

Documentos

ISSN 1516-8107 **88**
Junho, 2014

Aspectos da Indução de Resistência em Plantas de Videira



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Uva e Vinho
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 88

Aspectos da Indução de Resistência em Plantas de Videira

*Fabio Rossi Cavalcanti
Vanessa Foresti Pereira
Pedro Martins Ribeiro Júnior*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Uva e Vinho

Rua Livramento, 515
95700-000 Bento Gonçalves, RS, Brasil
Caixa Postal 130
Fone: (0xx)54 3455-8000
Fax: (0xx)54 3451-2792
<http://www.cnpuv.embrapa.br>
cnpuv.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Mauro Celso Zanus*
Secretária-Executiva: *Sandra de Souza Sebben*
Membros: *Alexandre Hoffmann, César Luís Girardi, Flávio Bello Fialho, Henrique Pessoa dos Santos, Kátia Midori Hiwatashi e Viviane Zanella Bello Fialho*

Formatação: *Alessandra Russi*
Foto da capa: *Fabio Rossi Cavalcanti*
Normalização bibliográfica: *Luisa Veras de Sandes Guimarães*

1ª edição

1ª impressão (2014): 250 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Uva e Vinho

Cavalcanti, Fabio Rossi.

Aspectos da indução de resistência em plantas de videira / Fabio Rossi
Cavalcanti, Vanessa Foresti Pereira, Pedro Martins Ribeiro Júnior. – Bento
Gonçalves : Embrapa Uva e Vinho, 2014.
20 p. : il. Color -- (Documentos, 88).

ISSN 1516-8107

1. Viticultura. 2. Vitis Vinifera. 3. Controle integrado. 4. Praga de planta. 5.
Resistência. 6. Indução. I. Pereira, Vanessa Foresti. II. Ribeiro Júnior, Pedro
Martins. III. Título. IV. Série.

CDD 634.8 (21. ed.)

Autores

Fabio Rossi Cavalcanti

Engenheiro Agrônomo, Dr.
Embrapa Uva e Vinho
Bento Gonçalves - RS
fabio.cavalcanti@embrapa.br

Vanessa Foresti Pereira

Engenheiro Agrônomo, Dra.
Coordenadora de Pesquisa
Empresa Agroteste
Lavras - MG
vanessaforesti@yahoo.com.br

Pedro Martins Ribeiro Júnior

Engenheiro Agrônomo, Dr.
Embrapa Semiárido
Petrolina - PE
pedro.ribeiro@embrapa.br

Apresentação

A videira (*Vitis vinifera*) durante todo o seu período vegetativo está sujeita a uma série de doenças, principalmente quando cultivada em condições climáticas favoráveis a estas. Doenças fúngicas como o míldio (*Plasmopara viticola*), as podridões cinzenta (*Botrytis cinerea*) e da uva madura (*Colletotrichum gloeosporioides*) provocam grandes perdas na produção e, frequentemente, tornam-se fatores limitantes ao cultivo, se medidas de controle adequadas não forem adotadas. Convencionalmente, o controle dessas doenças é realizado por meio de agrotóxicos que, frequentemente são utilizados de forma indiscriminada, afetando negativamente o meio ambiente e a saúde do produtor e do consumidor.

Atualmente, a sociedade está cada vez mais preocupada com as questões ambientais e com o consumo de produtos mais seguros. Esse fato vem fazendo com que o setor produtivo busque tecnologias alternativas mais sustentáveis que reduzam ou mesmo substituam o uso de agrotóxicos na agricultura. Estas tecnologias têm que apresentar baixa ou nenhuma toxidez, tanto ao homem quanto ao meio ambiente e que ofereçam produtos agrícolas mais seguros aos consumidores. Uma tecnologia alternativa promissora muito estudada atualmente é a indução de resistência, que consiste na ativação de respostas de defesa latentes das plantas por meio de agentes bióticos ou abióticos.

Nesta perspectiva, a série documentos nº 88 intitulada "Aspectos da Indução de Resistência em Plantas de Videira" apresenta em linhas gerais envolvendo os processos naturais de reconhecimento dos patógenos pelas plantas, a ativação de respostas de defesa nas plantas por eliciadores e alguns resultados experimentais pelo uso de eliciadores em videira contra alguns patógenos fúngicos.

Mauro Celso Zanus

Chefe Geral da Embrapa Uva e Vinho

Sumário

Aspectos da Indução de Resistência em Plantas de Videira..	9
Introdução.....	9
Aspectos da Resistência de Planta que Valem para a Videira.....	10
Como uma Planta Pode Perceber a Presença de um Microrganismo Patogênico?.....	11
Como a Planta de Videira Pode Responder à Elicitação?.....	13
Alguns Indicadores Experimentais de IR em Videira Realizados pela Equipe..	15
Fosfitos.....	18
Considerações Finais.....	20
Referências.....	21
Agradecimentos	21

Aspectos da Indução de Resistência em Plantas de Videira

Fabio Rossi Cavalcanti
Vanessa Foresti Pereira
Pedro Martins Ribeiro Júnior

Introdução

Um dos principais problemas associados ao cultivo da videira (*Vitis vinifera* L.) é a incidência de doenças de copa, a destacar-se o míldio (*Plasmopara viticola*) e as podridões cinzenta (*Botrytis cinerea*) e da uva-madura (*Colletotrichum gloeosporioides*), que causam perdas principalmente no cacho. A planta de videira é considerada uma das principais frutíferas produzidas em todo o mundo (KELLER, 2010), e, devido ao fato de os produtos do processamento da uva estarem fortemente associados a determinadas variedades mais tradicionais suscetíveis a doenças (como 'Pinot Noir' e 'Chardonnay' para vinhos), o uso de copas mais resistentes tem sua adoção limitada pelos produtores, por causa da baixa aceitação dessas variedades pelo mercado (JACKSON, 2008). Além disso, impõem-se cada vez mais, dentro dos sistemas de cultivo da videira, restrições de ordem ambiental para o uso do controle químico por pesticidas sintéticos convencionais, tanto por causa do aparecimento de isolados resistentes de patógenos, que exigem esquemas cada vez mais complicados de aplicação de fungicidas, como devido às restrições impostas pelas indústrias ligadas à vitivinicultura e pelos consumidores em geral.

Nesse contexto, a ativação controlada de um sistema inato de defesa contra patógenos (ou resistência basal), conservado, virtualmente, em todas as plantas superiores, apresenta-se como uma alternativa potencial para o desenvolvimento de novas estratégias de reforço de proteção de cultivos. Tais estratégias devem estar mais inseridas em um contexto de manejo integrado de pragas e doenças (MIP), pois as defesas vegetais tendem a produzir convivência com outro organismo, e não sua erradicação. Embora carentes de um sistema de defesa imunológico, se comparados a animais superiores, os vegetais possuem um vasto aparato de defesa estrutural e bioquímico capaz de deter a invasão da maioria dos microrganismos que entram em contato com seus tecidos e que teriam o potencial de causar danos.

A própria topologia da célula vegetal e a constituição de seus tecidos favorecem uma função física e química de proteção. Por exemplo, a parede celular primária, constituída de celulose, hemicelulose e pectina, é uma barreira pré-formada que dificulta a entrada de patógenos. A parede celular pode ser reforçada pela deposição de lignina, no caso de formação de parede secundária, ou pela impregnação por sílica, cutina suberina e ceras. Tricomas tectores ou glandulares constituem-se em estruturas morfológicas de proteção de plantas (FREEMAN; BEATTIE, 2008; LAZNIIEWSKA et al., 2012). Paralelamente, substâncias químicas pré-formadas (glicosinolatos e glicosídeos cianogênicos), tóxicas ou potencialmente tóxicas ao microrganismo podem estar disponíveis nos tecidos ou ser modificadas ou sintetizadas, a partir do momento em que ocorrer o contato com um patógeno invasor. Esses elementos químicos, pré-formados ou induzidos, podem ser metabólitos

primários, que são moléculas envolvidas no crescimento, desenvolvimento e reprodução da planta (proteínas, carboidratos, aminoácidos e ácidos nucleicos); ou metabólitos secundários, como terpenoides, fitoalexinas e alcaloides, que são sintetizados por um metabolismo que tenha finalidades mais específicas (MA; YAMAJI, 2006; AHUJA et al., 2012).

Aspectos da Resistência de Planta que Valem para a Videira

Duas respostas de interação entre qualquer planta e um parasita invasor (patógeno) podem ser observadas: i) uma resposta compatível, quando existe desenvolvimento de lesões e o estabelecimento de doença; e ii) uma interação incompatível, que ocorre quando há muito pouca ou nenhuma doença. Embora um determinado genótipo (base de alelos que determina o fenótipo da “variedade”) de uma espécie de planta possa ser um hospedeiro suscetível para um determinado isolado (raça) da espécie de microrganismo patogênico, outros genótipos da mesma planta podem ser capazes de reconhecer o mesmo patógeno e limitar a doença, através de respostas de defesa (em uma interação incompatível), manifestando resistência. Portanto, a resistência de planta a doenças existe como um contínuo que vai desde a “imunidade”, quando há completa ausência de sintomas visíveis da doença, até uma característica de “altamente suscetível”, cujos sintomas são resultados visíveis de deformações profundas no tecido, que chegam a comprometer as funções básicas da planta (FREEMAN; BEATTIE, 2008).

No entanto, mesmo as plantas consideradas suscetíveis a um determinado patógeno possuem potencial biológico para responder ao ataque, por meio de mecanismos químicos de defesa. O que ocorre na interação compatível é que o microrganismo patogênico mostra uma capacidade de não se fazer perceptível pela planta, ao mesmo tempo em que mobiliza rapidamente ferramentas de ataque, determinantes de patogenicidade (enzimas como celobiohidrolases, poligalacturonases etc.) e fatores de virulência (toxinas como AAL e fumonisinas), os quais são eficazes para digerir as barreiras constitutivas do tecido vegetal e construir o seu sítio de parasitismo (MENDGEN et al., 1996). Curiosamente, genes da própria planta também podem ser induzidos à expressão por microrganismos patogênicos, para facilitar a sua invasão e correta construção do seu sítio de parasitismo. Um exemplo estudado é o do oídio em *Arabidopsis*, cujo agente possivelmente induz a atividade de pectato liase (PMR6) e a síntese de calose (PMR4), visando ao amolecimento da matriz de parede celular após a penetração e ao isolamento da área colonizada pelo fungo (HOLUB; COOPER, 2004).

De modo conservado, as plantas superiores têm a capacidade de responder a estímulos químicos, produzindo moléculas tóxicas a microrganismos invasores. Compostos sintéticos como o ácido salicílico (SA), ácido 2,6-dicloro-isonicotínico (INA), ésteres do ácido S-metil-benzo (1,2,3)-tiadiazol-7-carbotioico (BTH), entre outros, são capazes de induzir uma resposta coordenada de resistência sistêmica adquirida (*systemic acquired resistance*, SAR) na célula vegetal que esteja próxima (local) ou distante (sistêmica) dos pontos de contato com a substância, ou com a adesão e penetração de um patógeno (CAVALCANTI et al., 2007). Uma resposta de SAR é caracterizada principalmente pela expressão de genes relacionados à patogênese que codificam PR-proteínas (*pathogenesis related proteins*, PRPs). Muitas PRPs manifestam atividade antifúngica direta ou outro tipo de envolvimento em um processo de defesa celular. A expressão diferencial de quitinases (um grupo específico de PRPs que hidrolisa a quitina da parede celular fúngica) é usada para comprovar respostas de SAR em plantas de videira inoculadas com *P. viticola* (BUSAM et al., 1997). Os autores também sustentam que a expressão de genes da rota dos fenilpropanoides em videira é induzida por ativadores da SAR e sugere uma função para as enzimas fenilalanina amônia-liase (PAL), 3-O-metiltransferase do trans-cafeoil-CoA (CCoAOMT) e estilbeno sintase (STS) dentro do sistema de defesa da planta de videira, sendo que a CCoAOMT possivelmente esteja associada a uma modulação positiva na pré-disposição dos tecidos à síntese de lignina, para o enrijecimento e reforço de paredes celulares.

Na videira, o metabolismo de fenólicos parece ter um papel importante nas respostas de defesa (KASHIF et al., 2012). Os compostos fenólicos, livres ou poliméricos, representam uma grande classe de metabólitos secundários produzidos pela planta, com uma função intrínseca de defesa. São sintetizados na célula vegetal

principalmente pela via do ácido chiquímico e pela do malonil-CoA, e incluem uma ampla variedade de compostos relacionados à defesa, como flavonoides, antocianinas, fitoalexinas isoflavonoides (medicarpina, ristidina, camalexina etc.), taninos e lignina (KASHIF et al., 2010; AHUJA et al., 2012), compostos que podem ter toxidez direta ou uma função de barreira para a penetração do patógeno.

Outro tipo de resistência, conhecida como resistência sistêmica induzida (*induced systemic resistance*, ISR), é induzida por bactérias (do gênero *Pseudomonas*) não patogênicas de raízes e produz aumento de resistência em todas as partes da planta. Curiosamente, as respostas ISR são independentes do metabolismo de SA (ou da sua aplicação exógena) e da expressão de genes de PRPs, o que requer, nesse caso, a participação de elementos reguladores da fisiologia da planta, como o ácido jasmônico (JA) e o etileno (HEIL; BOSTOCK, 2002). Ao longo dos anos de estudos envolvendo os mais diversos patossistemas, verificou-se que respostas de defesa envolvendo JA e etileno parecem ser mais efetivas contra organismos que produzem necroses e injúria, como insetos, herbívoros e patógenos necrotróficos, ao contrário do parasitismo causado por fungos biotróficos (ferrugens e oídios) (KEMEN; JONES, 2012), que parecem ser combatidos pela planta por meio de respostas do tipo SAR (GLAZEBROOK, 2005; PIETERSE et al., 2009).

Outra linha de defesa, fundamental para respostas de imunidade, é a Resposta Hipersensível (*hypersensitive response*, HR), que pode ser acionada na resistência de não-hospedeiro (MYSORE; RYU, 2004; GINDRO et al., 2012). A HR – macro ou microscópica – pode ser caracterizada pela sinalização de “suicídio” celular nas áreas de contato com um patógeno no curso de um processo de parasitismo. Embora dramática, se comparada com as ferramentas acima comentadas, que compõem a resistência basal, a HR pode limitar a disseminação do patógeno pela planta, por meio do “sacrifício” de poucas células, pois isso impediria o desenvolvimento de novas lesões e o fechamento do ciclo de vida do patógeno no tecido hospedeiro, com o conseqüente impedimento da produção e lançamento de conídios. É importante salientar que a HR é rigorosamente regulada nos eventos moleculares e celulares que a caracterizam (HEATH, 1998). A HR é uma resposta de defesa tipicamente mais específica a uma determinada raça do patógeno do que a uma resistência basal (metabolismo de fenil-propanoides, fitoalexinas, SAR, ISR etc.), podendo ser ativada por bactérias, fungos, vírus e nematoides. Isso ocorre quando tais patógenos sintetizam e introduzem no interior do tecido hospedeiro produtos de genes de avirulência raça-específicos, efetores que são reconhecidos pelas células vegetais no início do processo de parasitismo. Em estudos com *Arabidopsis*, como resposta adicional à HR, eventos de SAR mediados por SA e dependentes de luz puderam ser observados em células vizinhas e distantes de um sítio de inoculação viral, com o intuito de que a planta atingisse um estado de “alerta” para o risco de novas infecções em outros pontos do tecido (CHANDRA-SHEKARA et al., 2006).

Algumas proteínas vegetais essenciais para a resistência de não-hospedeiro já foram identificadas, como, por exemplo, uma proteína de ligação à membrana plasmática de cevada (MLO), requerida para a resistência a *Magnaporthe grisea*; proteínas de reconhecimento de parasitas (RPS4 e RPS5) em *Arabidopsis*, capazes de se ligar a determinantes de avirulência em patovares de *Pseudomonas* de leguminosas; fatores de regulação de defesa (EDS1, SGT1b, HSP70 e HSP90), localizados no citoplasma; e uma proteína *syntxin-like* (PEN1), possivelmente envolvida no tráfego de vesículas de secreção de substâncias antimicrobianas, na defesa de *Arabidopsis* e de plantas de cevada à penetração de *Blumeria graminis* (oídio) (HOLUB; COOPER, 2004).

Como uma Planta Pode Perceber a Presença de um Microrganismo Patogênico?

Plantas possuem um evoluído sistema de “vigilância”, capaz de perceber e reconhecer microrganismos patogênicos para, rapidamente, coordenar defesas celulares e impedir que se estabeleça uma infecção. Os patógenos secretam e entregam proteínas ativas na região de interface celular da planta hospedeira, que podem tanto atuar na degradação das barreiras constitutivas (camadas de ceras, lamela média e parede celular), como podem ser ligantes que interagem com receptores internos à célula hospedeira ou ancorados na membrana (VASCONSUELO; BOLAND, 2007; PANSTRUGA; DODDS, 2009). Um finíssimo balanço de

interações proteína-proteína do patógeno e do hospedeiro (e a rapidez com que o hospedeiro reagir com defesa) irá determinar se o parasita será bem-sucedido no estabelecimento das relações de parasitismo – obtenção de água e nutrientes, em detrimento da integridade biológica do hospedeiro – e na conclusão do seu ciclo de vida, com produção de estruturas viáveis de disseminação. Ou, caso contrário, se a planta irá prontamente detectar o patógeno e impedir o seu estabelecimento em seus tecidos (BENT; MACKEY, 2007).

Na verdade, os eventos de reconhecimento vão além de interações proteína-proteína. Outros padrões de moléculas também podem ser percebidos, como por exemplo, fragmentos de polissacarídeos de parede celular de planta (*damage-associated molecular pattern*, DAMP) e de fungo, que podem ser reconhecidos por receptores de padrões moleculares associados a patógeno (*microbe-associated molecular pattern*, MAMP). Isso faz sentido, pois, na luta bioquímica que se processa entre o patógeno e o hospedeiro, os produtos de degradação de barreiras poliméricas podem ser justamente resíduos oligoméricos de parede, resultantes da interação de ataque e defesa entre os dois atores vivos do parasitismo. Ao mesmo tempo, patógenos podem secretar proteínas para “manipular” as respostas de defesa do hospedeiro, em geral, suprimindo-as parcial ou totalmente. Essas proteínas efetoras (como a siringolina e a coronatina bacterianas) apresentam sinais aminoterminais de secreção que são reconhecidos tanto por receptores do apoplasto como por receptores internos à célula vegetal, por mecanismos ainda não bem estabelecidos (BENT; MACKEY, 2007; BOLLER; FELIX, 2009). De modo intrigante, por exemplo, a coronatina, uma fitotoxina secretada por *P. syringae*, possui uma estrutura química que mimetiza a ação de JA no sistema de defesa vegetal, em geral, regulando negativamente respostas dependentes de SA (HOGENHOUT et al., 2009).

Numerosos trabalhos, envolvendo genética e biologia molecular, revelaram que os eventos de percepção do patógeno podem ser agrupados em dois tipos: i) aqueles ativados por MAMPs conservados entre espécies de um grupo microbiano; e ii) aqueles iniciados por efetores provenientes de isolados de um mesmo patógeno ou imunidade ativada por efector (*effector-triggered immunity*, ETI) (JONES; DANGL, 2006; PIETERSE et al., 2009; DRY et al., 2010). Efetores de patógenos são reconhecidos por receptores de proteínas do tipo NBS-LRR cognatos intracelulares, que são tipicamente polimórficos entre indivíduos de uma mesma espécie; uma estrutura genética complementar planta/patógeno garante a percepção da raça de um mesmo patógeno. Assim, a soma de receptores NBS-LRR, em uma população de hospedeiros, traduz o repertório de percepção e reconhecimento em uma determinada espécie de planta, para uma determinada proteína efetora. Esse é o fundamento biológico de, por exemplo, linhas diferenciadoras da raça fisiológica de um patógeno, para uma espécie de planta hospedeira. Historicamente, genes codificando pares complementares de um efector do patógeno e um receptor específico ao efector, presente em uma população de planta hospedeira, são designados por genes de avirulência (Avr) e genes de resistência (R), respectivamente (JONES; DANGL, 2006; BENT; MACKEY, 2007).

Diferentemente da percepção do efector por ETI, a capacidade de detectar uma molécula MAMP é usualmente conservada entre indivíduos de uma espécie, e mesmo entre espécies de planta distantes filogeneticamente. Como já comentado anteriormente, MAMPs são *elicitors* capazes de ser reconhecidos por receptores de células parenquimáticas do hospedeiro, e capazes de disparar defesas associadas à resistência basal da planta – a chamada Indução de Resistência (IR). Moléculas elicitoras (*elicitors*) de IR já foram demonstradas e têm uma natureza molecular variada, incluindo glicoproteínas (criptogeína, elicitor Pgt em trigo), peptídeos (Avr9, sisteminas, flg22), proteínas (harpinas), glicolipídios (siringolidas) e oligossacarídeos fragmentos de parede celular (oligossacarídeos derivados de quitina), os quais podem ser aleatoriamente encontrados em extratos de tecido vegetal lesionado ou filtrados fúngicos (CAVALCANTI et al., 2007; BOLLER; FELIX, 2009).

Inúmeros trabalhos de pesquisa (exemplos em videira no tópico seguinte) já possibilitaram evidenciar a ativação da SAR por meio de pulverização de substâncias conhecidas como “ativadores de planta”, derivadas de elicitors. Em algumas culturas, como, por exemplo, a de hortaliças, tais substâncias já são adotadas por produtores envolvidos com sistemas de cultivo que visem a minimizar o uso de pesticidas, devido a sua fácil inserção dentro das premissas de agricultura orgânica ou da agricultura baseada em MIP. Pacotes como Bion® 50WG (BTH, derivado de SA, Syngenta Proteção de Cultivos Ltd.), ProAct™ (harpina, Plant Health Care

Inc., EUA), ChitoPlant® (formulação de quitosana, ChiPro GmbH, Alemanha), Auxigro® WP (formulação com GABA, Emerald BioAgriculture), dentre muitos outros, são exemplos de produtos ativadores de IR registrados em países como Estados Unidos, Europa e Austrália.

No Brasil, o Bion® (BTH, derivado de SA, Syngenta) é, atualmente, o único produto registrado como indutor de resistência em plantas contra patógenos, sendo indicado para o controle de algumas doenças nas culturas de algodão, batata, cacau, citros, feijão, melão e tomate.

Alguns agentes de controle biológico que podem induzir resistência em plantas também estão registrados no Brasil, como o Serenade® (*Bacillus subtilis* QST 713, Basf SA), com resultados animadores em videira (dados ainda não publicados). Essa bactéria produz uma proteína (surfactina) capaz de ativar respostas de defesa, em plantas, contra patógenos. Além do Serenade, estão registrados, no Brasil, produtos à base de *Trichoderma*, como o Quality (*T. asperellum*), o Tricovab (*T. stromaticum*) e o Trichodermil SC 1306 (*T. harzianum*). Esse gênero de fungo é conhecido na literatura por ser capaz de induzir resistência em plantas.

Atualmente, no Brasil, produtos à base de nutrientes, como os fosfitos (fosfonatos ou derivados do ácido fosforoso), estão sendo amplamente utilizados na agricultura, pois, apesar de serem registrados como fertilizantes foliares, aparentemente possuem modo de ação duplo no controle de doenças de plantas, agindo diretamente sobre os patógenos e, também, indiretamente, induzindo respostas de defesa na planta (DALIO et al., 2012). A atuação direta dos fosfitos sobre o microrganismo patogênico ocorre pela formação de poros celulares, devido a danos na membrana e na parede celular da hifa, provavelmente causados, no caso da parede, por mudanças de transcrição em genes que codificam proteínas envolvidas na biossíntese de seus componentes e em outros pontos do metabolismo celular geral. Tais alterações comprometem a morfologia, a fisiologia e a esporulação do fungo, interferindo no processo de parasitismo (KING et al., 2010). O mecanismo indireto de ação dos fosfitos ocorre justamente devido ao estímulo de mecanismos de defesa vegetal (PANICKER; GANGADHARAN, 1999; DANIEL; GUEST, 2006).

Estão disponíveis no mercado diversas formulações de fosfitos indutores de resistência, de diversos fabricantes, sendo que os mais comercializados são os fosfitos de potássio, zinco e manganês. No entanto, no Brasil, os fosfitos são usualmente registrados como *fertilizantes*, porque, além de atuarem com essa finalidade, esse tipo de registro agiliza e barateia a inscrição do produto comercial. Comparativamente, o registro de defensivos agrícolas é tão moroso, burocrático e caro que, muitas vezes, empresas de pequeno porte não têm condições (ou interesse) de fazê-lo (Dr. Ribeiro Júnior, comunicação pessoal).

Como a Planta de Videira Pode Responder à Elicitação?

A maioria dos trabalhos em videira envolvendo IR usa, geralmente, os modelos do míldio (*P. viticola*) e podridão cinzenta do cacho (*B. cinerea*) para estudos de IR. Pulverizações de pré-colheita em bagas de cachos de 'Merlot', com BTH (0,3 mM), demonstraram eficácia na contenção da podridão cinzenta em até, aproximadamente, 40% dos casos (IRITI et al., 2004). Os autores observaram, por métodos envolvendo CLAE (HPLC), aumento na deposição de antocianinas, em particular três tipos de malvidina glicosilada, correlacionados com o aumento da proteção do cacho.

O ácido β -aminobutírico (BABA, um aminoácido não proteico) induziu resistência ao míldio na cultivar Chasselas (HAMIDUZZAMAN et al., 2005). Neste trabalho, os autores compararam o desempenho do BABA com outros indutores sintéticos, como JA, BTH e ABA, preocupando-se em elucidar pontos do metabolismo envolvido na defesa, por expressão de genes marcadores e por estudos de inibição que mostraram supressão da defesa mediada a BABA e JA por 2-deoxi-D-glicose (DDG), um inibidor da síntese de calose.

Em experimentos envolvendo sulfato de β -1,3 glucana (sulfato de laminarina, PS3), um elicitor de reações de defesa em *Arabidopsis* e fumo, foi demonstrada uma eficiência do MAMP na proteção de plantas

altamente suscetíveis de 'Marselan' ao míldio, em condições de casa de vegetação. Junto da proteção, foram evidenciados aumentos nos teores de H_2O_2 , na expressão de genes relacionados à defesa e à deposição de calose e fenólicos nos sítios de infecção. Neste trabalho, os autores também usam inibidores para marcar as rotas de defesa eficazes. Novamente, a inibição da sintase da calose por DDG quebra a defesa ativada por um elicitor, no caso, o PS3, assim como a inibição de lipoxigenase (LOX), por ácido 5,8,11,14-eicosatetraenoico (ETYA). De modo contrário, a inibição da PAL por ácido 2-aminoindano-2-fosfônico (AIP) não afetou a resposta de defesa e o índice de esporulação pôde atingir o mesmo nível do controle positivo, apenas pulverizado por PS3 (TROUVELOT et al., 2008). Experimentos mostrando a capacidade de oligoglucuronanas nativas e sulfatadas, como moléculas elicitoras, foram conduzidos recentemente num sistema videira x podridão cinzenta (CAILLOT et al., 2012).

Em outro trabalho, uma solução de oligogalacturonídeos (OGA) vegetais, com grau de polimerização médio de 11, ativou respostas de defesa em plântulas de videira 'Chardonnay' cultivadas em meio MS modificado e em suspensão de células. Foram realizadas determinações cinéticas de geração de H_2O_2 e monitoramento da expressão diferencial de nove genes associados à defesa, inclusive de PRPs. Ensaio de inibição da explosão oxidativa mediada a NADPH oxidase e de quinases de proteínas também foram conduzidos para elucidar pontos estratégicos da ativação de defesa, no metabolismo da planta. Os autores verificaram que OGA é capaz de elicitar diversas rotas de defesa que são mais eficientes, porém, apenas quando reações de explosão oxidativa não são inibidas (AZIZ et al., 2004). Acúmulo de resveratrol e expressão de genes associados à biossíntese de estilbenos foram verificados em culturas de células de *V. vinifera*, da cultivar Monastrell, a partir de efeitos combinados de ativação de defesa promovidos por ciclodextrinas e metil jasmonato (MeJA) (LIJAVETZKY et al., 2008).

Substâncias derivadas de quitina, como a quitosana, são capazes de inibir a germinação de conídios e o crescimento micelial de *B. cinerea*. Testes em plântulas cultivadas in vitro com uma emulsão coloidal de quitosana em gel, misturada ao meio nutriente, tiveram um efeito estimulante para o desenvolvimento da planta, com parâmetros fotossintéticos, e reduziram o desenvolvimento de *B. cinerea*. A quitosana em gel causou alterações citológicas sobre a hifa do patógeno. Aplicações foliares sobre as plântulas também causaram redução significativa na severidade de podridão cinzenta, por IR (AIT BARKA et al., 2004). Em outro trabalho, um composto heterogêneo de quitosana (Armour-Zen[®], Botry-Zen Ltd – Nova Zelândia), utilizado como tratamento foliar, mostrou alta eficiência na redução de diâmetro de lesões de podridão cinzenta (acima de 85%), em uvas 'Chardonnay'. Em experimentos de campo, o composto mostrou desempenho intermediário entre o cultivo desprotegido e o uso de fungicidas, em cultivares Chardonnay e Sauvignon Blanc (REGLINSKI et al., 2010).

É pertinente lembrar que a atividade antifúngica da quitosana segue uma correspondência com suas características físicas e químicas, como peso molecular (tamanho do polímero), grau de deacetilação, pH da solução e o alvo biológico (XU et al., 2007; ROMANAZZI et al., 2009). Adicionalmente às propriedades elicitoras da quitosana, um trabalho relata uma propriedade elicitora do sulfato de cobre em videira, no controle da podridão cinzenta e do míldio (AZIZ et al., 2006).

Talvez visando a uma estratégia baseada em reciclagem, subprodutos da indústria farmacêutica e cosmética já foram utilizados em estudos de ativação de plantas. Ramnolipídeos biossurfactantes, considerados MAMPs, produzidos por bactérias da espécie *Pseudomonas aeruginosa*, tiveram efeito protetivo em cultivo in vitro de videira, tanto como ativadores de uma resposta semelhante à HR, como por ação inibidora de germinação de conídios de *B. cinerea* (VARNIER et al., 2009).

Extratos e filtrados miceliais e vegetais também já foram avaliados. Por exemplo, extratos de micélio liofilizado de *Penicillium chrysogenum* (PEN) já foram evidenciados para proteger várias culturas de patógenos variados. Os MAMPs extraídos de PEN foram relatados a controlar oídio e míldio da videira, por meio de ativação de IR, já que não possuíam atividade antifúngica, a despeito de relatos de uma fitotoxidez em amostras mais concentradas (THUERIG et al., 2006). Um curioso trabalho, aproveitando o micélio de um

patógeno muito importante da videira – o ascomiceto mitospórico *Phaeoconiella chlamydospora* (Pch), associado à doença de Petri e esca da videira –, foi conduzido para testar a capacidade de indução de resistência de MAMPs contidos na biomassa fúngica autoclavada, em culturas de células de *V. vinifera*, da cultivar Vinhão. Foram verificados aumentos significativos de fenólicos após a elicitação com Pch, e mesmo um dramático aumento de aproximadamente vinte vezes nos teores de estilbenos (viniferina), com evidências de explosão oxidativa e aumento na expressão de genes associados à defesa (LIMA et al., 2012).

Agentes de biocontrole também podem ativar respostas de defesa, além do peculiar efeito de antibiose/competição sobre um patógeno. Em ensaios experimentais, foi evidenciada a participação de uma raça T39 de *Trichoderma harzianum* no controle de *B. cinerea* (em *Arabidopsis*) e *P. viticola* (em videira), por meio da ativação de metabolismos de defesa dependentes de etileno e JA, caracterizando uma resposta de ISR independente de SA (KOROLEV et al., 2008; PERAZZOLLI et al., 2011). Bactérias como *Pantoea agglomerans*, *Bacillus subtilis*, *Acinetobacter lwoffii* e *Pseudomonas fluorescens* já foram relatadas como passíveis de percepção pela planta e ativação de defesas da videira, por meio de biossíntese de estilbenos (trans-resveratrol e trans- ϵ -viniferina), explosão oxidativa e defesas associadas à ISR (VERHAGEN et al., 2011).

Um trabalho bastante citado aborda a capacidade de reprogramação metabólica, em termos de análise de transcritos por tecnologia GeneChip, de duas espécies de *Vitis*, *V. aestivalis* ('Norton', resistente) e *V. vinifera* ('Cabernet Sauvignon', susceptível), inoculadas com o fungo do oídio, *Erysiphe necator* (FUNG et al., 2008). O estudo revela que a resistência ao oídio evidentemente não está relacionada à ativação da resistência basal em videira, pois, contraditoriamente ao fenótipo, após a inoculação das plantas, foi relatada, entre 0 a 48 horas após a inoculação, a ativação da expressão de seiscentos e vinte e cinco transcritos (dentre eles EDS1, PR-1, PR-10, entre outras inserções associadas à IR) em 'Cabernet sauvignon', contra apenas três da variedade resistente, 'Norton'. Possivelmente, a ineficácia das respostas de defesa de *V. vinifera* esteja associada à mobilização insuficientemente rápida da resistência basal, após a inoculação do patógeno, o que impede que a IR funcione de modo a dificultar o processo do parasitismo do fungo e, ato-contínuo, reduzir o progresso da infecção. Porém, nesse trabalho, vislumbrou-se a capacidade de uma variedade susceptível de aclimatar uma resposta geral de IR, cujo potencial biológico pode ser utilizado por meio de elicitores, antecipadamente à infecção.

Alguns Indicadores Experimentais de IR em Videira Realizados pela Equipe

Com base em estudos preliminares, foi conduzido um trabalho que compara a eficácia da ativação de respostas de defesa inata (resistência basal) em planta de videira, de um extrato aquoso de tecido radicular de videira, densamente infectado pelo fungo causador do pé preto, *Cylindrocarpon destructans* (EPP), na máxima concentração possível (25% m/v), e uma suspensão finamente dividida de quitina deacetilada e deproteïnizada de *Aspergillus niger* (QASP, 20% p/v).

Na gênese dos tratamentos, sugeriu-se hipoteticamente que os mesmos tivessem uma quantidade biologicamente ativa de MAMPs solúveis, subprodutos de um processo agudo de parasitismo (o caso do EPP) e da presença de quitina deacetilada da parede celular de *A. niger*.

Para os experimentos de casa de vegetação, rebrotas de sessenta dias de *V. vinifera* 'Cabernet-Sauvignon' foram pulverizadas até o ponto de escorrimento com EPP, BTH (0,2 g L⁻¹), fosfito de potássio comercial (controle positivo, 200 mL 100 L⁻¹) e água destilada (controle negativo). Dois dias depois, folhas das plantas foram pulverizadas da mesma maneira com uma suspensão de 10⁵ esporângios mL⁻¹ de *P. viticola*. As plantas foram imediatamente transportadas para uma câmara de incubação regulada para 23-28°C e 95-100% de %UR, e arrançadas em blocos casualizados com três blocos e parcela experimental de seis plantas por repetição.

O progresso dos sintomas (Fig. 1) foi avaliado durante quarenta dias após a inoculação (DAI). Paralelamente, em laboratório, o talo e esporângios/conídios de *P. viticola* e *B. cinerea* foram expostos às substâncias testadas para determinação de atividade antimicrobiana direta. Foi verificado, ao fim do monitoramento, que os tratamentos BTH, EPP (Fig. 2) e QASP (AACPD = 741,9) produziram níveis intermediários, porém, significativos, de redução de progresso do míldio. Nenhuma das substâncias testadas apresentou efeito antifúngico sobre a germinação de esporângios e conídios, tampouco afetou o crescimento micelial de *B. cinerea*. Apesar de sua promissora ação na ativação de defesas da célula hospedeira (mais evidências à frente), o EPP, como veículo de MAMPs, perfaz um tratamento *protótipo*, não estando pronto para o seu uso na agricultura. Isso porque o EPP ainda possui uma função ativa como fonte de inóculo de *C. destructans*.



Fig. 1. Plantas de videira da cultivar Cabernet Sauvignon, com rebrotas de quarenta e cinco dias, foram pulverizadas com EPP (25%, p/v), BTH (0,2 g/L) e água destilada (Ctrl-). Dois dias depois, as plantas foram inoculadas com uma suspensão de 10^5 esporângios mL^{-1} de *P. viticola*. Sintomas do progresso de doença foram verificados 20 DAI. A) planta à esquerda, Ctrl-; à direita, BTH; B) planta à esquerda, Ctrl-; à direita, EPP.

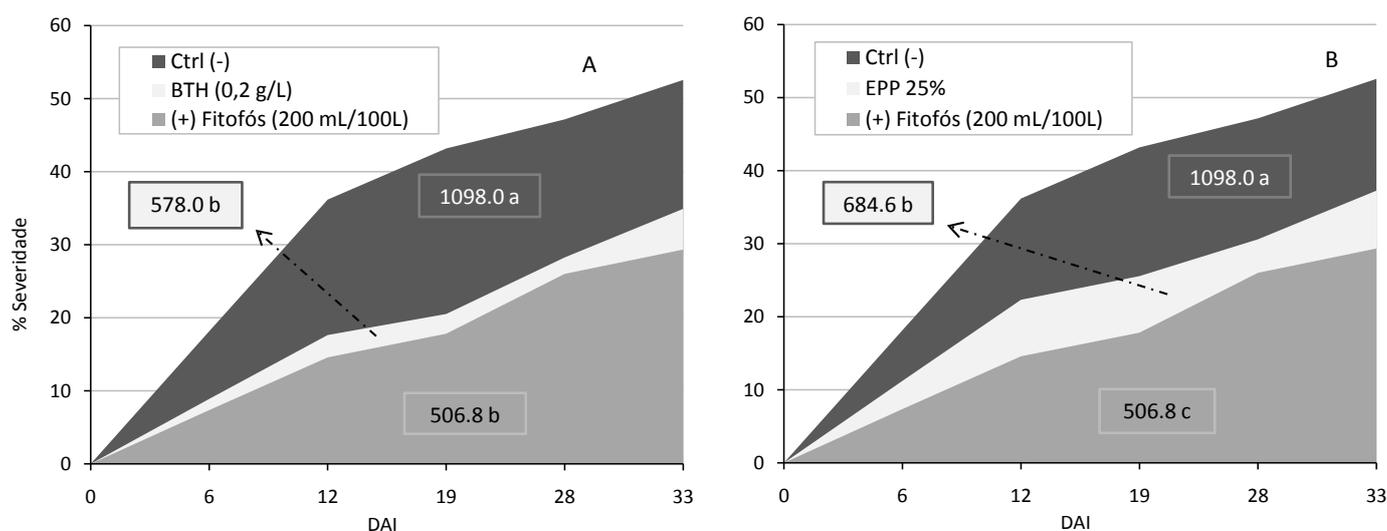


Fig. 2. Influência do BTH (A) e EPP (B) sobre o progresso do míldio em folhas da cultivar Cabernet Sauvignon, até trinta e três DAI. As substâncias BTH e EPP, Fitofós (Ctrl +) e água destilada (Ctrl-) foram pulverizadas sobre as folhas dois dias antes da inoculação. Para avaliação de severidade, foi utilizada a mesma escala adotada por Pereira et al. (2012). Letras minúsculas ao lado dos valores de AACPD, dentro das caixas, representam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Respostas de expressão do gene da sintase do estilbeno (VvStSy) e da β 1,3-glucanase (VvPR2), entre 0 e 72 horas após pulverização (HAP), obtidas por RT-qPCR associado ao método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ para determinação de expressões relativas, com o gene da β -actina como referência, mostraram um rápido e discreto incremento de respostas do gene da estilbeno sintase (STS), a seis e doze HAP, caindo logo após (Fig. 3). Para o gene da PR-2, não foram observadas diferenças significativas, dentro do intervalo estudado, considerando-se que as respostas da expressão gênica aos tratamentos BTH e EPP foram muito similares. Duas enzimas associadas à formação da lignina (polímero de derivados fenil-propanoides) foram observadas. Atividades de peroxidase de guaiacol (GPX) mostraram queda, a partir de doze HAP, com leve recuperação em setenta e dois HAP, em folhas tratadas com ambas as substâncias (Fig. 4A). Níveis de atividade polifenoloxidasas (PPO, difenolase), de modo contrário, aumentaram significativamente a seis e doze HAP, com oscilação entre vinte e quatro e setenta e dois HAP, para folhas expostas a EPP e BTH (Fig 4B). Resultados foram confirmados em zimogramas em géis de poliácridamida (dados não mostrados).

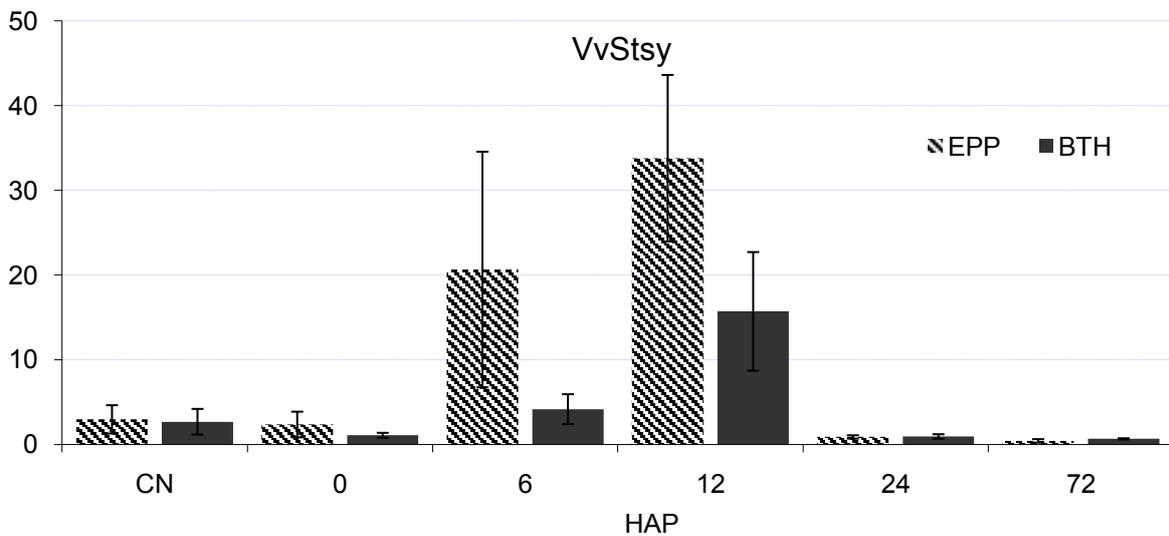


Fig. 3. Respostas de expressão do gene *VvStSy* da sintase do estilbeno (STS) entre 0 e 72 horas após pulverizações (HAP) com BTH e EPP, em folhas da cultivar Cabernet Sauvignon. Expressões relativas foram calculadas pelo método $2^{-\Delta\Delta Ct}$, tendo como gene de referência *VvACT*, para normalização dos valores de expressão. Testes não paramétricos de Kruskal-Wallis ($P < 0,01$) foram usados para avaliar o efeito da pulverização das substâncias sobre as respostas transcricionais.

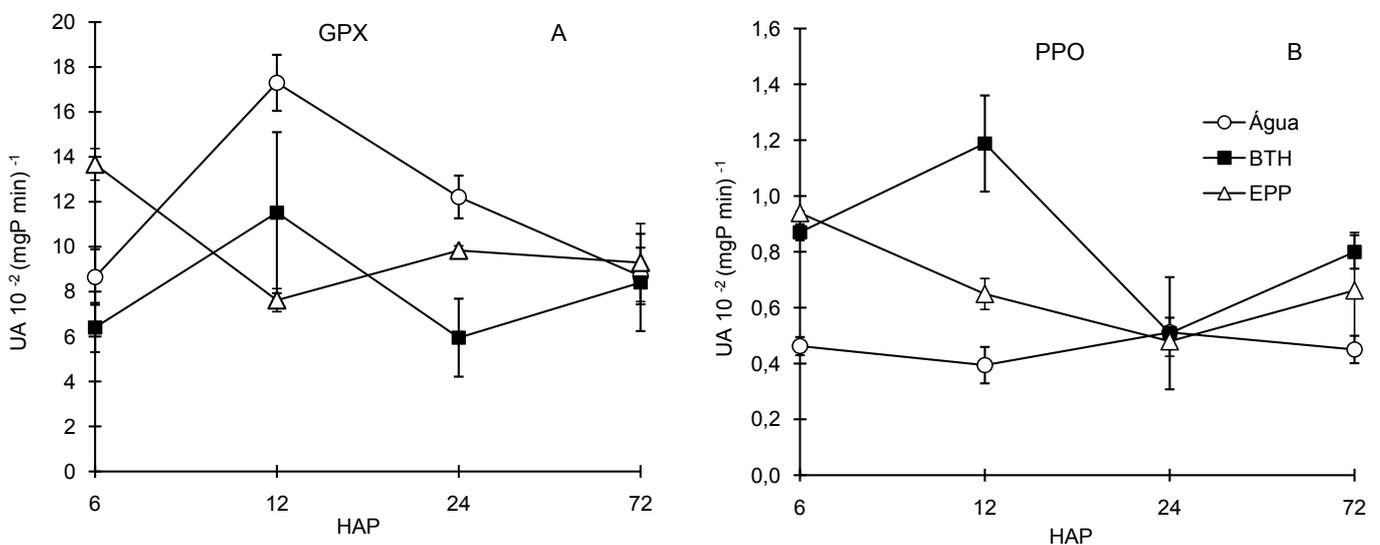


Fig. 4. Atividades de peroxidases (GPX), A, e polifenoloxidasas (PPO), B, em folhas de videira da cultivar Merlot. Respostas enzimáticas foram avaliadas 6, 12, 24 e 72 horas após pulverizações (HAP) com BTH e EPP. Barras de erros indicam o desvio padrão da média.

Com relação ao teor de lignificação em folhas a setenta e duas HAP, tanto amostras tratadas com BTH quanto com EPP mostraram uma resposta de acúmulo de lignina (Fig. 5), com queda no nível de fenóis solúveis totais, o que indica uma resposta de enrijecimento de parede. Em plantas, os processos de lignificação estão principalmente associados à atividade de peroxidases, que oxidam alcoóis derivados fenilpropanóides para formar subunidades de lignina que se acoplam também por ação da enzima (PASSARDI et al., 2005). No entanto, relatos do papel de peroxidases de videira em processos envolvendo estresse fisiológico, ou em resposta a elicitores, são relativamente inconclusivos (BARCELÓ et al., 2003). Assim, vislumbra-se, possivelmente, uma maior participação da polifenoloxidase de videira na montagem inicial de subunidades de lignina (MAYER; STAPLES, 2002).

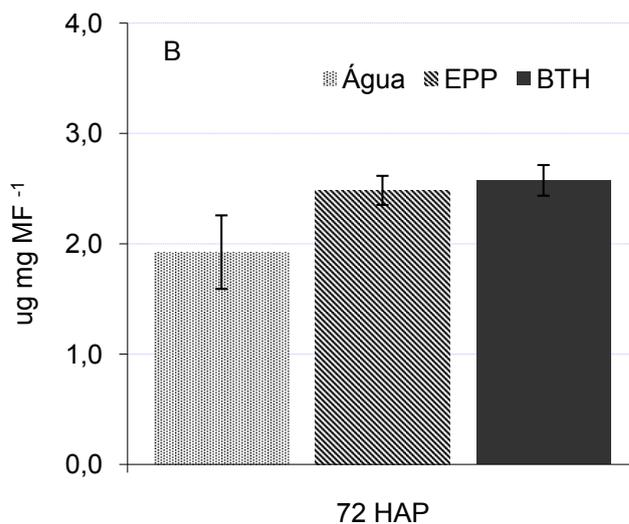


Fig. 5. Efeito de EPP (25% p/v) e BTH (0,2 g L⁻¹) sobre a deposição de derivados do ácido tioglicólico (lignina) em tecidos foliares de videira, da cultivar Merlot, 72 horas após pulverizações (HAP).

Fosfitos

Em ensaios de campo, conduzidos no Núcleo Tecnológico da Epamig, em Caldas, MG, foram avaliadas duas formulações de fosfitos de potássio para proteção de plantas de videira, da cultivar Merlot, contra o míldio, sendo a produtividade associada ao esquema de proteção e parâmetros físico-químico de uvas (PEREIRA et al., 2012). Na safra de 2010/2011, foi observado um aumento na produtividade de parcelas protegidas por fosfito de potássio (PhiB, 340 g P₂O₅ L⁻¹; 240 g K₂O L⁻¹), que passou de 0,16 para 1,93 Kg, um aumento de 3,47 vezes (Fig. 6). Nessas áreas protegidas por aplicação de PhiB, na dose de 2,1 g P₂O₅ L⁻¹, da diluição 6,0 mL L⁻¹, foi observada, na safra de 2010/2011, a redução de 60% na área abaixo da curva de progresso da severidade do míldio (AACPSD) (Fig. 6). Outras variáveis importantes foram alteradas por aplicação de PhiB, como a massa média de cachos, que promoveu um aumento de 2,45 vezes de um valor transformado de raiz quadrada (de 18,0 para 47,4 g cacho⁻¹, aumento nominal de quase seis vezes) com relação à testemunha. Os sólidos solúveis totais medidos nos mostos das uvas colhidas na safra de 2010/2011 não sofreram grande alteração pela imposição do tratamento com PhiB (Fig. 6).

Com o objetivo de evidenciar a ação do PhiB como ativador de respostas metabólicas de defesa da célula hospedeira, um outro ensaio foi conduzido em condições de casa de vegetação, usando-se mudas de três meses de idade, da cultivar Merlot, enxertadas sobre porta-enxerto 1103P, clone 519. Foram utilizadas duas formulações de fosfito de potássio aplicadas na dose de 6 mL L⁻¹, a primeira formulação (Phi A) contendo 280 g L⁻¹ de K₂O e 420 g L⁻¹ de P₂O₅, e a segunda (Phi B) contendo 240 g L⁻¹ de K₂O e 340 g L⁻¹ de P₂O₅, além do BTH na dose de 0,4 g L⁻¹ e de uma testemunha sem pulverização. No experimento, foram monitorados o efeito desses produtos na severidade da doença, na liberação de zoósporos de esporângios de *P. viticola*, e a atividade das enzimas peroxidase de guaicol (POX), polifenoloxidase (PPO), quitinase

(CHI) e β -1,3-glucanase (GLU), além dos teores de fenóis solúveis totais e de lignina nos tecidos foliares das mudas de videira. Os teores de fenóis solúveis totais não foram influenciados pelos tratamentos com fosfitos de potássio e BTH, em nenhuma das épocas avaliadas. Entretanto, aos 13 DAP das mudas com o BTH, inoculadas e não inoculadas com *P. viticola*, e em plantas tratadas com PhiB, observou-se um aumento nos teores de lignina. Paralelamente, PhiB induziu aumentos de 1,53, 1,52 e 1,71 vezes na atividade (UA mg P⁻¹ min⁻¹ dia⁻¹) enzimática de PPO, POX e CHI em tecidos foliares, respectivamente, em comparação às respostas das testemunhas (Fig. 6). Essas evidências sustentam um papel do PhiB como indutor de respostas de defesa vegetal em 'Merlot'.

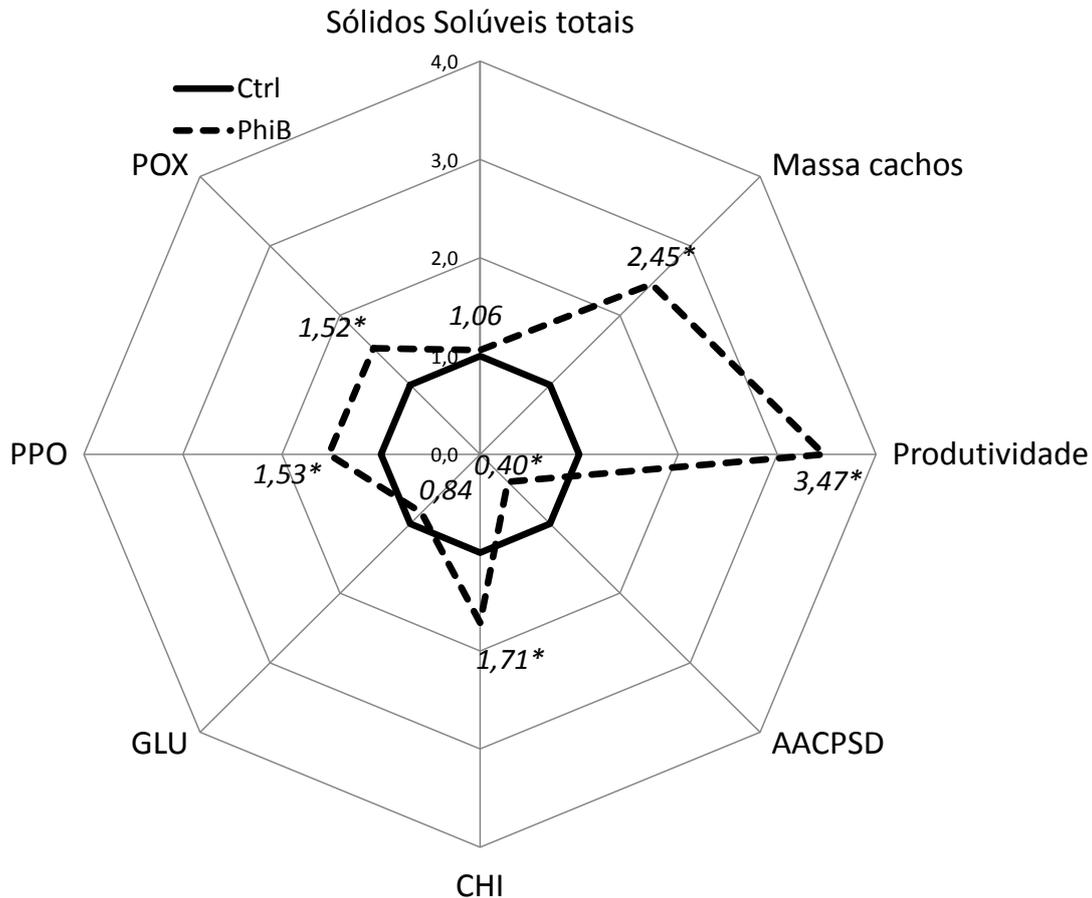


Fig. 6. Perfis representando razões entre as respostas das diversas variáveis estudadas para o tratamento com fosfito de potássio (PhiB, 340 g P₂O₅ L⁻¹; 240 g K₂O L⁻¹) e amostras controle (Ctrl) provenientes de plantas de videira testemunhas da cultivar "Merlot", admitidas em um nível de referência 1,00. As variáveis avaliadas em parcelas experimentais na Epamig Uva e Vinho, na safra de 2010/2011, foram: sólidos solúveis totais de mosto (°Brix); massa de cachos (g); produtividade (kg parcela⁻¹); e área abaixo da curva de progresso do míldio (AACPSD). Ensaios em casa-de-vegetação forneceram amostras para análises de enzimas do metabolismo de defesa da planta, a partir de folhas de videira da cultivar Merlot. As enzimas estudadas foram peroxidase (POX), polifenoloxidasas (PPO), quitinases (CHI) e β -1,3-glucanases (GLU), cujas atividades foram definidas como UA mg P⁻¹ min⁻¹ dia⁻¹. Asteriscos (*) indicam diferenças significativas (P < 0,05), pelos testes de Scott-Knott e Dunnett.

Considerações Finais

A indução de resistência vegetal é, essencialmente, um evento bioquímico.

A agricultura que utilize intensamente defensivos acaba por impor uma maior pressão de seleção de patógenos resistentes ao princípio ativo. Esses indivíduos, por sua vez, voltam a concluir seus ciclos de vida e a ter habilidade de buscar a quebra de resistência em plantas cultivadas que sejam seus hospedeiros, o que dificulta o controle da doença.

Diante disso, a busca por métodos alternativos de controle de doenças de plantas, baseados na ativação de respostas de defesa vegetal, vem se tornando cada vez mais interessante e frequente, e essa evolução é incentivada pelo consumidor, que possui a voz para demandar uma maior qualidade e segurança dos alimentos.

Produtos capazes de induzir resistência vegetal surgem, de forma promissora, como uma alternativa sustentável a alguns defensivos tradicionalmente utilizados. Esses produtos ou compostos, além de reforçarem a proteção de plantas contra patógenos, apresentam, em geral, baixa ou nenhuma toxidez ao ambiente e aos seres humanos.

A indução de resistência em plantas tem potencial para ser uma medida complementar para o controle de doenças da videira. A IR tem, provavelmente, um bom potencial para compor esquemas de manejo integrado de doenças na cultura da videira, aliada a outras medidas de proteção de planta em sistemas orgânicos ou convencionais.

Pesquisas envolvendo indução de resistência em videira já apresentam um lastro considerável de resultados convertidos em pacotes de proteção envolvendo IR. Alguns já são aplicados na vitivinicultura com resultados satisfatórios, como acontece com o caso dos fosfitos. No entanto, é evidente o vasto campo ainda em aberto no que tange à descoberta de novas moléculas ativas e mecanismos de ativação de rotas de defesa celular, em plantas de videira.

Agradecimentos

Ao CNPq e à Pró-Reitoria de Pós-Graduação da Universidade Federal do Ceará (UFC), pela anuência e concessão da transferência institucional dos equipamentos associados a projetos coordenados pelo primeiro autor, da UFC para a Embrapa Uva e Vinho, conforme DOU Nº 81 de 29 de abril de 2011, que tornou possível a realização dessa pesquisa.

Aos laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular da Embrapa Uva e Vinho.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e à Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig).

Referências

- AHUJA, I.; KISSEN, R.; BONES, A. M. Phytoalexins in defense against pathogens. **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 2, p. 73-90, 2012.
- AIT BARKA, E.; EULLAFFROY, P.; CLEMENT, C.; VERNET, G. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. **Plant Cell Reports**, v. 22, p. 608–14, 2004.
- AZIZ, A.; HEYRAUD, A.; LAMBERT, B. Oligogalacturonide signal transduction, induction of defense-related responses and protection of grapevine against *Botrytis cinerea*. **Planta**, v. 218, p. 767–774, 2004.
- AZIZ, A.; TROTEL-AZIZ, P.; DHUICQ, L.; JEANDET, P.; COUDERCHET, M.; VERNET, G. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. **Phytopathology**, v. 96, p. 1188–1194, 2006.
- BARCELÓ, A. R.; POMAR, F.; LÓPEZ-SERRANO, M.; PEDREÑO, M. A. Peroxidase: a multifunctional enzyme in grapevines. **Functional Plant Biology**, v. 30, n. 6, p. 577 – 591, 2003.
- BENT, A. F.; MACKEY, D. Elicitors, effectors and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. **Annual Review of Phytopathology**, v. 45, p. 399-436, 2007.
- BOLLER, T.; FELIX, G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. **Annual Review of Phytopathology**, v. 60, p. 379-406, 2009.
- BUSAM, G.; JUNGHANNS, K. T.; KNEUSEL, R. E.; KASSEMAYER, H. H.; MATERN, U. Characterization and expression of caffeoyl-coenzyme A 3-O-methyltransferase proposed for the induced resistance response of *Vitis vinifera* L. **Plant Physiology**, v. 115, p. 1039–1048, 1997.
- CAILLOT, S.; RAT, S.; TAVERNIER, M-L.; MICHAUD, P.; KOVENSKY, J.; WADOUACHI, A.; CLÉMENT, C.; BAILLIEUL, F.; PETIT, E. Native and sulfated oligoglucuronans as elicitors of defence-related responses inducing protection against *Botrytis cinerea* of *Vitis vinifera*. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, p. 1728-1736, 2012.
- CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; CARVALHO, C. P. S.; SILVEIRA, J. T. A.; OLIVEIRA, J. T. A. An aqueous suspension of *Crinipellis perniciosa* mycelium activates tomato defence responses against *Xanthomonas vesicatoria*. **Crop Protection**, v. 26, p. 729-738, 2007.

CHANDRA-SHEKARA, A. C.; GUPTA, M.; NAVARRE, D.; RAINA, S.; RAINA, R.; KLESSIG, D.; KACHROO, P. Light-dependent hypersensitive response and resistance signaling against turnip crinkle vírus in *Arabidopsis*. **The Plant Journal**, v. 45, p. 320-334, 2006.

DALIO, R. J. D.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; RESENDE, M. L. V.; SILVA, A. C.; BLUMER, S.; PEREIRA, V. F.; OSWALD, W.; PASCHOLATI, S. F. P. O triplo modo de ação dos fosfitos em plantas. O triplo modo de ação dos fosfitos em plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 20, p. 206-243, 2012.

DANIEL, R.; GUEST, D. Defense responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathogen**, v. 67, p. 194-201, 2006.

DRY, I. B.; FEECHAN, A.; ANDERSON, A. M.; JERMAKOW, A. M.; BOUQUET, A. ADAM-BLONDON, A. F.; THOMAS, M. R. Molecular strategies to enhance the genetic resistance of grapevines to powdery mildew. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 16, p. 94-105, 2010.

FREEMAN, B. C.; BEATTIE, G. A. An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. **The Plant Health Instructor**. Disponível em <<http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/OverviewOfPlantDiseases.aspx>>. 2008. Acesso em: 19 dez 2012. DOI: 10.1094/PHI-I-2008-0226-01

FUNG, R. W. M.; GONZALO, M.; FEKETE, C.; KOVACS, L. G.; HE, Y.; MARSH, E.; McINTYRE, L. M.; SCHACHTMAN, D. P.; QIU, W. Powdery mildew induces defense-oriented reprogramming of the transcriptome in a susceptible but not in a resistant grapevine. **Plant Physiology**, v. 146, p. 236-249, 2008.

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

GINDRO, K.; BERGER, V.; GODARD, S.; VOINESCO, F.; SCHNEE, S.; VIRET, O.; ALONSO-VILLAVERDE, V. Protease inhibitors decrease the resistance of vitaceae to *Plasmopara viticola*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 60, p. 74-80, 2012.

HAMIDUZZAMAN, M. M.; JAKAB, G.; BARNAVON, L.; NEUHAUS, J. M.; MAUCH-MANI, B. B-aminobutyric acid-induced resistance against downy mildew in grapevine acts through the potentiation of callose formation and jasmonic acid signaling. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 18, p. 819-829, 2005.

HEATH, M. Apoptosis, programmed cell death and the hypersensitive response. **European Journal of Plant Pathology**, v. 104, p. 117-124, 1998.

HEIL, M.; BOSTOCK, R. M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annals of Botany**, v. 89, p. 503-512, 2002.

HOGENHOUT, S. A.; VAN DER HOORN, R. A. L.; TERAUCHI, R.; KAMOUN, S. Emerging concepts in effector biology of plant-associated organisms. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, n. 2, p. 115-122, 2009.

HOLUB, E. B.; COOPER, A. Matrix, reinvention in plants: how genetics is unveiling secrets of non-host disease resistance. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 5, p. 211-214, 2004.

IRITI, M.; ROSSONI, M.; BORGIO, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole enhances resveratrol and anthocyanin biosynthesis in grapevine, meanwhile improving resistance to *Botrytis cinerea*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4406-4413, 2004.

JACKSON, R. S. **Wine science: principles and applications**. 3. ed. Burlington (USA): Academic Press, 2008.

- JONES, J. D. G; DANGL, J. L. The plant immune system. **Nature**, v. 444, p. 323-329, 2006.
- KASHIF, A.; MALTESE, F.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. **Phytochemistry Reviews**, v. 9, p. 357-378, 2010.
- KASHIF, A.; MALTESE, F.; FIGUEIREDO, A.; REX, M.; FORTES, A. M., ZYPRIAN, E.; PAIS, M. S.; VERPOORTE, R.; CHOI, Y. H. Alterations in grapevine leaf metabolism upon inoculation with *Plasmopara viticola* in different time-points. **Plant Science**, v. 191-192, p. 100-107, 2012.
- KELLER, M. The science of grapevines: anatomy and physiology. Burlington (USA): Academic Press, 2010.
- KEMEN, E.; JONES, J. D. G. Obligate biotroph parasitism: can we link genomes to lifestyles? **Trends in Plant Science**, v. 17, n. 8, p. 448-457, 2012.
- KING, M.; REEVE, W.; VAN DER HOEK, M. B.; WILLIAMS, N.; McCOMB, J.; O'BRIEN, P.A.; HARDY, G. E. S. J. Defining the phosphate-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 284, n. 6, p. 425-435, 2010.
- KOROLEV, N.; RAV DAVID, D.; ELAD, Y. The role of phytohormones in basal resistance and *Trichoderma*-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. **Biological Control**, v. 53, n. 4, p. 667-683, 2008.
- LAZNIIEWSKA, J.; MACIOSZEK, V. K.; KONONOWICZ, A. K. Plant-fungus interface: the role of surface structures in plant resistance and susceptibility to pathogenic fungi. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 78, p. 24-30, 2012.
- LIJAVETZKY, D.; ALMAGRO, L.; BELCHI-NAVARRO, S.; MATÍNEZ-ZAPATER, J. M.; BRU, R.; PEDRENO, M. A. Synergistic effect of methyljasmonate and cyclodextrin on stilbene biosynthesis pathway gene expression and resveratrol production in Monastrell grapevine cell cultures. **BMC Research Notes**, v. 1, p. 132, 2008.
- LIMA, M. R. M.; FERRERES, F.; DIAS, A. C. P. Response of *Vitis vinifera* cell cultures to *Phaeoemoniella chlamydospora*: changes in phenolic production, oxidative state and expression of defence-related genes. **European Journal of Plant Pathology**, v. 132, p. 133-146, 2012.
- MA, J. F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, v. 11, p. 392-397, 2006.
- MAYER, A. M.; STAPLES, R. C. Laccase: new functions for an old enzyme. **Phytochemistry**, v. 60, p. 551-565, 2002.
- MENDGEN, K.; HAHN, M.; DEISING, H. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, p. 367-386, 1996.
- MYSORE, K. S.; RYU, C-M. Nonhost resistance: how much do we know? **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 2, p. 97-104, 2004.
- OSBOURN, A. E. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack. **The Plant Cell**, v. 8, p. 1821-1831, 1996.
- PANICKER, S.; GANGADHARAN, K. Controlling downy mildew of maize caused by *Peronosclerospora sorghi* by foliar sprays of phosphonic acid compounds. **Crop Protection**, v. 18, n. 2, p. 115-118, 1999.

