackwell, 258p.