

**Aspectos morfofisiológicos, variabilidade genética e controle alternativo da  
*Alternaria alternata* f. sp. citri em tangerineira 'Dancy'****Morphophysiological aspects, genetic variability and alternative control  
*Alternaria alternata* f. sp. citri in 'Dancy' mandarin**

DOI:10.34117/bjdv6n11-465

Recebimento dos originais:08/10/2020

Aceitação para publicação:23/11/2020

**Andréa Celina Ferreira Demartelaere**Doutora em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB/CCA/Campus II)  
e Professora em Agroecologia

Instituição: Escola Técnica Estadual Senador Jessé Pinto Freire

Endereço: Rua Monsenhor Freitas, 648, Centro, CEP: 59586-000, Parazinho-RN, Brasil

E-mail: andrea\_celina@hotmail.com

**Luciana Cordeiro do Nascimento**Doutora em Fitopatologia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)  
e Professora Titular de Fitopatologia

Instituição: Universidade Federal da Paraíba (UFPB/CCA/ Campus II)

Endereço: Rodovia PB: 079, Km: 12, Caixa Postal: 66, CEP: 58.397-000, Areia-PB, Brasil

E-mail: luciana.cordeiro@cca.ufpb.br

**Hailson Alves Ferreira Preston**Doutor em Fitopatologia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)  
e Professor Adjunto em Fitopatologia

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN/EAJ)

Endereço: Rodovia RN 160, Km 03, S/N, CEP: 59280-000, Distrito de Macaíba-RN, Brasil

E-mail: hailson\_alves@hotmail.com

**Hilderlande Florêncio da Silva**

Doutoranda em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB/CCA/Campus II)

Instituição: Programa de Pós-graduação em Agronomia na Universidade Federal da Paraíba  
Centro de Ciências Agrárias - Campus II

Endereço: Rodovia PB 079, Km 12, Caixa Postal: 66, CEP: 58397-000, Areia-PB, Brasil

E-mail: hildafs@hotmail.com

**Edcarlos Camilo da Silva**

Doutorando em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB/CCA/Campus II)

Instituição: Programa de Pós-graduação em Agronomia na Universidade Federal da Paraíba  
Centro de Ciências Agrárias - Campus II

Endereço: Rodovia PB 079, Km 12, Caixa Postal: 66, CEP: 58397-000, Areia-PB, Brasil

E-mail: edcarloscamilo@bol.com.br

**Welka Preston**

Doutora em Agronomia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)  
e Professora Titular de Gestão Ambiental  
Instituição: Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN)  
Endereço: Rua Professor Antônio Campos, BR 110, S/N, Costa e Silva, CEP: 59600-000, Mossoró-RN,  
Brasil  
E-mail: welkapreston@hotmail.com

**Selma dos Santos Feitosa**

Doutora em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB/CCA/Campus II)  
e Professora do CST Agroecologia  
Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba - IFPB, Campus Sousa,  
PB  
Endereço: Rua Pres. Tancredo Neves, S/N, Jardim Sorrilândia, CEP: 58805-345,  
Distrito de São Gonçalo- PB, Brasil  
E-mail: selma.feitosa@ifpb.edu.br

**Roseano Medeiros da Silva**

Doutor em Fitotecnia pela Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA)  
e Professor Adjunta em Gestão Ambiental  
Instituição: Universidade do Estado do Rio Grande do Norte (UERN)  
Endereço: Rua Professor Antônio Campos, BR 110, S/N, Costa e Silva, CEP: 59600-000, Mossoró-  
RN, Brasil  
E-mail: roseanomedeiros@uern.br

**Tadeu Barbosa Martins Silva**

Doutor em Entomologia pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)  
e Professor Adjunto em Entomologia  
Instituição: Universidade Estadual do Piauí (UESPI)  
Endereço: Rua Almir Benvindo, S/N, CEP: 64860-000, Uruçuí-PI, Brasil  
E-mail: tadeubarbosa@urc.uespi.br

**Jefferson Jackson Muniz dos Santos**

Engenheiro Agrônomo pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)  
Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN/EAJ)  
Endereço: Rodovia RN 160, Km 03, S/N, CEP: 59280-000, Distrito de Macaíba-RN,  
Brasil  
E-mail: jeffersonmuniz@hotmail.com

**Jaltierly Bezerra de Souza**

Doutorando em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB/CCA/Campus II)  
Instituição: Programa de Pós-graduação em Agronomia na Universidade Federal da Paraíba  
Centro de Ciências Agrárias - Campus II  
Endereço: Rodovia PB 079, Km 12, Caixa Postal: 66, CEP: 58397-000, Areia-PB, Brasil  
E-mail: jaltierlytecseg@gmail.com

**RESUMO**

As tangerineiras destacam-se na fruticultura mundial e constitui o segundo grupo de frutas mais importante e competitiva na citricultura brasileira, com uma expressiva atividade econômica, sendo bastante apreciável pelo mercado consumidor por apresentar elevados teores de ácidos orgânicos, proteínas, lipídeos, vitaminas e compostos fenólicos. Apesar da importância sócio-econômica, verifica-se baixa produtividade principalmente na região Nordeste, em decorrência da mancha marrom de alternaria (MMA) (*Alternaria alternata* (Fr:Fr) Keissler f. sp. *citri*) na qual revela o principal entrave à continuidade da atividade citrícola para algumas espécies. Diante deste cenário, a busca por informações que elucidem os mecanismos de ação desse patógeno, a relação patógeno-hospedeiro, bem como, a variabilidade das populações, os fatores responsáveis por determinar o potencial de adaptação do organismo em diferentes condições ambientais são de grande importância para entender o patossistema e criar estratégias promissoras no controle da mancha marrom em tangerineiras com menos impacto ambiental, através da redução do uso de agrotóxicos e influenciando nos avanços da agricultura agroecológica. Portanto, o objetivo da presente revisão bibliográfica foi explanar sobre a influência dos diversos fatores relacionados ao cultivo *in vitro* sobre a fisiologia e a diversidade dos isolados de *A. alternata*, bem como, abordar as alternativas para o controle da mancha marrom de alternaria em tangerineira 'Dancy'. A fisiologia dos fitopatógenos e a diversidade genética possuem mecanismos de ação que são mutáveis de acordo com os fatores ambientais, entretanto as pesquisas com cultivo *in vitro* tem crescido, pois, as respostas provenientes do comportamento desses patógenos são extremamente importantes para os programas de melhoramento genético e também podem influenciar nas estratégias para o controle alternativo da mancha marrom de alternaria em campo ou na pós-colheita com intuito de reduzir o uso de agrotóxicos. Dentre estes métodos, os indutores de resistência, vêm se destacando por apresentarem eficiência no controle da MMA em tangerineiras e por serem praticamente atóxicos e não deixarem resíduos danosos à saúde humana e ao meio ambiente.

**Palavras-chave:** Mancha marrom, *Citrus tangerina*, Conídios, Agroecologia, Marcadores moleculares, Doenças pós-colheita.

**ABSTRACT**

Mandarin oranges stand out in the world fruit culture and constitute the second most important and competitive group fruits in Brazilian citrus, with significant economic activity, being quite appreciable by the consumer market for presenting high levels organic acids, proteins, lipids, vitamins and compounds phenolic. Despite the socio-economic importance, low productivity is verified mainly in the Northeast region, due to the brown spot of alternaria (MMA) (*Alternaria alternata* (Fr: Fr) Keissler f. sp. *Citri*) in which it reveals the main obstacle to continuity citrus activity for some species. Given this scenario, the search for information that elucidates the mechanisms of action of this pathogen, the pathogen-host relationship, as well the variability populations, the factors responsible for determining the organism's adaptation potential under different environmental conditions are great importance to understand pathosystem and create promising strategies to control brown spot in mandarin trees with less environmental impact, by reducing the use pesticides and influencing advances agroecological agriculture. Therefore, the aim present bibliographic review was to explain the influence various factors related to *in vitro* cultivation on the physiology and diversity of *A. alternata* isolates, as well as to address the alternatives for controlling the brown spot of alternaria on mandarin 'Dancy'. The physiology phytopathogens and genetic diversity have mechanisms action that are changeable according to environmental factors, however research with *in vitro* cultivation has grown, because the responses arising from the behavior of these pathogens are extremely important for breeding programs and they can also influence the strategies for the alternative control of the brown spot of alternaria in the field or in the postharvest in order to reduce the use of pesticides. Among these methods, resistance inducers have stood out for being efficient in controlling MMA in mandarin oranges and for being practically non-toxic and not leaving residues harmful to human health and the environment.

**Keywords:** Brown spot, *Citrus tangerine*, Conidia, Agroecology, Molecular markers, Postharvest diseases.

## 1 INTRODUÇÃO

As tangerineiras destacam-se na fruticultura mundial e constitui o segundo grupo de frutas mais importante e competitiva na citricultura brasileira, com uma expressiva atividade econômica, sendo bastante apreciável pelo mercado consumidor por apresentar elevados teores de ácidos orgânicos, proteínas, lipídeos, vitaminas e compostos fenólicos, além da facilidade de industrialização, relativa resistência e ampla adaptação das plantas as diferentes condições de clima e de solo (CITRICULTURA, 2020).

Apesar da importância sócio-econômica para a região Nordeste, verifica-se baixa produtividade em decorrência de doenças, destacando-se as causadas por fungos: gomose (*Pythophthora nicotianae*) Breda de Haan (*P. parasitica* Dastur), verrugose (*Elsinoe fawcetti*) (Bitanc. & Jenkins), mancha-preta dos citros (MPC) (*Guignardia citricarpa Phyllosticta citri-carpa* (McAlp. Van der Aa) e a mancha marrom de alternaria (MMA) (*Alternaria alternata* (Fr:Fr) Keissler f. sp. *citri*) os quais revelam o principal entrave à continuidade da atividade citrícola para algumas espécies (ROSSETI, 2014).

*A. alternata* é considerado um patógeno de crescimento micelial lento e baixa esporulação em meios de cultura convencionais, dificultando a produção do inóculo em grande escala (SILVA; TEIXEIRA, 2012). Entretanto, pesquisa realizada por Silva; Melo (1999), verificaram que, cada microrganismo, requer necessidades mínimas de nutrição necessária ao crescimento e esporulação, verificada notadamente quanto às concentrações de C, P e N, os tipos de fontes de vitaminas e micronutrientes, tornando fatores decisivos para o sucesso no crescimento das estruturas fúngicas em meios de cultura.

Além das condições do ambiente de desenvolvimento, cada microrganismo requer necessidades mínimas nutricionais ao seu crescimento e esporulação. Notadamente, a concentração de determinados nutrientes inseridos nos meios de cultura, luminosidade e temperatura que podem potencializar o crescimento micelial e produção de conídios em menor período de tempo (CRUZ; PRESTES; MACIEL, 2009).

A variabilidade genética de *Alternaria alternata* (Fr:Fr) Keissler, patótipos de *Citrus* spp. pode estar associada às condições do ambiente ‘*in vivo*’ ou ‘*in vitro*’ de desenvolvimento desses fungos. Sendo uma das principais causas das variações genéticas dentro de uma mesma população, influenciando no surgimento de novos genótipos e novas combinações genéticas que envolvem a fusão

de gametas, a recombinação de alelos durante o pareamento dos cromossomos homólogos, a segregação e a geração de descendentes viáveis (AZEVEDO, 2008; SANTOS, 2015).

Estudos sobre a fisiologia de fitopatógenos e a diversidade genética são extremamente importantes para a busca de informações que elucidem os mecanismos de ação desse fungo, a relação patógeno-hospedeiro, bem como, a variabilidade das populações, fatores responsáveis por determinar o potencial de adaptação do organismo às diferentes condições ambientais, bem como a agressividade dos isolados, o que pode implicar nos programas de melhoramento e nas estratégias no controle de doenças (GARCIA, 2013).

Considerando-se estratégias promissoras no controle de doenças, com menos impacto ambiental através da redução do uso de agrotóxicos, os avanços na agricultura agroecológica, visa a proteção de plantas através da indução de resistência, que ocorre por meio da ativação de genes que codificam diversas respostas da defesa vegetal, ativando os mecanismos através de agentes externos (indutores) bióticos ou abióticos (STANGARLIN *et al.*, 2011), podendo aumentar a produção e contribuir para atender à crescente demanda nacional e internacional e com produtos de alta qualidade.

Entretanto, o uso de produtos alternativos como as caldas, extratos vegetais, biofertilizantes e polímeros absorventes são de extrema importância dentro das práticas de manejo integrado no controle de doenças (GIONGO; MENDES; SANTOS, 2015).

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 meio ambiente (GIONGO; MENDES; SANTOS, 2015).

O uso de extratos vegetais de plantas, como exemplo o pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* (Benth)) Ducke, tem se mostrado viável ao considerar que os compostos secundários presentes na estrutura química dos mesmos, podem ter efeito inibitório sobre a ação de diversos patógenos, tornando um método eficiente, por ativar os mecanismos de defesa em frutos e em plantas (RICE, 1984).

A utilização da Quitosana<sup>®</sup> também se destaca como uma alternativa no manejo de doenças de plantas, por ser um polímero extraído do exoesqueleto de crustáceos, responsável pelo engrossamento da parede celular dos tecidos dos hospedeiros e formação de papilas que ocupam espaço intracelular com material fibrilar parcialmente impregnado com substâncias amórficas, que são compostos antifúngicos semelhantes aos fenóis e que induzem respostas de defesa (RODRIGUEZ *et al.*, 2015).

No controle biológico de doenças, o antagonista *Trichoderma* spp. têm sido bastante eficiente impedindo a colonização de patógenos nos frutos, além da produção de metabólitos tóxicos liberado pela ação do antagonista, que pode provocar alterações morfológicas e bioquímicas no vegetal, induzindo respostas de defesa (FREITAS, 2014).

A eficiência de estratégias de manejo no controle de doenças é claramente dependente da compreensão do patógeno e a sua dinâmica populacional (COSTA *et al.*, 2010). Por isso, estudos sobre variabilidade em populações de fungos pode constituir um importante instrumento de investigação.

Do ponto de vista evolutivo, a variabilidade genética das populações é importante para determinar o potencial de adaptação do organismo às diferentes condições ambientais e do ponto de vista epidemiológico, a variabilidade patogênica tem implicações diretas sob o manejo das doenças (SOUZA, 2015).

O objetivo da presente revisão bibliográfica foi explanar sobre a influência dos diversos fatores relacionados ao cultivo *in vitro* sobre a fisiologia e a diversidade dos isolados de *Alternaria alternata*, bem como, abordar as alternativas para o controle da mancha marrom de alternaria em tangerineira ‘Dancy’.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 ASPECTOS GERAIS DA CITRICULTURA**

De origem asiática, pertencente à família Rutaceae, Tribo Citreae e subtribo Citrinae (SWINGLE, 1967) os citros foram introduzidos no Brasil no período da colonização, provavelmente pela Bahia. E em seguida, houve uma rápida disseminação do cultivo para diversas regiões do país, graças às condições climáticas que permitiram que as plantas vegetassem de forma exuberante e obtivessem uma alta produtividade (MOREIRA, 1991).

O gênero *Citrus* apresenta grande importância econômica, podendo destacar as laranjas doces (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck), tangerina comum (*Citrus reticulata* Blanco), limas ácidas (*Citrus aurantifolia* Swing), limas doces (*Citrus limettioides* Tan.), limões (*Citrus limon* Burm F.), cidras (*Citrus medica* L.), tangerina ‘Sunki’ (*Citrus sunki* hort. ex Tanaka), tangerina ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* hort. ex Tanaka), tangerina ‘Cléopatra’ (*Citrus reshini* hort. ex Tanaka), laranjas azedas (*Citrus aurantium* L.), pomelos (*Citrus paradisi* Macf.), toranjas (*Citrus grandis* Osbeck) e outras espécies incluindo híbridos naturais (CHAPOT, 1975).

Entretanto, a citricultura destaca-se na fruticultura mundial com uma produção de citros (laranjas, tangerinas, limas ácidas/limões) em torno de R\$ 7,1 bilhões, o que faz o quinto maior representante do agronegócio brasileiro (IBGE, 2020). De acordo com os dados da FAO (2020), o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de tangerineiras com uma produção de um milhão de toneladas (5,3% da produção mundial), ficando atrás da China (47,5% da produção mundial) e Espanha (8,0% da produção mundial).

A citricultura faz parte do agronegócio brasileiro merecendo destaque os Estados de São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Minas Gerais, que juntos contribuíram com uma produção em torno de um milhão de toneladas de tangerineiras na safra de 2019 (IBGE, 2020).

No Nordeste brasileiro, destacam-se os Estados da Bahia e Sergipe como maiores produtores. A Paraíba atingiu uma produção de aproximadamente 30 mil toneladas, sendo a tangerineira ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* hort. ex Tanaka) uma das variedades mais cultivadas no pólo citrícola (IBGE, 2020).

Os citros fazem parte da dieta dos brasileiros, pois, além de serem importante fonte de vitaminas e fibras, as frutas e sucos cítricos recentemente vêm sendo reconhecidos por conterem metabólitos secundários incluindo antioxidantes como ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonóides, limonoides que são importantes para a nutrição humana (DUZZIONI, 2010).

Por apresentar atividade antioxidante, a vitamina C é a primeira linha de anticorpos contra radicais derivados do oxigênio em meio aquoso. Essa vitamina reage diretamente com superóxidos, radicais hidroxilas e o oxigênio singlete. Tem grande importância fisiológica nos seres humanos devido a sua participação em diversas ocorrências no organismo, como formação do tecido conjuntivo, produção de hormônios e anticorpos, biossíntese de aminoácidos e prevenção do escorbuto. É considerado um antioxidante fisiológico versátil, pois pode exercer ação nos compartimentos intra e extracelulares (GONÇALVES, 2008).

Além da laranja ser um das frutas mais produzidas e com maior aceitação do mercado consumidor, pode-se destacar também as tangerineiras (OLIVEIRA; BRUNINI; NUNES, 2014) que por sua vez representam o segundo grupo de frutas cítricas de maior importância econômica para o país, podendo ser classificadas em tangerinas Comuns (*Citrus reticulata* Blanco) que é composta por: Pokan, Pokan IAC-224, Pokan Precoce IAC-595, Clementina e Fortune. As tangerinas Satsumas: (*Citrus unchiu* Marchovitch): Satsuma, S. Owari, S. Miyagawa IAC-537. As mexericas (*Citrus deliciosa* Tenore): Mexerica Mogi das Cruzes IAC-606 e Mexerica Tardia IAC-589.

E a tangerina (*Citrus tangerina* hort. ex Tanaka): ‘Dancy’ (SILVA, 2014) que apresenta altos teores de vitaminas B1 e B2, compostos antioxidantes, que são indispensáveis na inativação dos radicais livres (PELLISSARI, 2013). Além de conter grande quantidade de fibras, de sais minerais como magnésio, potássio, cálcio, fósforo e da substância betacaroteno (precursor da vitamina A) (HORTIFRUTI, 2016).

A citricultura representa um papel fundamental na produção tanto para o comércio nacional e internacional, porém, ao longo dos anos, vem surgindo diversos problemas fitossanitários, dentre eles, destacam-se as causadas por vírus como a leprose (*Citrus leprosis virus* (CiLV), tristeza dos citros (*Citrus tristeza virus*).

Por bactérias como cancro cítrico (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* Hasse), CVC (amarelinho) (*Xylella fastidiosa* Wells) e greening (etiologia desconhecida), nematóides parasitas *Tylenchulus semipenetrans* e *Pratylenchus jaehni* e por fungos como gomose (*Phytophthora citrophthora*), pinta-preta (*Guignardia citricarpa* Kiely), verrugose (*Elsinoe fawcetti*), mancha-preta dos citros (MPC) (*Guignardia citricarpa Phyllosticta citri-carpa* McAlp. Van der Aa) e a mancha

marrom de alternaria (*Alternaria alternata* (Fr:Fr) Keissler f. sp. *citri*) que ataca patótipos de tangerina (CARVALHO *et al.*, 2011).

Este patógeno produz uma toxina hospedeiro-específica, denominada ACT, que consiste num fator de virulência para este patógeno, propiciando o aparecimento dos sintomas característicos em tangerinas e seus híbridos, dentre eles destaca-se a cultivar ‘Dancy’. Entretanto, esses fatores fitossanitários revelam o principal entrave à continuidade da atividade citrícola para algumas espécies (MAPA, 2015).

## 2.2 TANGERINEIRA ‘DANCY’

A tangerineira ‘Dancy’ (*Citrus tangerina* hort. ex. Tanaka) possui seu centro de origem na Flórida, cultivar que apresenta ciclo precoce variando de 8 a 10 meses (período que vai desde o florescimento até atingir a maturação) (GOMES, 2010). Possui características morfológicas como arbustos de porte médio, copa arredondada e hábito de crescimento ereto. O caule tem tronco cilíndrico.

As raízes são do tipo pivotante, atingindo 60 cm na vertical e até 2 m na horizontal. As folhas podem ser simples ou compostas, unifoliatas, com limbos inteiros. Sua forma é elíptica, oval ou lanceolada e, de aspecto coriáceo, persistentes e de coloração verde-claro quando novas e passam para o verde mais escuro à medida que envelhecem. Possuem poucos espinhos e com glândulas que produzem óleo essencial.

Já as flores apresentam coloração branca de tamanho pequeno, com inflorescências solitárias ou agrupadas do tipo cacho ou sub-tipo corimbo, hermafroditas e com pedúnculo curto, liso e articulado (VIEIRA; VERISSIMO, 2009).

Os frutos são do tipo **não-climatéricos**, adequados para consumo *in natura*, são hesperidium, pois apresentam uma média de 6 a 20 sementes por fruto, possuem forma oblata, globulosas ou subglobulosas, com casca lisa, fina, de fácil aderência e com espessura em torno de 3,5 mm, diâmetro e altura do fruto medindo 6,3 cm e 4,7 cm respectivamente, peso médio em torno de 103,4 g.

Possui epicarpo de coloração laranja-avermelhado, com aroma bem distintivo, polpa alaranjada e sabor bastante apreciável, com consideráveis fonte de vitamina C e rico em vitaminas B1 e B2, Mg, K, Ca, P, além de conter grande quantidade de fibras e betacaroteno (precursor da vitamina A) (PELLISSARI, 2013).

Apesar de a tangerineira ‘Dancy’ apresentar diversos aspectos morfológicos, fisiológicos e organolépticos que favorecem a aceitação do mercado consumidor, é suscetível a *A. alternata*, responsável por causar a mancha marrom de alternaria (MMA) (IAC, 2016).



### 2.3 MANCHA MARROM DE ALTERNARIA

O primeiro relato da mancha marrom de alternaria (MMA) ocorreu em tangerina Emperor na Austrália em 1903 (KIELY, 1964). Em 1974, observou-se a MMA na Flórida, infectando frutos e ramos de tangerineira ‘Dancy’ (WHITESIDE, 1976). Em 1989, foi relatada em Israel (SOLEL, 1991) e posteriormente encontrada na África do Sul (SCHUTTE *et al.*, 1992), Cuba (HERRERA, 1992), Colômbia (CASTRO-CAICEDO; LEGUIZAMON; LOPEZ, 1994), Turquia (CANIHOS; ERKILIC; TIMMER, 1997), Espanha (VICENT *et al.*, 2000), Itália (BELLA; GUARINO; CATARA, 2001), Argentina (PERES; AGOSTINI; TIMMER, 2003) e Peru (MARÍN *et al.*, 2006).

No Brasil, o primeiro relato de MMA ocorreu em plantas de tangerineira ‘Dancy’ em pomares localizados no estado do Rio de Janeiro (GOES; MONTES de OCA; REIS, 2001). Nos anos subsequentes, sua presença foi identificada nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul (SPÓSITO *et al.*, 2003). Esta doença vem se constituindo em fator limitante à produção de tangerinas, devido à sua alta suscetibilidade e condições ambientais favoráveis à ocorrência da doença (SOUZA, 2009).

O processo de infecção e colonização de *A. alternata* ocorre geralmente pela penetração do fungo através dos estômatos, onde se verificam hifas espessas dentro do tecido, com diâmetro maior que o tubo germinativo do conídio, apresentando micélio interno ramificado, colonizando e liberando toxinas nos tecidos que pode ser a ACT ou ACR, causando ação rápida e extravasamento celular, destruindo as células ao redor do ponto de penetração e assim garantindo nutrientes para sua sobrevivência, papel fundamental na expressão dos sintomas (TIMMER; GARNSEY; GRAHAM, 2000; STUART *et al.*, 2009).

A doença pode iniciar em ramos novos, formando lesões necróticas com uma forma arredondada ou alongada, medindo de 3-8 mm e coloração marrom-escura (FEICHTENBERGER *et al.*, 2005).

Nas folhas jovens, as lesões são necróticas com tamanhos variando de 3-6 mm de diâmetro e de 1-3 mm de profundidade. Em folhas maduras a MMA aparece como distintas manchas amarronzadas, circundadas por um halo amarelo de coloração marrom ou preta. Com o tempo, essas lesões aumentam de tamanho, formando grandes áreas da superfície da folha, dependendo da quantidade de inóculo, grau de suscetibilidade e idade dos órgãos vegetais, pode ocorrer a queda prematura de folhas, pétalas e em frutos jovens (REIS *et al.*, 2006).

Os sintomas aparecem nos frutos com 24 a 48 horas após a infecção. A toxina produzida pelo fungo é responsável pelas áreas necrosadas dos tecidos atacados, sendo que o tamanho das lesões e a extensão da necrose podem variar, em função da suscetibilidade do tecido da variedade cítrica. Nos frutos, as lesões são de coloração marrom-escura, inicialmente deprimidas no centro, podendo

apresentar exsudatos de consistência viscosa e são circundadas por um halo amarelado (FEITCHENBERG *et al.*, 2005).

Em frutos completamente formados, inicialmente a mancha é corticosa, saliente e deprimida no centro, circundadas por um halo amarelado, formando pústulas. Onde as lesões mais desenvolvidas atingem grandes áreas da casca e atingindo a polpa, podendo também provocar cicatrizes que depreciam o fruto, comprometendo a produtividade e inviabilizando a comercialização para consumo *in natura* (FEICHTENBERGER *et al.*, 2005).

#### 2.4 O FITOPATÓGENO *ALTERNARIA ALTERNATA* PATÓTIPO TANGERINA

Os fungos do gênero *Alternaria* são cosmopolitas, acometem vários hospedeiros vegetais e são considerados saprofíticos facultativos, sobretudo, são mais evoluídos quando envolvidos com patogenicidade (WALTON, 1996). Esses fungos, denominados anamorfos/imperfeitos em virtude da ausência da fase sexual, na maioria de suas espécies, são morfológica e geneticamente similares, entretanto, apresentam diferenças patológicas e genéticas (KUSABA; TSUGE, 1994). Por esse fato, linhagens de certas espécies, principalmente *A. alternata*, têm sido referidas como *forma specialis* ou patótipos, em função do seu hospedeiro (KOHMOTO; OTANI, 1995).

*A. alternata* contém sete patótipos, que produzem toxinas que causam doenças em diferentes plantas, dentre elas: a toxina AF, que causa doenças em morangos, a toxina AK, que afeta pera, a toxina ACT, que afeta especificamente tangerinas, tangores e tangelos (HATTA *et al.*, 2002) e a toxina ACR ou ACRL que afeta limões (AKIMITSU; PEEVER; TIMMER, 2003). De acordo com Walton (1996), a ACT é uma micotoxina formada pelo ácido tenuazônico que, em contato com a planta, atua na membrana plasmática, provocando a sua permeabilização e a morte celular.

A espécie *A. alternata* causa duas enfermidades distintas em plantas de citros, a saber: a MMA que tem *A. alternata* patótipo tangerina como agente etiológico; e a mancha foliar de alternaria (MFA), que é atribuída ao fungo *A. alternata* patótipo limão rugoso, à qual é caracterizada por afetar especificamente as folhas de limoeiros ‘Rugoso’ (*Citrus jambhiri* Lush.) e ‘Cravo’ (*Citrus limonia* Osb.) e por sintetizar a toxina hospedeiro-específica ACR (AKIMITSU; PEELVER; TIMMER, 2003; PEEVER; CARPENTER; TIMMER, 2004).

O agente etiológico da MMA foi inicialmente descrito como *Alternaria citri* Ellis & Pierce (WHITESIDE, 1976), em razão da similaridade morfológica, entretanto, mais tarde, em pesquisas demonstrou-se que os isolados apresentavam características bioquímicas, tais como, a produção de toxinas seletivas aos hospedeiros distintos, como consequência disto, foi designada como *A. alternata* (KOHMOTO; SCHEFFER; WHITESIDE, 1979) e, em seguida, referida de forma mais apropriada, como *Alternaria alternata* patótipo tangerina (Fr:Fr) Keissler (PEEVER; CARPENTER; TIMMER, 2004; CARVALHO *et al.*, 2011).

Assim, este patótipo causa doença, especificamente, em tangerinas e seus híbridos. Dessa forma, adota-se a designação de patótipo no estudo, pois considera-se o fato de que existem claras diferenças biológicas, bioquímicas e genéticas entre eles, os quais podem ser diferenciados por testes de patogenicidade, ensaios de toxinas ou marcadores moleculares (PEEVER; CARPENTER; TIMMER, 2004).

Ainda existem outras duas espécies de *Alternaria* que incitam doenças em citros, como a *Alternaria citri* e *Alternaria limicola*. A espécie *A. citri* causa a Podridão Negra de *Alternaria* (PNA) que acomete laranjas doces e limões, causando podridão de frutos (AKIMITSU; PEEVER; TIMMER, 2003). Enquanto a *A. limicola* é a responsável pela doença conhecida como mancha foliar em limão mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) que, por sua vez, é mais restrita a essa variedade de citros, amplamente cultivada no México (AKIMITSU; PEEVER; TIMMER, 2004).

*A. Alternata* produz conídios de forma, cores e tamanhos variáveis, de 20 a 63 µm de comprimento x 9 a 18 µm de largura, cor oliva a marrom-escuro, dotados de 4 a 6 septos transversais e 1 ou mais septos longitudinais (ELLIS, 1993). O patógeno se desenvolve saprofiticamente em tecidos cítricos mortos ou em outros substratos, onde possa produzir grande número de conídios.

Os conídios possuem parede espessa e são resistentes ao ressecamento e outras condições adversas (SPÓSITO *et al.*, 2003). A liberação dos esporos está relacionada com a ocorrência de chuvas e mudanças bruscas na umidade relativa, ou seja, uma vez formados, quando há uma redução brusca de umidade relativa, eles são facilmente disseminados pelo vento até a superfície de frutos ou para outros órgãos de plantas, iniciando novas infecções (FEICHTENBERGER *et al.*, 2005).

Uma vez atingido o interior do tecido, o patógeno começa a liberar uma toxina específica ao hospedeiro, cuja função é garantir a destruição das células ao redor do ponto de penetração e assim garantir os nutrientes para sua sobrevivência (STUART *et al.*, 2009), causando necrose rápida dos tecidos.

Esta toxina mata as células vegetais para permitir a infecção e a colonização dos tecidos pelo fungo, possuindo papel fundamental na expressão dos sintomas e na ocorrência da doença na planta hospedeira (SPÓSITO *et al.*, 2003). As condições ideais para infecção ocorrem com temperaturas em torno de 20 a 27 °C e 10 a 12 horas de molhamento foliar contínuo, aparecendo os sintomas de um a dois dias (TIMMER; GARNSEY; GRAHAM, 2000).

A toxina que afeta as variedades de tangerinas é denominada HST – host specific toxine (toxina específica ao hospedeiro). Estudos sobre a toxina produzida por *A. alternata* (toxina ACT) mostram que ela tem ação rápida e causa extravasamento celular (STUART *et al.*, 2009).

O patógeno *A. alternata* apresenta uma alta variabilidade genética (DINI-ANDREOTI *et al.*, 2009) e se reproduz assexuadamente por meio de mitose e a variabilidade pode ser ampliada devido o ciclo parassexual. Apesar do ciclo sexual de *A. alternata* não ter sido observado, o ciclo parassexual

é um processo que amplia a variabilidade em fungos imperfeitos. Ele consiste, basicamente, na fusão de hifas e em seguida a formação de um núcleo diplóide pela fusão ao acaso dois dois núcleos haplóides, seguido de haploidização e possível crossing over mitótico (CASELA; GUIMARÃES, 1996).

Dessa forma, os indivíduos descendentes serão diferentes dos parentais que os originaram e assim, a diversidade genética dentro de populações de patógenos podem aumentar. Visto que, todos os caracteres, morfológicos observáveis nos fungos, tais como, cor e crescimento micelial, cor e tamanho dos conídios, esporulação e os moleculares são utilizados para quantificar a diversidade populacional e entre e dentro de espécies de fungos fitopatogênicos.

## 2.5 MARCADORES MOLECULARES

São utilizados diversos tipos de marcadores moleculares para o estudo da variabilidade genética de gêneros de *Alternaria*, como exemplo o RFLP que foi analisada para verificar a variabilidade de *A. alternata* (ADACHI; WATANABE; TSUBE, 1996).

Já os marcadores AFLP foram empregados para o estudo da variabilidade de *A. solani* (MARTINEZ; SNOWDON; KUHNEMANN, 2004) e *A. brassicicola* (BOCK *et al.*, 2002). Os marcadores RAPD-PCR são os mais utilizados para este gênero, pois além do baixo custo, obtém-se elevados níveis de polimorfismo, entretanto, ocorre uma baixa repetibilidade dos resultados, podendo reduzir a eficiência (GHERBAWY, 2005).

O ISSR (Simple Sequence Repeats) amplification (ISSR) é um dos marcadores moleculares mais utilizados nos estudos genéticos de fungos filamentosos, pois as sequências de DNA que flanqueiam os ISSRs são geralmente conservadas dentro de uma mesma espécie, permitindo a seleção de iniciadores específicos que amplificam via PCR fragmentos contendo o DNA repetitivo em todos os genótipos e com reproducibilidade (SILVA, 2014).

A diferença nos tamanhos dos fragmentos de DNA amplificados e a repetibilidade dos resultados, devido à alta especificidade dos primers ISSR, fazem dessa técnica ser altamente utilizada e com dados confiáveis.

Os ISSRs possuem diversas vantagens, como: 1) natureza codominante e multialélica; 2) por serem altamente polimórficos, permitem discriminações precisas, mesmo de indivíduos altamente relacionados; 3) são abundantes e uniformemente dispersos em todo o genoma do patógeno; 4) podem ser eficientemente analisados por PCR, pois não precisa de conhecimento prévio de uma sequência de DNA e é responsável por produzir um grande número de ampliações.

Além dos ISSRs serem muito frequentes e distribuídos ao acaso ao longo do genoma, permite a cobertura completa dos cromossomos de uma determinada espécie e podem ser utilizados para o

mapeamento de genomas, que são ideais para a identificação e discriminação de genótipos e para estudos de variabilidade genética de populações de fungos (SILVA, 2014).

## 2.6 MÉTODOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DA MANCHA MARROM DE ALTERNÁRIA

A união de vários métodos de controle, como exemplo as práticas culturais na formação dos pomares, proporcionam áreas com bastante circulação de ar, maior espaçamento entre as plantas, cuidados com a adubação e sobretudo a nitrogenada (MENDONÇA, 2005).

O controle químico utilizando moléculas com ação já comprovadas contra o fungo a partir das estrobilurinas, dicarboximidas, triazóis e ditiocarbamatos (ALVA; GRAHAM, 1991). E o genético que já dispõem no mercado, duas variedades resistentes: ‘Clementina’ (*Citrus clementina* hort. ex Tanaka) e ‘Thomas’ (*Citrus reticulata* Blanco) e dois híbridos: ‘Clementina Minneola’ (*Citrus clementina* hort. ex Tanaka x Tangelo e *Minneola*) e ‘Freemont’ (*C. clementina* hort. ex Tanaka x *C. reticulata* Blanco) (PIO, 1997) tem sido bastante eficientes no controle da MMA em citros.

### 2.6.1 Biológico

O gênero *Trichoderma* spp. é conhecido há mais de 200 anos, por apresentar fungos filamentosos, não patogênicos, pertencente à ordem Hypocreales, responsáveis por promover o crescimento de plantas e auxiliar na germinação de sementes (DOLINSK, 2006). E também, por ser importante no biocontrole de fitopatógenos, devido à produção de substâncias tóxicas (WOO *et al.*, 2006).

Podendo degradar celulose, hemicelulose (SCHUSTER; SCHMOLL, 2010) exercendo o antagonismo contra vários fitopatógenos, como *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, dentre outros, que causam prejuízos em diversas culturas tais como maçã (*Malus domestica* Borkh), morango (*Fragaria vesca* L.), rabanete (*Raphanus sativus* L.), beterraba (*Beta vulgaris* L), tomate (*Lycopersicon esculentum* L.), milho (*Zea mays* L.) e soja (*Glycine max* L.) (MAPA, 2015).

A indução de resistência de algumas linhagens de *Trichoderma* sp. se dá através da capacidade de desencadear uma série de alterações morfológicas e bioquímicas no vegetal, levando à ativação dos mecanismos de defesa contra diversos fitopatógenos (LUCON *et al.*, 2010) através da ação direta ou indireta como a antibiose que inibe ou suprime a incidência do patógeno, devido à produção de diversas substâncias tóxicas, voláteis e não voláteis, com amplo espectro de atividade antimicrobiana (STANGARLIN *et al.*, 2011).

Já a competição pode ser explicada através da interação do antagonista com o hospedeiro (patógeno). Onde a população do patógeno têm crescimento e sobrevivência prejudicados, devido a disputa por nutrientes ou espaço com o antagonista, ocorrendo deslocamento no sítio de infecção e impedindo a germinação de propágulos ou o processo de infecção na planta (SHORESH; HARMAN; MASTOURI, 2010).

O micoparasitismo ocorre quando o antagonista utiliza o fitopatógeno como alimento, pois suas hifas se enrolam através de estruturas denominadas apressórios, degradam a parede celular pela secreção de enzimas líticas (quitinases, celulasas, glucanases e proteases) e agem de forma sinérgica na degradação da parede celular do hospedeiro, apresentando um importante papel no mecanismo de biocontrole (MARTIN *et al.*, 2007).

*Trichoderma asperellum* (Samuels, Lieckf. e Nirenberg, Sydowia) é uma espécie ainda pouco estudada, porém, tem-se mostrado eficiente como agente de controle biológico através da produção de antibiótico peptídicos da superfamília das trichotoxinas (CHUTRAKUL; PEBERDY, 2005) e também do micoparasitismo contra diversos fungos fitopatogênos.

### **2.6.2 Pau-ferro**

A espécie *Caesalpinia ferrea* (Benth). Ducke pertence à família Fabaceae, popularmente conhecida como jucá ou pau-ferro. Planta perenifólia a semi-decídua, nativa da mata atlântica, ocorre do Sudeste ao Nordeste do Brasil, nas florestas pluviais de encosta atlântica (floresta ombrófila densa) (PATRO, 2013).

O pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* (Benth.) Ducke) é uma espécie que tem sido investigada a partir de métodos fitoquímicos e bioquímicos que privilegiam a prospecção de moléculas vegetais presentes em diferentes partes da planta (folhas, caule e frutos), uma vez que possuem reservas estocadas de proteínas, lipídeos, carboidratos e enzimas como a polifenoloxidase, peroxidase e a fenilalanina amônia-liase que podem estimular a produção de metabólitos secundários responsáveis pela formação de diferentes compostos fenólicos nas plantas e também podem atuar com ação fungitóxica sobre os patógenos com alto potencial no controle de doenças (STANGARLIN *et al.*, 2011).

Esses compostos presentes no pau-ferro são fundamentais na construção de componentes das paredes celulares, estão também associados à síntese das vitaminas, enzimas, hormônios e polifenóis (PINTO, 2013), capturando radicais livres, fontes de compostos bioativos, enquadrando-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, taninos condensados e hidrolisáveis e as ligninas (SHAHIDI; NACZK, 2004).

### **2.6.3 Quitosana®**

É um polímero natural de cadeia similar à da celulose (1-4) 2-amino- 2-deoxi-D-glucose (ou D-glucosamina) atóxico e biodegradável, obtido por meio da desacetilação alcalina da quitina. Polissacarídeo encontrado naturalmente no exoesqueleto de insetos e crustáceos (DASH *et al.*, 2011), solúvel em soluções aquosas, diluídas em ácidos orgânicos e inorgânicos. Apresenta uma alta bioatividade, reatividade do grupo amino desacetilado, permeabilidade seletiva, ação polieletrólítica, atividade antimicrobiana e habilidade em formar gel (BERGER; STAMFORD; STAMFORD, 2011).

Por ser um produto natural, renovável e não apresentar nenhuma toxicidade ao homem este polímero tem sido proposto como um produto potencialmente atraente para usos diversos, como na área alimentícia, biotecnologia, produtos farmacêuticos, proteção ambiental e na agricultura (FREDDO *et al.*, 2014).

Tem sido muito difundido por ser um biofilme incolor, comestível, de consistência gelatinosa, que protege a superfície externa dos frutos, legumes e sementes, reduzindo a incidência de patógenos e conservando as características físico-químicas, prolongando o período de conservação dos frutos e minimizando ou substituindo o uso de fungicidas (ASSIS; BRITTO, 2014).

Segundo Berger; Stamford; Stamford (2011), a quitosana pode atuar de três formas distintas na defesa vegetal, inibindo o crescimento de fungos devido ao acúmulo de proteínas relacionadas à patogenicidade, estimulando a produção de espécies reativas de oxigênio e induzindo a produção da quitinase,  $\beta$ -1,3-glucanases, fenilalanina amônia-liase e peroxidase, promovendo a lignificação e atrasando o aumento da atividade polifenoxidase durante o armazenamento.

## 2.7 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

A indução envolve uma complexidade funcional, espacial e temporal que inicia-se com o reconhecimento pelo hospedeiro de sinais exógenos provenientes do patógeno, bem como, agentes bióticos ou abióticos, que continua com os mecanismos de transdução desses sinais e resulta em extensa reprogramação do metabolismo celular vegetal, envolvendo mudanças na atividade gênica, onde ativa os mecanismos de defesa como a resistência sistêmica adquirida e resistência sistêmica induzida que são fenômenos distintos, mas fenotipicamente semelhantes, em que as plantas, após exposição a um agente indutor, têm seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de indução, mas também em outros locais distantes dele (CARVALHO, 2012).

O termo “adquirido” refere-se quando o elicitador é um agente patogênico ou parasita, já o termo “induzido” é empregado quando esse agente é benéfico, simbiote ou abiótico, como os agentes indutores bióticos que são as leveduras, exopolissacarídeos bacterianos, rizobactérias e fungos promotores de crescimento (*Trichoderma* spp.), como também os indutores abióticos, como os extratos de plantas, silício (Si), ácido salicílico (AS), ácido D-Laminobutírico (BABA), quitosana, cloreto férrico, fosfato de potássio dibásico, acibenzolar-S-metil (ASM), fosfato de potássio monobásico e ácido jasmônico (AJ) ativam os mecanismos de defesa latentes (defesas bioquímicas e estruturais pós-formadas) existentes nas plantas (STANGARLIN *et al.*, 2011).

Os indutores são capazes de ativar mecanismo de defesa estruturais, formados por papilas, halos, maior lignificação da parede celular, suberização, camada de cortiça, formação de tiloses e deposição de goma, como também de natureza química, como as fitoalexinas entre outras, que são

formadas a partir da síntese de substâncias com ampla ação antimicrobiana, e possuem alta velocidade de acúmulo (FERNANDES, 2014).

As fitoalexinas pertencem a diferentes grupos químicos, dentre eles os isoflavonóides e sesquiterpenais, além dessa evidência outros agentes elicitores presentes podem ser citados como os alcalóides, flavonóides, terpenóides, cumarinas, sulfitos, glucosídeos, taninos, purinas, ácidos graxos orgânicos.

Visto que, estes compostos podem se acumular até níveis suficientes para limitar o crescimento do patógeno e são tóxicas para protoplastos (células vegetais sem parede celular), atuam de forma direta sobre o agressor e também causem a morte do tecido infectado, gerando a lesão típica da hipersensibilidade, sendo um dos fatores decisivos para o estabelecimento da infecção, fazendo parte das estratégias de defesa selecionadas ao longo da evolução, podendo ser o principal mecanismo de resistência das espécies vegetais (STANGARLIN *et al.*, 2011).

O peróxido de hidrogênio são substâncias candidatas ao sinal sistêmico indutor de resistência sistêmica adquirida. É uma das mais estudadas, com vários indícios sugerem sua participação nas respostas de defesa. Na verdade, processos oxidativos em geral parecem ter papel crucial nos estágios iniciais da indução dessas respostas (MARTELLI; NUNES, 2014).

Embora o oxigênio molecular, essencial ao metabolismo aeróbico, seja muito pouco reativo, é fonte potencial de formas reativas. Nos vegetais, os cloroplastos (onde ocorre a fotossíntese, liberando oxigênio), são fontes particularmente ricas de radicais livres, moléculas muito reativas, por terem um elétron livre, e tóxicas para as células (MARTELLI; NUNES, 2014).

Normalmente os níveis de espécies reativas de oxigênio são baixos nas células vegetais, mas sua produção cresce em infecções por organismos vivos ou em processos foto-oxidativos decorrentes de estresses não-biológicos e que a primeira molécula originada do oxigênio, muito reativa, é o íon superóxido ( $O_2^-$ ), que pode não só romper certas ligações químicas de compostos orgânicos, mas também originar outras espécies oxidantes, como o  $H_2O_2$  e que este, além de tóxico para as células, porque inativa certas enzimas do ciclo de Calvin (que fixa o gás carbônico atmosférico), pode reagir com o íon superóxido gerando outros radicais livres, como a hidroxila ( $OH^\cdot$ ), ainda mais reativa e tóxica (BARROS *et al.*, 2010).

As PR-proteínas (PRPs) são proteínas de natureza ácida, sintetizadas em respostas ao estresse biótico ou abiótico. Sendo acumulada *in situ* na folha ou *ex situ*, no interior dos tecidos da planta, como um dos eventos da resistência sistêmica adquirida. A infecção de plantas por fungos, bactérias e vírus, entre outros microrganismos, frequentemente conduz a uma resposta de defesa do hospedeiro através de mecanismos de eficiência variável contra o fitopatógeno (SILVA *et al.*, 2012).

O papel das PRPs na resistência de plantas contra microrganismos patogênicos pode ser tanto direto como indireto. Uma ação direta como a inibição do crescimento do patógeno ou da germinação



de esporos, representa uma concepção simplificada da defesa de plantas contra a entrada de agentes patogênicos.

Neste sentido, em muitos casos, estas proteínas apresentam atividade antimicrobiana *in vitro*. No entanto, em sua maioria, PRPs possuem uma maior importância na ação indireta, ou seja, no processo de indução de resistência, como por exemplo, na ação preventiva contra penetração de patógenos, por ação oxidativa de componentes da parede celular vegetal por meio de peroxidases (PR-9), ou envolvimento na transdução de sinais durante a interação patógeno-hospedeiro, como na ação de oxalato oxidases (PR-15) (STANGARLIN *et al.*, 2011).

Um dos mais eficientes mecanismos é a reação de hipersensibilidade onde há estímulo na produção de várias proteínas de defesa codificadas por genes da planta. Essas proteínas incluem as proteínas estruturais formadas por glicoproteínas ricas em hidroxiprolina e glicina e as enzimas peroxidases que estão envolvidas na lignificação, e que quando incorporadas à matriz extracelular, impedem que o patógeno entre nos tecidos das plantas (VEIGA *et al.*, 2010).

Existem também as enzimas do metabolismo secundário, que estão envolvidas na biossíntese de antibióticos e as proteínas relacionadas à patogênese (proteínas PR), responsáveis pelas maiores mudanças quantitativas nos teores de proteína solúvel durante as respostas de defesa (VEIGA *et al.*, 2010).

Os compostos fenólicos são produzidos rapidamente e se acumulam após a infecção, especialmente em variedades resistentes e são tóxicos aos patógenos. Os ácidos clorogênico, caféico e ferrúlico são exemplos de alguns desses compostos. Algumas formas de fenóis podem ser convertidas em derivados com radicais de oxigênio, extremamente reativos, tornando-se muito tóxicos (ALVARENGA; SILVA; OLIVEIRA, 2015).

Os fenóis possuem, pelo menos, um anel benzênico, com um ou mais grupos hidroxila, livres ou substituídos. A biossíntese do anel benzênico é um dos processos fundamentais da biologia, com significância fisiológica, genética, fitoquímica e ecológica para a planta (ALVARENGA; SILVA; OLIVEIRA, 2015).

As enzimas polifenoloxidasas e peroxidases são geralmente elevadas em tecidos infectados e tem grande importância para as plantas, com envolvimento nos mecanismos de defesa ou na senescência e lideram a degradação oxidativa de compostos fenólicos próximo ao local da descompartimentalização celular provocada por patógenos, responsável pelo aparecimento de substâncias escuras provenientes da polimerização oxidativa das quinonas (PINTO; RIBEIRO; OLIVEIRA, 2011).

Entretanto, a identificação de componentes-chaves das vias de transdução de sinais e o entendimento de como os processos de fixação do patógeno ao hospedeiro e de penetração funcionam, em nível molecular, poderão resultar em técnicas eficientes no controle de doenças, o que representa

um importante passo para as novas estratégias no manejo de doenças. Visto que, um dos resultados dessa nova tecnologia deverá ser a redução no uso dos defensivos tradicionais, o que vem de encontro com a preocupação mundial no que diz respeito à preservação do meio ambiente e a a saúde humana (BARROS *et al.*, 2010).

## 2.8 DESENVOLVIMENTO E FISIOLOGIA DA MATURAÇÃO DO FRUTO E A IMPORTÂNCIA DA PRESERVAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS PÓS-COLHEITA

Após a colheita, o fruto se encontra mais suscetível a degradação, impactos e as doenças, e, uma vez desligado da planta, inicia-se um contínuo processo de modificações metabólicas que levam ao desenvolvimento de importantes características sensoriais, como adoçamento, decorrente das transformações do amido em açúcares solúveis mais comuns nos frutos são a frutose, glicose e sacarose, que, juntamente com os ácidos orgânicos fornecem a maior contribuição para o sabor do fruto (ABREU, 2010), diminuição da acidez e desaparecimento da adstringência, mudança de coloração, em consequência do desaparecimento da clorofila e a síntese de outros pigmentos, bem como transformações na textura (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Durante o amadurecimento, ocorre um grande número de alterações fisiológicas, bioquímicas e moleculares, como os processos anabólicos e catabólicos que à medida que os substratos são convertidos em moléculas mais simples e ATP, são usados para dar suporte à intensa atividade metabólica e constitui uma eficiente reserva energética dos frutos, através de sua oxidação no ciclo de Krebs (GUIMARÃES *et al.*, 2013).

A degradação da clorofila é outro processo predominante que influencia na mudança de cor dos frutos, em função das mudanças de pH, do aumento dos processos oxidativos, da ação das clorofilases e de ácidos orgânicos que são produtos intermediários das vias metabólicas e tendem a diminuir com o amadurecimento, em decorrência do processo respiratório ou de sua conversão em açúcares nos frutos (BACKER, 2015).

A diminuição da firmeza da polpa durante o amadurecimento é em função, principalmente, da perda da integridade da parede celular que são compostas por moléculas poliméricas constituintes da parede celular, como celulose, hemicelulose e pectina, gerando alterações na parede celular e levando ao amolecimento da polpa (SANTOS *et al.*, 2014).

Outros processos, em menor extensão, também podem levar ao amolecimento dos frutos, como a degradação do amido e perda excessiva de água. A atividade de enzimas, como as poligalacturonases e/ou celulasas, responsável pela degradação das paredes celulares, tendo as atividades aumentadas com o início do amadurecimento e senescência (PESINI, 2012).

Essas mudanças envolvem complexas transformações no metabolismo dos frutos, as quais são decorrentes do aumento da atividade enzimática e estão associadas a mudanças da atividade

respiratória e biossíntese do etileno. Uma vez iniciado o amadurecimento, têm seguimento os processos de senescência, período subsequente ao desenvolvimento do fruto, durante o qual o crescimento cessou e os processos bioquímicos degradativos substituem os de síntese, resultando na morte dos tecidos (ROCHA *et al.*, 2010).

Entretanto, estudos sobre pós-colheita de frutos visam equilibrar as transformações metabólicas (aspectos físicos, físico-químicos, químicos e bioquímicos) que ocorrem no ciclo vital de um vegetal (CHITARRA; CHITARRA, 2005), reduzindo as perdas causadas por patógenos e por distúrbios fisiológicos, garantindo a integridade dos mesmos, proporcionando o produto final de alta qualidade, com frutos saudáveis, coloridos, aromáticos, saborosos e com alto valor nutritivo.

Proporcionando uma ampliação do tempo de armazenamento sem, contudo, alterar suas características físicas, organolépticas e nutricionais (SOUSA *et al.*, 2015). Permitindo competir com os demais países exportadores e atender aos mercados consumidores, cada vez mais exigentes quanto à qualidade e segurança do produto, bem como às normas ambientais e sociais (SILVA *et al.*, 2011), favorecendo a crescente exigência do mercado consumidor por frutas de alta qualidade e com tecnologias alternativas para pós-colheita, substituindo os insumos poluentes e não renováveis (NEGREIROS *et al.*, 2013).

### **3 CONCLUSÃO**

A fisiologia dos fitopatógenos e a diversidade genética possuem mecanismos de ação que são mutáveis de acordo com os fatores ambientais, entretanto as pesquisas com cultivo *in vitro* tem crescido, pois, as respostas provenientes do comportamento dos patógenos são extremamente importantes para os programas de melhoramento genético e também podem influenciar nas estratégias para o controle alternativo da mancha marrom de alternaria em campo ou na pós-colheita e desta forma, reduzir o uso de agrotóxicos. Dentre estes métodos, os indutores de resistência, vêm se destacando por apresentarem eficiência no controle em tangerineiras e por serem praticamente atóxicos e não deixarem resíduos danosos à saúde humana e ao meio ambiente.

**REFERÊNCIAS**

- ABREU, J. R. de. Monitoramento de alterações físicas, química e fisiológicas durante o amadurecimento de goiabas cv “Pedro Sato”. 2010. 94 f. Tese (Doutorado). Universidade federal de Lavras, Lavras-MG. 2010.
- ADACHI, Y.; WATANABE, H.; TSUBE, T. Relationships between genetic polymorphisms and fungicide resistance with in *Alternaria alternata*. *Phytopathology*, v. 86, p. 1248-1254, 1996.
- AKIMITSU, K.; PEEVER, T. L.; TIMMER, L. W. Molecular ecological and evolutionary approaches to understanding *Alternaria* diseases of citrus. *Plant Pathology*, v. 4, n. 6, p. 435-446, 2003.
- ALVA, A. K.; GRAHAM, J. H. The role of copper in citriculture. *Advances in Agronomy*, n. 1, p. 145-170, 1991.
- ALVARENGA, R. F. da S.; SILVA, D. R. C.; OLIVEIRA, R. R. de. Síntese de Cumarinas: Análise Quantitativa de Rendimento da Hidroarilação de Propiolatos com Fenóis. VII Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica, 2015. 1 f.
- ASSIS, O. B. G; BRITTO, D. Revisão: coberturas comestíveis protetoras em frutas: fundamentos e aplicações. *Brazilian Journal Food Technology*, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.
- AZEVEDO, J. L. Genética de microrganismos. 2. Ed. Goiânia, GO: Editora da UFG. 2008. 536 p.
- BARROS, F. C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L. C. de C.; JULIATTI, L. C. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. *Bioscience Journal*, v. 26, n. 2, p. 231-239, 2010.
- BECKER, F. S. Desenvolvimento, caracterização e atividade antioxidante de marmelada-de-cachorro (Schum.). 2015. 113 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 2015.
- BELLA, P.; GUARINO, C. R.; CATARA, A. Severe infections of *Alternaria* spp. on a mandarin hybrid. *Journal of Plant Pathology*, v. 83, n. 1, p. 231, 2001.
- BERGER, L. R. R.; STAMFORD, T. C. M.; STAMFORD, N. P. Perspectivas para o uso da quitosana na agricultura. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, v. 12, n. 4, p. 195-215, 2011.
- BOCK, C. H.; THRALL, P. H.; BRUNAKER, C. L.; BURDON, J. Detection of genetic variation in *Alternaria brassicicola* using AFLP fingerprint. *Mycological Research*, v. 106, n. 4, p. 428-434, 2002.
- CANIHOS, Y.; ERKILIC, A.; TIMMER, L. W. First reporter of *Alternaria* Brown spot of *Minneola* tangelo in Turkey. *Plant Disease*, v. 81, n. 10, 1214 p. 1997.
- CARVALHO, N. L. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, v. 7, n. 7, p. 1379-1390, 2012.
- CARVALHO, D. D. C.; ALVES, E.; CAMARGOS, R. B.; OLIVEIRA, D. F.; SCOLFORO, J. R. S.; CARVALHO, D. A. Plant extracts to control *Alternaria alternata* in Murcott tangor fruits. *Revista Iberoamericana de Micología*, v. 28, n. 4, p. 173-178, 2011.
- CASELA, C. R.; GUIMARÃES, F. B. Especialização fisiológica de fungos fitopatogênicos. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 4, n. 1, p. 75-93, 1996.

CASTRO-CAICEDO, B. L.; LEGUIZAMON, C.; LOPEZ, J. A. La mancha foliar de los cítricos em la zona cafetera. *Avances Técnicos Cenicafé*, n. 198, p. 26, 1994.

CHAPOT, H. The citrus plant. In: HÄFLIGER, E. (ed.). *Citrus*: Basle, Switzerland, CIBA-GEIGY Ltda, 1975, p. 14-20.

CHITARRA, M. I. F; CHITARRA, A. B. Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras: ESAL-FAEPE, 2005. 785 p.

CHUTRAKUL, C.; PEBERDY, J. F. Isolation and characterization of partial peptide synthetase gene from *Trichoderma asperellum*. *FEMS Microbiology Letters*, n. 252, p. 257–265, 2005.

CITRICULTURA. Citricultura paulista. Disponível em: <<http://al-sp.jusbrasil.com.br/noticias/100027157/citricultura-paulista-autoridades-e-liderancas-discutem-medidas-que-contemplem-setor>>. Acesso em: 12 Jan. 2020.

COSTA, R. V.; COTA, L. V.; PARREIRA, D. F.; SILVA, D. D.; GUIMARÃES, P. E.; GUIMARÃES, L. J. M.; PARENTONI, S. N.; PACHECO, C. A. P. Desenvolvimento de metodologia para inoculação de *Colletotrichum graminicola* em colmo de milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, (Circular Técnica, 139). 2010. 6 p.

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. *Ciência Rural*, v. 39, n. 5, p. 1562-1564, 2009.

DASH, M.; CHIELLINI, F.; OTTENBRITE, R.M.; CHIELLINI, E. ‘Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications’. *Progress in Polymer Science*, v. 36, n. 8, p. 981–1014, 2011.

DINI-ANDREOTE, F.; PIETROBON, V. C.; DINI-ANDREOTE, F.; ROMÃO, A. S.; SPÓSITO, M. B.; ARAÚJO, W. L. Genetic variability of brazilian isolates of *Alternaria alternata* detected by aflp and rapd techniques. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 40, n. 1, p. 670-677, 2009.

DOLINSKI, C. Developing a research and extension program for control of the guava weevil in Brazil using entomopathogenic nematodes. Abstract, XXXXV Anual Meeting of the Society of Nematologists, n. 38, p. 270, 2006.

DUZZIONI, A. G. Avaliação da atividade antioxidante e quantificação dos principais constituintes bioativos de algumas variedades de frutas cítricas. 2009. 115 f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo-SP. 2009.

ELLIS, M. B. Dematiaceous hyphomycetes. Oxon: CAB International, 1993.

FAO- OCDE- FAO PERSPECTIVAS AGRÍCOLAS 2020. Disponível em: <<https://www.fao.org.br/download/PA20142015CB.pdf>>. Acesso em: 03 Set. 2020.

FEICHTENBERGER, E.; SPÓSITO, M. B.; PIO, R. M; CASTRO, J. L. Seleção de tangerinas e híbridos de citros para a tolerância à Mancha Marrom de *Alternaria* (*Alternaria alternata* Keissler). *Citricultura atual*, v. 8, n. 45, p. 08-10, 2005.

FERNANDES, L. H. M. Atividade antioxidante em cafeeiro e proteção contra cercosporiose por indutor de resistência e fungicidas. 2014. 78 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. 2014.

FREDDO, Á. R.; MAZARO, S. M.; BRUN, E. J.; JÚNIOR, A. W. A quitosana como fungistático no crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Ciência Rural*, v. 44, n. 1, p. 1-4, 2014.

FREITAS, L. D. Seleção de isolados de *Trichoderma* sp. provenientes da região sul do Brasil para o controle de *Sclerotinia sclerotiorum*. 2014. 39 f. Monografia. Centro Universitário de Goiás, Goiás-GO. 2014.

GARCIA, W. M. Comportamento *in vitro*, métodos de inoculação e fontes de resistência à *Fusarium guttiforme* em abacaxizeiro. 2013. 58 f. Dissertação (Mestrado). Universidade do Estado do Mato Grosso, Mato Grosso-MT. 2013.

GHERBAWY, Y. A. M. H. Genetic variation among isolates of *Alternaria* spp. From select Egyptian crops. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, v. 38, n. 2, p. 77-89, 2005.

GIONGO, C. R.; MENDES, J. M. R.; SANTOS, F. K. Desenvolvimento, saúde e meio ambiente. *Revista Serviço Social e Sociedade*, v. 1, n. 123, p. 501-522, 2015.

GOES, A.; MONTES de OCA, A. G.; REIS, R. F. Ocorrência de la mancha de *Alternaria* em mandarina ‘Dancy’ em el estado de Rio de Janeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v. 26, n. 11, p. 386-396, 2001.

GOMES, W. A. Estado nutricional, produtividade e qualidade de tangerina cv. ‘Dancy’ sob adubação verde e poda no Brejo paraibano. 2010. 55 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Paraíba, Paraíba. Areia-PB. 2010.

GONÇALVES, A. E. S. S. Avaliação da capacidade antioxidante de frutas e polpas de frutas nativas e determinação dos teores de flavonóides e vitamina. 2008. 50 f. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo-SP. 2008.

GUIMARÃES, M. de A.; TELLO, J. P. de J.; DAMASCENO, L. A.; VIANA, C. dos S.; MONTEIRO, L. R. Pré-embebição de sementes e seus efeitos no crescimento e desenvolvimento de plântulas de melancia. *Revista Ceres*, v. 60, n. 3, p. 442-446, 2013.

HATTA, R.; ITO, K.; YOSHITSUGU, H.; TANAKA, T.; TANAKA, T.; YAMAMOTO, M.; AKIMITSU, K.; TSUGE, T. A conditionally dispensable choromo some controls host-specific pathogenicity in the fungal plant pathogen *Alternaria alternata*. *Genetics*, v. 161, n. 1, p. 59-70, 2002.

HERRERA, L. La mancha parda de los cítricos em Cuba. *Levante Agrícola*, v. 31, n. 229, p. 49-50, 1992.

HORTIFRUTI: Espaço Nutrição. Disponível em: <<http://hortifrutiuniao.com/espaco-nutricao/>>. Acesso em: 10 Abr. 2016.

IAC- Avaliação de germoplasma do Banco Ativo de Germoplasma de Citros para tolerância à mancha marrom de alternária - Projeto Financiado pelo Fundecitrus. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/scriptlattes/2007/Pj-0.html>>. Acesso em: 10 Abr. 2016.

IBGE - Instituto brasileiro de geografia e estatística: Comentários. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Agricola/Producao\\_Agricola\\_Municipal\\_\[anual\]/2020/pam2011\\_comentarios.pdf](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Producao_Agricola_Municipal_[anual]/2020/pam2011_comentarios.pdf)>. Acesso em: 13 Jan. 2020.

KOHMOTO, K.; OTANI, H.; TUSGE, T. *Alternaria alternata* pathogens. In: KOHMOTO, K.; SINGH, U. S.; SINGH, R. P. (Ed.). Pathogenesis and host specificity in plant diseases: histopathological, biochemical, genetic and molecular bases. v. 2. p. 3-22, 2009.

KOHMOTO, K.; SCHEFFER, R. P.; WHITESIDE, J. O. Host-selective toxins from *Alternaria citri*. *Phytopathology*, v. 69, n. 6, p. 667-671, 1979.

KUSABA, M.; TSUGE, T. Nuclear ribosomal DNA variation and pathogenic specialization in *Alternaria* fungi known to produce host specific toxins. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 60, n. 9, p. 3055-3062, 1994.

KIELY, T. B. Brown spot of Emperor mandarin. *Agricultural Gazette of new South Wales*, v. 75, n. 2, p. 854-856, 1964.

LUCON, C. M. M.; GUZZO, S. D.; DE JESUS, C. O.; PASCHOLATI, S. F.; GOES, A. Postharvest harpin or *Bacillus thuringiensis* treatments suppress citrus black spot in 'Valencia' oranges. *Crop Protection*, v. 29, n. 7, p. 66-772, 2010.

MAPA: revista de políticas agrícolas. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/RPA%203%202015.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/RPA%203%202015.pdf)>. Acesso em: 11 Fev. 2015.

MARÍN, J. E.; FERNÁNDEZ, H. S.; PERES, N. A; ANDREW, M.; PEEVER, T. L.; TIMMER, L. W. First report of *Alternaria* Brown spot of citrus cause by *Alternaria alternata* in Peru. *Phytopathology*, v. 90, n. 5, 686 p. 2006.

MARTELLI, F.; NUNES, F. M. F. Radicais livres: em busca do equilíbrio. *Ciência e Cultura*, v. 66, n. 3, p. 54-57, 2014.

MARTIN, K.; MCDUGALL, B. M.; UNKLES, S. E.; SEVIOUR, R. J. The three b-1,3 glucanases from the fungus *Acremonium blochistarin* appear to be encoded by separate genes. *Mycological Research*, v. 110, p. 66-74, 2007.

MARTINEZ, S. P.; SNOWDON, R.; KUHNEMANN, J. P. Variability of Cuban and international *Alternaria solani* form diferente host and localities: AFLP genetic analysis. *European Journal of Plant Pathology*, v. 110, p. 399-409, 2004.

MENDONÇA, V. Poda de recuperação em tangerineira 'Ponkan' (*Citrus reticulata* Blanco). 2005. 61 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação da Universidade de Lavras, Lavras-MG. 2005.

MOREIRA, C. S.; MOREIRA, S. História da citricultura no Brasil. In: RODRIGUEZ, O., VIEGAS, F.C.P., POMPEU JÚNIOR, J. *Citricultura Brasileira*. 2.ed. Campinas: Fundação Cargill, v. 1, p. 1-21, 1991.

NEGREIROS, R. F. Z. de; SALOMÃO, L. C. C.; PERREIRA, O. L. P.; CECON, P. R.; SIQUEIRA, D. L. Controle da antracnose na pós-colheita de bananas-‘prata’ com produtos alternativos aos agrotóxicos convencionais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 35, n. 1, p. 051-058, 2013.

PATRO, P. Pau-Ferro-2013. Disponível em: <<http://www.jardineiro.net/plantas/pau-ferro-caesalpinia-ferrea.html>>. Acesso em: 29 Abr. 2014.

PEEVER, T. L.; CARPENTER, L. B.; TIMMER, L. W. Molecular systematics of citrus - associated *Alternaria* species. *Mycologia*, v. 96, n. 1, p. 119-134, 2004.

PELISSARI, L. Q. Tangerina ponkan é rica em antioxidantes e diminui o risco de Alzheimer. Centrais de abastecimento do Espírito Santo – CEASA/ES. Disponível em:< [www.ceasa.es.gov.br](http://www.ceasa.es.gov.br)>. Acesso em: 02 Set. 2013.

PERES, N. A.; AGOSTINI, J. P.; TIMMER, L. W. Outbreakers of alternaria brown spot of citrus in Brazil and Argentine. *Plant Disease*, v. 81, n. 6, 750 p. 2003.

PESINI, J. Avaliação de danos mecânicos nas etapas de transporte, beneficiamento e comercialização de peras. 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul-RS. 2012.

PINTO, K. M. S. Substâncias bioativas de extratos vegetais no manejo da mancha marrom de alternaria (*Alternaria alternata* f. sp. *citri*). 2013. 119 f. Tese (Doutorado). Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB. 2013.

PINTO, M. dos S. T.; RIBEIRO, J. M.; OLIVEIRA, E. A. G. de. O estudo de genes e proteínas de defesa em plantas. *Revista Brasileira de Biociência*, v. 9, n. 2, p. 241-248, 2011.

PIO, R. M. Estudo de variedades do grupo das tangerinas: caracterização e avaliação dos frutos. 1997. 89 f. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo-SP. 1997.

OLIVEIRA, C. A.; BRUNINI, M. A. de; NUNES, G. S. Qualidade da tangerina ‘ponkan’ comercializada na CEAGESP entreposto de Ribeirão Preto-SP. *Nucleus*, v. 11, n. 2, 2014.

REIS, R. F.; GOES, A.; MONDAL, S. M.; TIMMER, L. W. Effectiveness of fungicides and susceptibility of fruit and leaves of tangerines, tangor and tangelos to infection by *Alternaria alternata*, the cause of brown spot. *Summa Phytopathologica*, p. 11-12, 2006.

RICE, E. L. Allelopathy, 2.ed. New York: Academic Press, 1984. 422 p.

ROCHA, R. H. C.; SILVA, E. de O.; SALOMÃO, L. C. C.; VENTRELLA, M. C. Caracterização morfoanatômica do melão gália no ponto de colheita. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 32, n. 2, p. 375-385, 2010.

RODRIGUEZ, A. B. F.; MENÉNDEZ, D. C.; FUNDORA, D. GONZÁLEZ-PEÑA; GARCÍA, M. C. N. Nuevos productos naturales para la agricultura: las oligosacarinas. *Cultivos Tropicales*, v. 36, n. 1, p. 111-129, 2015.

ROSSETI, V. V. Doenças causadas por vírus e semelhantes. In: ROSSETI, V.V. (Ed.) Manual ilustrado de doenças dos citros. Piracicaba:Fealq/Fundecitrus. 2014, p. 59-91.

SANTOS, A. P. G.; VIANA, T. V. A.; SOUSA, G. G.; Ó L. M. G.; AZEVEDO, B. M.; SANTOS, A. M. Produtividade e qualidade de frutos do meloeiro em função de tipos e doses de biofertilizantes. *Horticultura Brasileira*, v. 32, p. 409-416, 2014.



SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. Applied microbiology and biotechnology, v. 87, p. 87-799, 2010.

SCHUTTE, G. C.; LESAR, K. H.; PELSER, P. T.; SWART, S. H. The use of tebuconazole for the control of *Alternaria alternata* on “Minneola” tangelos and its potencial to control postharvest decay when applied as apre harvest spray. In: INTERNATIONAL CITROS CONGRESS, 7, 1992, Acireale: Proceedings. Acireale: International Society of Citriculture, Valência, Espanha, v. 3, p. 1070-1074, 1992.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolics in Food and Nutraceuticals: Sources, Applications and Health Effects. CRC Press, Boca Raton, 2004.

SHORESH, M.; HARMAN, G. E.; MASTOURI, F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review of Phytopathology, v. 48, n. 1-23, 2010.

SILVA, E.H. Variabilidade genética e fisiológica de populações de *Meloidogyne incognita* e identificação de QTLs de uma nova fonte de resistência do algodoeiro (*Gossypium* spp.) a esse nematoide. 2014. 62 f. Tese (Doutorado). Universidade de Brasília, Brasília-DF. 2014.

SILVA, H. A. P. da; GALISA, P. de S.; OLIVEIRA, R. S. da S.; VIDAL, M. S.; SIMÕES-ARAÚJO, J. L. Expressão gênica induzida por estresses abióticos em nódulos de feijão-caupi. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 47, n. 6, p. 797-807, 2012.

SILVA, L. J.; TEIXEIRA, R. N. V. Esporulação e crescimento micelial de *Fusarium solani* em diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade. Revista Agroambiente, v. 6, n. 1, p. 47-52, 2012.

SILVA, R. A. da.; AGRA, A. da. C.; ALEIXO, D. de. L.; NÓBREGA, V. R. da.; DANTAS, E. A. Situação econômica e produtiva da cultura dos citros no estado da Paraíba. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 6, n. 3, p. 39-48, 2011.

SILVA, C. M. M. S.; MELO, I. S. Requisitos nutricionais para o fungo *Alternaria alternata*. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 34, n. 3, p. 499-503, 1999.

SOLEL, Z. *Alternaria* brown spot on Minneola tangelos in Israel. Plant Pathology, v. 40, n. 1, p. 14-147, 1991.

SOUSA, A. A. de; SILVA, A. P. F. da; AZEVEDO, E. de; RAMOS, M. O. Cardápios e sustentabilidade: ensaio sobre as diretrizes do programa nacional de alimentação escolar. Revista de Nutrição, v. 28, n. 2, 2015.

SOUZA, M.C. Reação de genótipos de tangerinas a *Alternaria alternata* e *Elsinoe fawcettii*: resistência, suscetibilidade e acúmulo de metabólitos. 2009. 70 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, São Paulo-SP. 2009.

SPÓSITO, M. B.; FEICHTENBERGER, E.; PIO, R. M.; CASTRO, J. L.; RENAUD, M. S. A. Ocorrência de mancha marrom de Alternária em diferentes genótipos de citros nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul. Fitopatologia Brasileira, v. 28, p. 231, 2003.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; SCHWANESTRADA, K. R. F.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. Scientia Agraria Paranaensis, v. 10, n. 1, p. 18-46. 2011.

STUART, R. M.; BASTIANEL, M.; AZEVEDO, F. A.; MACHADO, M. A. *Alternaria* Brown Spot. Laranja, v. 30, n. 1-2, p. 29-44, 2009.

SWINGLE, W. T. The botany of Citrus and its relatives. Revisão de Philip C. Reece. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J.; BATCHELOR, L. D. (eds.). *The citrus industry*, Berkeley, California: University of California, v. 1, cap. 3, p. 190-430, 1967.

TIMMER, L. W.; GARNSEY, S. M.; GRAHAM, J. H. *Compendium of citrus diseases*. Minnesota: APS Press, 2000. 2.ed. 128 p.

VEIGA, A. D.; VON PINHO, E. V. de R.; VEIGA, A. D.; PEREIRA, P. H. de A. R.; OLIVEIRA, K. C. de; VON PINHO, R. G. Influência do potássio e da calagem na composição química, qualidade fisiológica e na atividade enzimática de sementes de soja. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 34, n. 4, 2010.

VICENT, A.; ARMENGOL, J.; SALES, R.; GARCIA-JIMENEZ, J. First report of *alternaria* brown spot of citrus in Spain. *Plant Disease*, v. 84, n. 9, 1044 p. 2000.

VIEIRA, F. V.; VERISSIMO, M. P. Crescimento econômico em economias emergentes selecionadas: Brasil, Rússia, Índia, China (BRIC) e África do Sul, *Economia e Sociedade*, v. 18, n. 3, p. 513-546, 2009.

WALTON, J. D. Host-selective toxins: Agents of compatibility. *The Plant Cell*, Rockville, v. 8, p. 1723-1733, 1996.

WHITESIDE, J. O. A newly recorded *Alternaria*-induced brown spot disease on Dancy tangerines in Florida. *Plant Disease Reporter*, v. 60, n. 4, p. 326-329, 1976.

WOO, S. L.; SCALA, F.; RUOCCO, M.; LORITO, M. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*, v. 96, p. 181-185, 2006.